

**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DEL CANCRO DE LA BASE DEL TALLO DE COLZA
(*Leptosphaeria maculans*) EN BALCARCE, ARGENTINA**

JUAN PABLO EDWARDS MOLINA

Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al Título de
MAGISTER SCIENTIAE en Producción Vegetal

Orientación Fitopatología

ÁREA CIENCIAS DE LAS PLANTAS Y RECURSOS NATURALES

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**

Balcarce, Argentina

Abril, 2013

**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DEL CANCRO DE LA BASE DEL TALLO DE COLZA
(*Leptosphaeria maculans*) EN BALCARCE, ARGENTINA**

JUAN PABLO EDWARDS MOLINA

Alberto Escande (Dr.)

Director de tesis

**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DEL CANCRO DE LA BASE DEL TALLO DE COLZA
(*Leptosphaeria maculans*) EN BALCARCE, ARGENTINA**

JUAN PABLO EDWARDS MOLINA

Aprobada por:

Dra. Analía Perelló
Evaluador

Ing. Agr. Alejandro Rago (M. Sc.)
Evaluador

Dra. Azucena Ridao
Evaluador

Agradecimientos

A Alberto Escande y Facundo Quiroz, por brindarme la oportunidad y confianza para realizar este trabajo. Por sus conocimientos transmitidos. Por las interesantes charlas y los consejos recibidos. Y sobre todo, por ayudarme a hacer por medio de esta gran profesión, un pequeño aporte a la sanidad de nuestros cultivos.

A Miguel Pereyra Iraola y Gabriela Cendoya (UNdMP), Liliana Iriarte (Chacra Miramar), Aldo Martinez (Advanta), y Jon West (Rotthamsted Research Station, Inglaterra) por las importantes contribuciones en la elaboración de esta tesis

A los correctores: Azucena Ridaó, Alejandro Rago, Analía Perelló, por sus valiosísimos aportes.

A los compañeros del Grupo de Fitopatología y Fisiología Vegetal, por la colaboración, amistad y compañía. A los auxiliares de campo y laboratorio Luís Méndez, Mauro Zabaleta, Silvio Giuliano y Carlos Antonelli.

Al Personal de Secretaría de Agronomía y Limpieza de INTA Balcarce por el "soporte" brindado y la calidez cotidiana. Al director Osvaldo Fernandez y los Integrantes de la Secretaría del Posgrado Vegetal (Sandra Amunao y Walter Moreno) por la paciencia y ayuda de siempre.

A los amigos Carolina Marascio, Fernando Distéfano, Matías Flores, Gonzalo Aso, Jorge Popovich, Máximo G.Bonorino, Juan J. Agustín y Beltrán Bonaventura por la preciada amistad, especialmente en los momentos difíciles; y a Dios por la oportunidad de haber nacido en condición de poder elegir que hacer en cada momento de mi vida.

Dedicatoria

A mis padres Juan y Felisa, por la formación e inmensurable amor recibido...

A mi hermano Diego, por su compañerismo e incentivo de siempre ...

A mi compañera Evangelina, por su cariño y apoyo cotidiano ...

A la querida Facultad de Ciencias Agrarias de Balcarce por tantos lindos momentos vividos en tal hermosa casa...

...Las epidemias son potentes armas en la “guerra” contra quien nos enfrentamos año tras año por mantener la sanidad de nuestros cultivos. La industria química y de semillas nos proveen buenas tácticas de defensa pero solo la epidemiología nos permite planear la estrategia. Nuestra defensa en tiempos de guerra está relacionada al tratamiento que damos a nuestros cultivos en tiempos de paz...

J. E. VAN DER PLANK

“Plant diseases: epidemics and control” (1963)

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
RESUMEN	X
ABSTRACT.....	XII
ABREVIATURAS Y SIGLAS	XIV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Ciclo y biología del patógeno	2
1.2. Relación entre fenología del cultivo, epidemia de MF y CBT.....	7
1.3. Control.....	7
1.3.1. Resistencia genética de los cultivares de colza.....	7
1.3.2. Control cultural.....	8
1.3.3. Control químico.....	9
1.4. Modelos de simulación de progreso de las enfermedades	10
1.4.1. Modelo Monomolecular	11
1.4.2. Modelo Logístico.....	11
1.4.3. Modelo de Gompertz	13
1.5. Contexto local del CBT	14
1.6. Hipótesis y objetivos	16
2. DETERMINACIÓN DE LOS ESTADIOS FENOLÓGICOS DE COLZA EN EL QUE INFECCIONES FOLIARES DE <i>L. MACULANS</i> EN OTOÑO CAUSAN CANCRO DE LA BASE DEL TALLO CON MÁXIMA SEVERIDAD.....	17
2.1. Materiales y métodos.....	17

2.1.1.	Siembra de plantas en invernáculo	17
2.1.2.	Exposición a la fuente de inóculo (Infección natural).....	19
2.1.3.	Período post infección (desarrollo de CBT)	19
2.1.4.	Diseño experimental y análisis estadístico.	20
2.2.	Resultados	21
2.2.1.	Temperatura durante el experimento	21
2.2.2.	Manchas foliares	22
2.2.3.	Cancro en la base del tallo	26
2.2.4.	Relación entre MF y CBT	27
2.3.	Discusión.....	31
3.	RELACIÓN ENTRE LA EPIDEMIA DE MANCHAS FOLIARES DE OTOÑO Y EL DESARROLLO DE CANCRO DE LA BASE DEL TALLO EN PRIMAVERA	33
3.1.	Materiales y métodos.....	33
3.1.1.	Mediciones	35
3.1.2.	Diseño experimental y análisis estadístico	36
3.2.	Resultados	37
3.2.1.	Condiciones meteorológicas y su relación con MF y CBT.	37
3.2.2.	Epidemia de manchas foliares	41
3.2.3.	Cancro de la base del tallo	45
3.2.4.	Relación entre la epidemia de MF y CBT.	47
3.3.	Discusión.....	50
4.	CONCLUSIONES.....	54
5.	BIBLIOGRAFÍA.....	57
6.	ANEXO	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de <i>L. maculans</i> (<i>Phoma lingam</i>) en el cultivo de colza	2
Figura 2: Estructuras reproductivas sexuales.	3
Figura 3: Estructuras reproductivas asexuales.	4
Figura 4: Síntomas y signos	6
Figura 5: Modelos de progreso de enfermedades: Monomolecular, Logístico y Gompertz.....	12
Figura 6: Curva de crecimiento tipo sigmoideo y parámetros de importancia.	14
Figura 7: Esquema de etapas del experimento y sus ambientes de desarrollo	17
Figura 8: Esquema de siembras de plantas en invernáculo	18
Figura 9: Escala de severidad de cancro de la base del tallo.	20
Figura 10: Temperaturas medias durante el experimento	22
Figura 11: Relación entre el número de hojas desplegadas a primera MF y la severidad del CBT en ambiente post infección “Campo”	28
Figura 12: Relación entre el número de hojas desplegadas a primera MF y la severidad del CBT en ambiente post infección “Invernáculo”	30
Figura 13: Condiciones meteorológicas del experimento, momento de inicio e incidencia máxima de MF.	39
Figura 14: Progreso de la incidencia de la epidemia de MF y severidad del CBT en el control desprotegido y momento de aplicación de los tratamientos.	41
Figura 15: Curvas de progreso de las epidemias de MF para los tratamientos protegidos con Azoxistrobin.....	43
Figura 16: Curvas de progreso de las epidemias de MF en los tratamientos protección con Propiconazole.....	44
Figura 17: Control del CBT por los tratamientos en relación al CD.....	46
Figura 18: Regresión entre la severidad del CBT en madurez fisiológica y la incidencia máxima según modelo de Gompertz.	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Modelos Monomolecular, Logístico y Gompertz	11
Tabla 2: Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz	13
Tabla 3: Ciclo y comportamiento ante la enfermedad de las variedades.....	17
Tabla 4: Estadios fenológicos de las plantas expuestas a inóculo de <i>L. maculans</i> y número de hojas al momento de observación de primer mancha foliar	23
Tabla 5: Días a primer mancha en el ambiente post infección “campo”	24
Tabla 6: Días a primer mancha en el ambiente post infección “invernáculo”.....	25
Tabla 7: Severidad del CBT para el ambiente post infección “campo”	26
Tabla 8: Severidad del CBT para el ambiente post infección “invernáculo”.....	27
Tabla 9: Tratamientos de protección antifúngica	33
Tabla 10: Aplicación de tratamientos y trabajos de mantenimiento del experimento. ...	34
Tabla 11: Condiciones meteorológicas del experimento y serie histórica 1970-2009 ..	38
Tabla 12: Evolución fenológica a través del tiempo.....	40
Tabla 13: Modelos de simulación	42
Tabla 14: Parámetros del modelo de Gompertz para las epidemias de MF.	42
Tabla 15: Punto de inflexión, tasa máxima de incremento y duración de la fase lag para el modelo de Gompertz para la epidemia de MF.....	43
Tabla 16: Incidencia y severidad del CBT en inicio de floración y madurez fisiológica	46
Tabla 17: Tabla de correlación entre variables de la epidemia de MF y el CBT.....	48

RESUMEN

El cancro de la base del tallo (CBT) por *Leptosphaeria maculans* es la enfermedad más importante de colza (*Brassica napus* L. var. *oleífera*) en el mundo. La infección primaria es causada principalmente por las ascosporas liberadas desde los rastrojos infectados de años anteriores. Las ascosporas germinan y penetran en las hojas durante los estadios iniciales de crecimiento vegetativo produciendo manchas foliares (MF) en otoño/principios de invierno. Desde esas manchas el patógeno puede invadir el tallo y alcanzar su base causando cancro basal. En Argentina no existen estudios del patosistema que: 1) definan un período de mayor susceptibilidad a infecciones foliares de *L. maculans* que culminarían en CBT; y 2) relacionen la epidemia de MF con el CBT. Para responder a estos objetivos se realizaron dos experimentos en la Estación Experimental de INTA Balcarce, Argentina (37°S, 58°O) durante 2010 y 2011. En el primer experimento, plantas creciendo en macetas fueron expuestas a inoculación natural en el campo. Cuatro cultivares que diferían en largo de ciclo y resistencia a CBT fueron cultivados en el invernáculo hasta alcanzar diferentes estadios fenológicos de desarrollo. Todas las plantas fueron expuestas a inoculación natural en un mismo momento y bajo un ambiente favorable para la infección (alta presión de inóculo y alta humedad relativa). Cuando el 100% de las plantas del cultivar susceptible presentaron MF, se analizó la etapa de post infección. La mitad de las plantas fueron reubicadas en el invernáculo y la otra mitad permaneció en el campo, donde continuaron su desarrollo hasta la evaluación final del CBT (cuando el 50% de las plantas alcanzaron el estadio de vaina coloreada). El número de hojas desplegadas a primera MF (NH1M), el progreso de la severidad, y el área bajo la curva fueron registrados. Se establecieron relaciones entre MF y CBT. La mayor correlación se encontró entre la severidad del CBT y el NH1M, pudiendo establecer regresiones que relacionan ambas variables para la variedad de mayor susceptibilidad, N8450 en post infección (función cuadrática negativa en campo y lineal en invernáculo), y para Hidromel y H61, en campo y post infección (función exponencial negativa). En el segundo experimento sólo el cultivar N8450 fue utilizado. Se distribuyeron tallos infectados (rastrojos) del año anterior para incrementar el inóculo. Se mantuvo alta humedad relativa mediante mojado del follaje por microaspersión. Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. Los tratamientos incluyeron aplicaciones simples de Azoxistrobin (Az) o Propiconazole (Pr) (300 cm³/ha) en los estadios de 2, 4, 6 u 8 hojas. Se incluyeron los testigos desprotegido (CD) y protegido

(aplicaciones en todos los estadios) para cada fungicida (AzP y PrP). Se evaluó la incidencia en el tiempo de las MF y en floración y madurez fisiológica, el CBT cortando la base del tallo. Los tratamientos PrP y AzP dieron la menor incidencia final (12,2% y 16,8%, respectivamente) mientras que las plantas no protegidas (CD) alcanzaron el 44,8%. Az2 (23,5%) y Az4 (29,2%) fueron los mejores tratamientos para MF. Incluso estos tratamientos dieron los niveles más bajos para CBT en madurez fisiológica y no difirieron de AzP (8,3%). La mejor correlación entre incidencia máxima (a_{Gompertz}) de MF y la incidencia de CBT ocurrió al estado de floración (incidencia; $r=0,89$) o en madurez fisiológica (severidad; $r=0,87$). Gompertz fue el modelo que permitió el mejor ajuste de las curvas de progreso de MF.

Palabras claves: *Phoma lingam*, manchas foliares, epidemiología, fungicidas

ABSTRACT

Stem-base canker (CBT) by *Leptosphaeria maculans* is the most important disease of canola (*Brassica napus* L var. *olerifera*) worldwide. The primary infection is caused mainly by ascospores coming from previous years infested straw. Ascospores germinate and penetrate the leaves during the initial vegetative-growth stages of canola causing leaf spots (MF) in autumn/early winter. From these leaf spots the pathogen can invade the stem and reach the stem-end causing stem canker. In Argentina there are no previous studies on this pathosystem that allow: 1) to identify the period of higher susceptibility of leaf infection that originate CBT; 2) to relate epidemics of MF with CBT. To aim these objectives two experiments were carried out at Balcarce Experimental Station, National Institute of Agricultural Technology, Argentina (37°S, 58°W) during 2010 and 2011. In the first assay, canola plants growing in pots were exposed to natural inoculation in the field. Four cultivars with different cycle length and resistance to CBT were grown in the greenhouse to obtain plants with different phenological growing stages. All at once, plants were transferred to the field and exposed to a favorable environment for the infection (high inoculum pressure and high relative humidity). When 100% of the plants in the susceptible cultivar present leaf spots, this period was finished and the stage of post infection started. Half of the plants were relocated in the greenhouse and the other half remained in the field for the evaluation of CBT (when 50% of the plants reached the colored pod stage). The number of leaves at first leaf spot detection (NH1M), the severity progress, and the area under severity progress curve were registered. Relations between MF and CBT were established. The highest correlation was found between CBT severity and NH1M, establishing regressions that related both variables in the most susceptible cultivar N8450 during post infection (quadratic function in the "field" and lineal in the "greenhouse") and in Hidromel and H61 (exponential decayed model in the field post infection only). In the second experiment only the susceptible cultivar N8450 was tested and infested stems (straw) from the previous year were distributed between the rows to increase the inoculum. High relative humidity was maintained by moistening the foliage with micro sprinkle irrigation. A complete block randomized design with three replications was used. Treatments include single applications of Azoxystrobin (Az) or Propiconazole (Pr) (300 cm³/ha) at the 2, 4, 6 or 8 leaf stage. Non protected controls (CD) and protected ones (AzP or PrP) were included at each stage. MF incidence was registered during the epidemic and CBT at flowering and physiological maturity by

cutting the stem-end canker. The treatments PrP and AzP had the lowest final MF incidence (12,2% and 16,8%, respectively) while the non-protected plants (CD) reached 44,8%. Among single-applied fungicide, Az2 (23,5%) and Az4 (29,2%) gave the best MF control. Also, these treatments gave the lowest levels of CBT at physiological maturity and did not differ from AzP (8,3%) . The best correlation between maximal incidence (a_{Gompertz}) MF and CBT was at flowering stage (incidence; $r = 0,89$) or at physiological maturity (severity; $r = 0,87$). Gompertz was the best model for adjusting MF progress curves.

Key words: *Phoma lingam*, stem canker, Phoma leaf spot, oilseed rape, epidemiology, fungicides.

ABREVIATURAS Y SIGLAS

Az: Azoxistrobin

Az2/ Az4/ Az6/ Az8: Aplicación de Azoxistrobin en 2, 4, 6 u 8 hojas desarrolladas.

AzP: Control protegido permanentemente con Azoxistrobin

CBT: Cancro de la base del tallo

CD: Control desprotegido

EF: Estadio fenológico

FDA: Fosfato diamónico

GEF: Grupos de estadios fenológicos

H61: Hyola 61

IC: Intervalo de confianza

ICA: Índice de Criterio de Akaike

LAT: Lesiones aéreas en el tallo

MF: Manchas foliares

N8450: Nexera 8450

NH1M: Número de hojas desplegadas a la detección de primer mancha foliar

Pr: Propiconazole

Pr2/ Pr4/ Pr6/ Pr8: Aplicación de Propiconazole en 2, 4, 6 u 8 hojas desarrolladas.

PrP: Control protegido permanentemente con Propiconazole

SA: Sulfato de amonio

Términos epidemiológicos

a: Parámetro relacionado con la máxima incidencia alcanzada.

c: Parámetro relacionado con la tasa de progreso.

b: Parámetro relacionado con el inóculo inicial de la epidemia.

ABC: Área bajo de la curva

FL: Fase lag de la curva.

TMI: Tasa máxima de incremento de la incidencia

TPI: Tiempo en el punto de inflexión.

I%PI: Incidencia (%) en el punto de inflexión.

1. INTRODUCCIÓN

La colza (*Brassica napus* L. var. *oleífera*) es el segundo grano oleaginoso de producción mundial (FAO, 2012). Pertenece a la familia de las crucíferas, y es de ciclo invierno-primaveral, característica que la diferencia del resto de las oleaginosas tradicionalmente cultivadas. Representa una interesante alternativa de producción invernal para una amplia zona de Argentina, maximizando la utilización de la infraestructura aceitera ociosa en épocas de cosecha de la misma. Si bien en nuestro país su superficie ha sido escasa y oscilante, su tendencia en la última década es creciente (SAGyP, 2012). Poco a poco se va descifrando su óptimo manejo para permitirle al cultivo expresar su potencial económico, aunque mucho queda por seguir investigando para la consolidación definitiva del cultivo. Entre esos aspectos se encuentra el manejo sanitario, con el relevamiento de las principales enfermedades, las prácticas que las mitigan, el mejoramiento genético de las variedades y el registro de productos para su control, entre otras.

Leptosphaeria maculans (Desm.) Ces. & de Not. (anamorph *Phoma lingam* Tode ex Fr.) es el patógeno que causa mayor daño económico al cultivo de colza en el mundo. Esto es debido, principalmente, al cancro que produce en la base del tallo (CBT), a la muerte de plántulas o la senescencia prematura de los cultivos. La enfermedad se presenta en las principales regiones de producción de Australia, Canadá y Europa, aún tratándose de diferentes climas, estaciones de crecimiento, con utilización de diferentes cultivares y prácticas agronómicas (West *et al.*, 2001; Fitt *et al.*, 2006).

Hasta el año 2001, las razas de *L. maculans* habían sido clasificadas en dos grupos amplios o patotipos: grupo A (altamente virulento) y grupo B (débilmente virulento). Estos grupos, visualmente indistinguibles en cultivo, se podían diferenciar en su capacidad para producir pigmentación *in vitro*, la tasa de crecimiento de sus colonias y caracteres moleculares (Williams y Fitt, 1999). Sumando a estas diferencias la incompatibilidad reproductiva de sus colonias, se concluyó por separar ambos grupos en especies independientes diferenciándolas en *L. maculans* (ex grupo A, altamente virulento) y *L. biglobosa* (ex grupo B, débilmente virulento) de acuerdo a la clasificación de Shoemaker y Brun (2001). Taxonómicamente el patógeno pertenece al Reino *Fungi*, Phylum *Ascomycota*, Clase *Dothideomycetes* (*Loculoascomycetes*), Orden *Pleosporales*, Genero *Leptosphaeria*, Especie *maculans* (Boerema, 2004)

1.1. Ciclo y biología del patógeno

La principal fuente de inóculo, donde se perpetúa el patógeno, son los rastrojos de cultivos anteriores de colza (Figura 1a). Allí puede sobrevivir por varios años a través de sus estructuras sexuales de perpetuación, los pseudotecios (Figura 2a). En menor medida, los nuevos ciclos pueden ser originados por uso de simiente infectada, contacto directo con rastrojos infectados o por esporas provenientes de plantas hospederas alternativas.

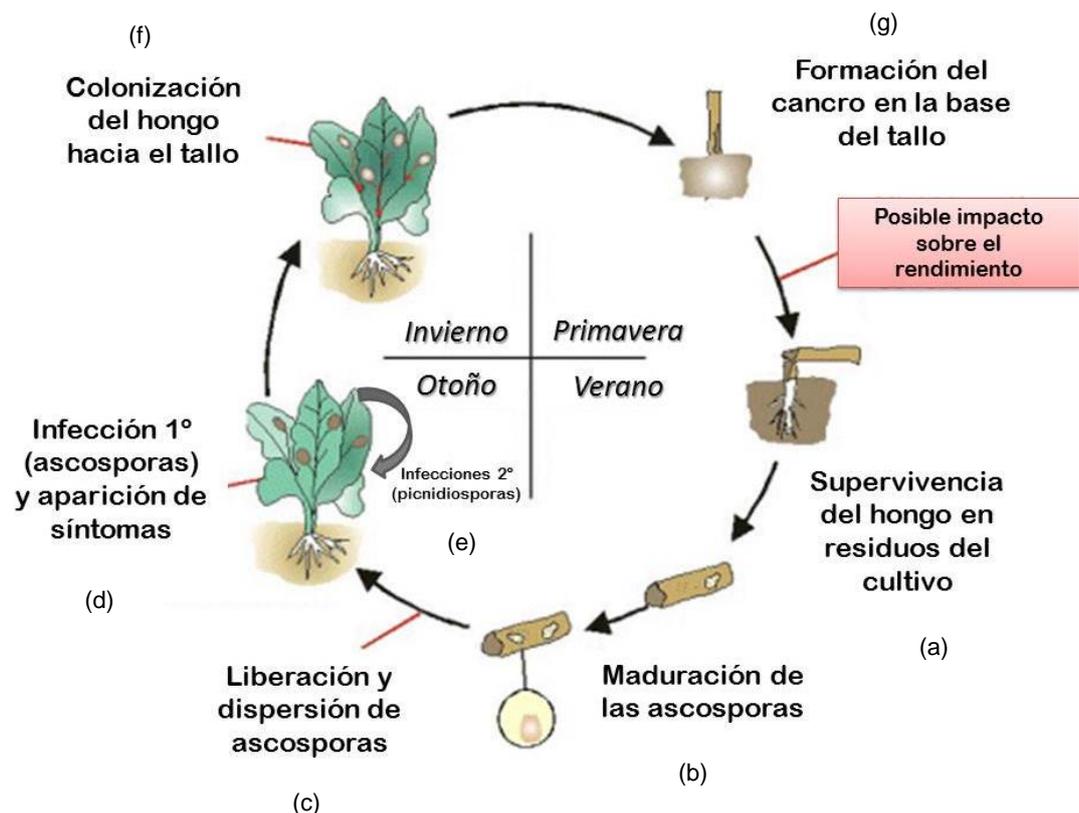


Figura 1: Ciclo de *L. maculans* (*P. lingam.*) en el cultivo de colza
(Adaptado de Rothamsted, 2010)

En el interior de los pseudotecios están contenidas las ascoporas (Figura 2b), cuya maduración (Figura 1b), depende principalmente de las precipitaciones acumuladas y de la temperatura media. Según Naseri *et al.*, (2008a) en Australia fueron necesarios desde cosecha 55 días a 5°C o 22 días a 15° para su maduración. Una vez producida la descarga y liberación de las ascoporas desde el interior de los pseudotecios, éstas pueden ser dispersadas por el viento a largas distancias, aunque el mayor riesgo existe dentro de los 500 metros desde la fuente de inóculo (Salam *et al.*, 2003) (Figura

1c), y al depositarse en tejidos susceptibles de cultivos emergiendo (cotiledones y hojas principalmente), se contaminan los nuevos cultivos (Figura 1d).

Los pseudotecios son cuerpos fructíferos negros, inmersos a errumpentes, globosos (300-500 μm de diámetro) y ostiolados (Figura 2a). Contienen ascas claviformes a cilíndricas, bitunicadas, 80-125 \times 15-22 μm , con ocho ascosporas (Figura 2b). Las ascosporas miden 35-70 \times 5-8 μm , tienen cinco septos, son cilíndricas a elípticas, de color amarillo a marrón, gutuladas y con extremos redondeados (Boerema, 2004).

Bajo condiciones controladas, sobre hojas cortadas, se observó que la germinación de las ascosporas comenzó luego de 2 h a 10-20°C o 4 h a 5°C (Naseri *et al.*, 2008a). Luego de 24 h, el porcentaje de germinación de ascosporas fue mayor con temperaturas de 15 y 20°C. Una vez producida la hifa infectiva el hongo penetra predominantemente a través de los estomas (Hammond *et al.*, 1985) aunque también puede hacerlo por heridas.

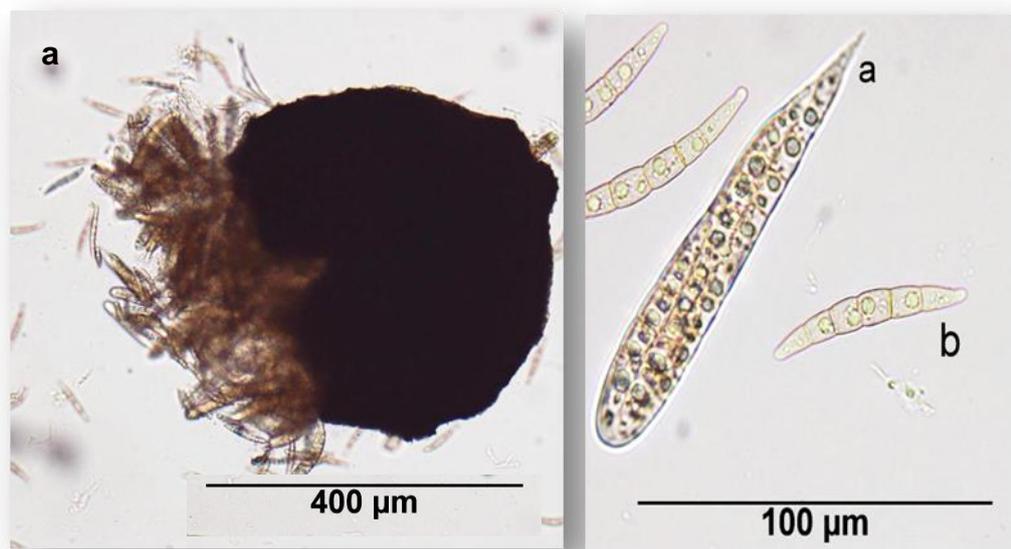


Figura 2: Estructuras reproductivas (sexuales) de *Leptosphaeria maculans*. Izquierda: Pseudotecio liberando ascas; Derecha: Ascas (a) con ocho ascosporas en su interior y ascosporas liberadas (b).

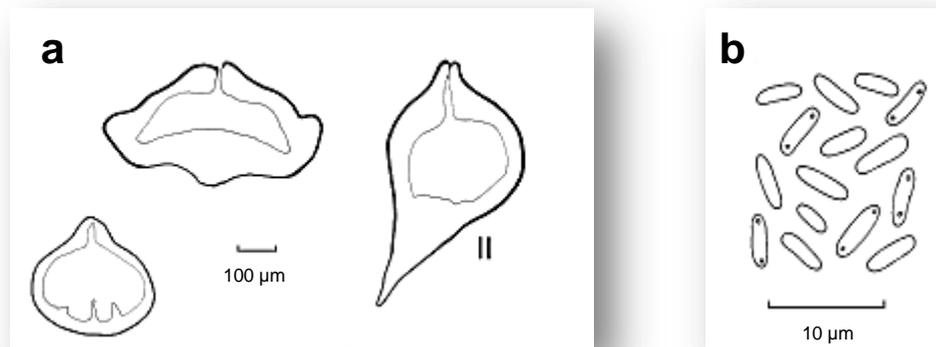


Figura 3: Estructuras asexuales de *P. lingam*. a- Diferentes formas de picnidios. b- Picnidiosporas (Boerema, 2004).

Una vez ocurrida la penetración de la hifa infectiva, comienza la colonización y reproducción del hongo desarrollando el síntoma primario, las “manchas foliares” (MF) (Figura 4a). Este periodo, conocido como incubación, es el tiempo que transcurre entre la inoculación (en este caso la deposición de las ascosporas sobre el tejido) y la aparición de la primera MF. Los factores más importantes que determinan su duración son ambientales (temperatura y humedad relativa) y genéticos (resistencia de las variedades– Ver 1.4.1).

Las lesiones en hojas y cotiledones son de color castaño claro, forma variada, de 3 a 7 mm de diámetro, con bordes difusos e irregulares (Figura 4a). En el centro de las mismas, se observan numerosos puntos negros-picnidios- del tamaño de una cabeza de alfiler. Dichos picnidios contienen picnidiosporas producidas en cirros, apareciendo como exudados de color rosa o púrpura (Figura 3). Estas son hialinas, cortas, cilíndricas, rectas en su mayoría, bigutuladas, unicelulares y de 3-5 x 1,5-2 µm (Boerema, 2004). Las picnidiosporas constituyen el inóculo secundario, pueden dispersarse hacia plantas vecinas debido al impacto de las gotas de lluvia, provocando infecciones secundarias (Figura 1e) (Travadon *et al.*, 2007). Las infecciones secundarias causadas por estas esporas son raras en Canadá y Europa pero comunes en Australia (West *et al.*, 2001). En el oeste australiano las picnidiosporas pueden dispersarse hasta un metro desde las lesiones en cultivares muy susceptibles (Barbetti, 1975).

Se menciona la aparición de síntomas (manchas foliares) en el campo, 14-25 días luego del primer incremento de ascosporas en el aire en otoño (West *et al.*, 2002a). Biddulph *et al.*, (1999) determinaron que al menos 4 horas de mojado son necesarias

para producir lesión en infecciones por ascosporas y que la mayor producción de manchas foliares son iniciadas luego de un período de mojado de 48 h a 12-20°C. Toscano-Underwood *et al.*, (2001) encontraron el mismo período óptimo de mojado (48 h) pero en un rango de 8 a 72 h.

Desde el punto de penetración (cotiledón u hoja) la hifa frontal (biotrófica) inicia el crecimiento asintomático en dirección hacia el tallo (Figura 1f). Detrás de la hifa frontal el hongo invade células del parénquima cortical iniciando una fase necrotrófica asexual que resulta en la formación de las MF. Luego en la zona radical continua su crecimiento por vasos xilemáticos (Sprague *et al.*, 2007). El doble comportamiento - biotrófico/necrotrófico- clasifica a *L. maculans* como patógeno hemibiotrófico (Jindrichova *et al.*, 2011).

Una vez alojado en el tallo, el hongo atraviesa la época fría del año asintomáticamente, hasta que con la reanudación del tiempo cálido, a fines de invierno-principio de primavera, produce lesiones aéreas en el tallo (LAT), o en caso de alcanzar su parte más baja, el CBT (Figura 1g y 4b) (Hammond y Lewis, 1986). Este último consiste de una lesión seca, pudiendo rodear su circunferencia y profundizarse hacia la médula, alterando el normal movimiento de fluidos, acelerando su senescencia o facilitando el vuelco de la planta y en caso extremo, su muerte. Las infecciones foliares producidas a fines de invierno o principios de primavera sólo producen LAT (Hammond *et al.*, 1985) que son generalmente manchas irregulares de bordes negros, sin canchales basales, por lo tanto sin impacto sobre el rendimiento.

Es importante resaltar que la severidad de las epidemias y su impacto en el rendimiento varía ampliamente entre estaciones, regiones, y condiciones de cultivo. Estas variaciones resultan de interacciones entre condiciones ambientales, crecimiento de cultivo y desarrollo del patógeno (West *et al.*, 1999).

Estudios realizados en Australia e Inglaterra determinaron pérdidas de rendimiento inferiores al 10%; sin embargo, estas pueden llegar al 30-50% en ataques severos (Hall *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 2000).

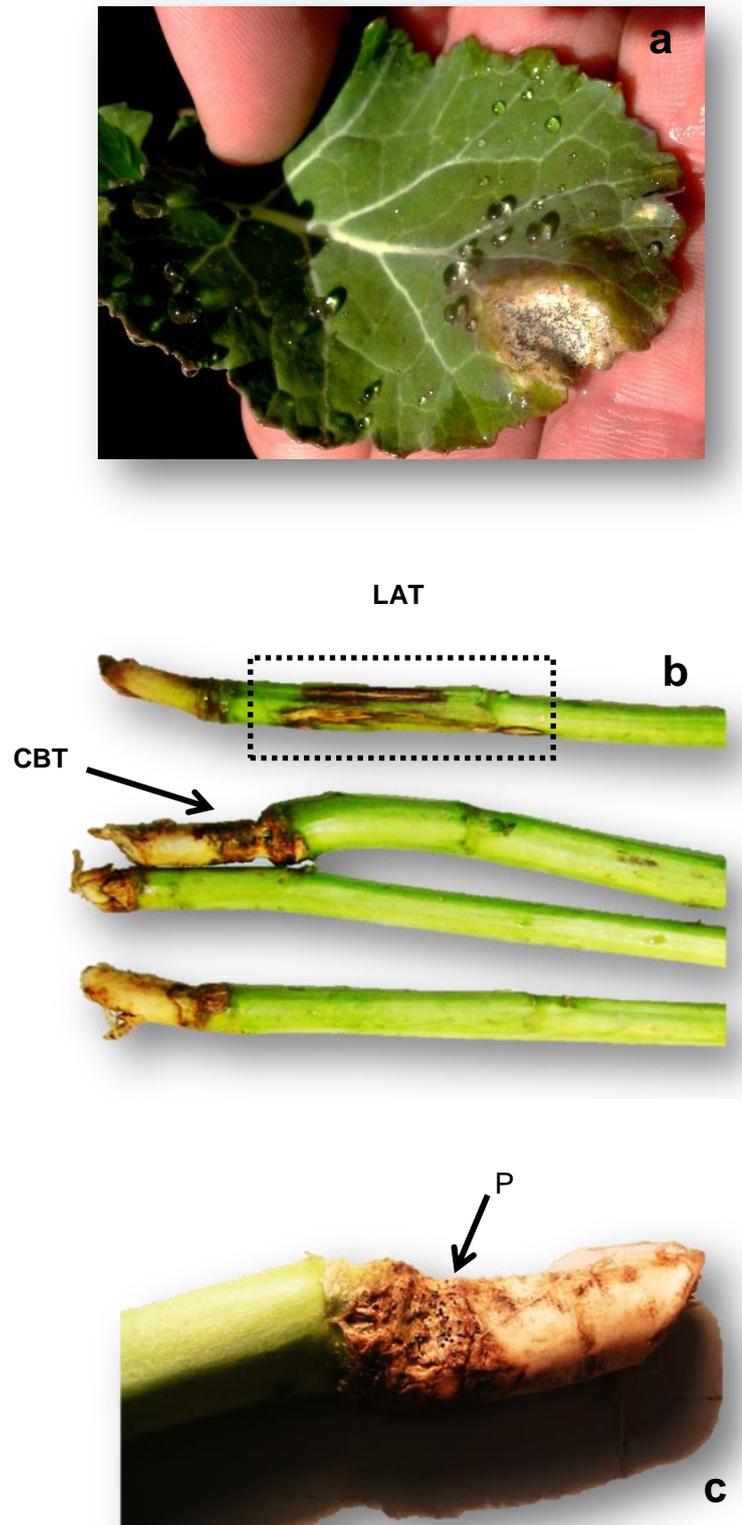


Figura 4: Síntomas y signos. a- Manchas foliares con picnidios; b- Lesiones aéreas del tallo (LAT) y cancro en la base del tallo (CBT); c- Picnidios (P) aflorando en el cancro en rastrojos de colza

1.2. Relación entre fenología del cultivo, epidemia de manchas foliares y cancro en la base del tallo.

La bibliografía consultada revela la divergencia de opiniones acerca de cómo se relacionan las epidemias de MF con las del CBT. Estudios realizados en Francia (Poisson, 1999) , Alemania (Badawy *et al.*, 1992) y el Reino Unido (Hammond y Lewis, 1986) demostraron que infecciones de MF en estado de plántula provocan lesiones de CBT más importantes. Hammond y Lewis (1987), definieron que la probabilidad de que una MF cause el CBT aumenta con el incremento del período entre la infección y la abscisión foliar. El efecto diferencial de la temperatura en la tasa de crecimiento del patógeno y la senescencia foliar determinan si la abscisión ocurre antes de que el hongo alcance el tallo.

El tiempo térmico ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{días}$) entre la primer MF en otoño y el primer CBT en primavera fue constante entre años para un determinado cultivar pero difirió entre cultivares. Sin embargo, los resultados de las correlaciones entre la severidad de las MF de otoño y la severidad del CBT en otoño, fueron variables (Sun *et al.*, 2000)

Steed *et al.*, (2007) sugieren que el estado fenológico del cultivo con presencia de MF, tiene mayor influencia en la subsecuente epidemia de CBT que la severidad o duración de la epidemia de MF. Según Marcroft *et al.*, (2005) en Australia, en experimentos bajo cubierta, MF luego de la quinta hoja desarrollada no produjeron una alta severidad de CBT. Sun *et al.*, (2000) obtuvieron mayor relación entre incidencia de MF e incidencia de CBT entre emergencia y elongación que en estadios fenológicos posteriores.

1.3. Control

1.3.1. Resistencia genética de los cultivares de colza

La búsqueda e incorporación de germoplasma resistente a través del mejoramiento genético es la herramienta de control más común y eficiente del CBT según Delourme *et al.* (2006). El patosistema *B. napus* / *L. maculans* resulta un interesante caso de estudio ya que comprende dos tipos de resistencia: una que opera en la primera etapa asintomática en cotiledones y hojas, la cual es cualitativa, completa, específica y gobernada por un gen mayor; y otra, que opera desde la infección en adelante, vinculada a la colonización del pecíolo y el tallo, es cuantitativa, parcial, no específica y multigénica (Ansan-Melayah *et al.*, 1998; Huang *et al.*, 2009).

Las poblaciones de *L. maculans* pueden adaptarse rápidamente a la resistencia que otorgan los genes mayores, por lo que pueden perder su efectividad en solo 3 o 4 años luego de su lanzamiento al mercado (Sprague *et al.*, 2006). Esta alta variabilidad genética de las poblaciones del patógeno, podría deberse a la predominancia de las ascosporas en el inóculo primario producido en los residuos cada año (Hayden y Howlett, 2005). Para minimizar este perjuicio es posible hacer un uso más racional y sustentable de la resistencia genética (Gladders *et al.*, 2006). La mortalidad de las plantas provocada por *L. maculans* fue reducida cuando fueron expuestas a rastrojo infectado proveniente de un cultivar con un gen de resistencia diferente en comparación con la exposición a otro rastrojo proveniente de un cultivar con un mismo gen de resistencia (Marcroft *et al.*, 2012). Así se demostró que la manipulación de las poblaciones del hongo por rotación de resistencia en los cultivares de colza a través de los años, minimiza la presión de enfermedad.

Brun *et al.*, (2010) observaron que la resistencia cuantitativa puede aumentar la durabilidad de genes mayores de resistencia (*Rlm6*) y así hacer un uso más racional y sustentable de la resistencia para el control de la enfermedad.

Liu *et al.*, (2006) encontraron evidencia de inducción de resistencia contra *L. maculans* con pre-inoculaciones de hojas de colza con ascosporas de *L. biglobosa* las cuales incrementaron el periodo de incubación y disminuyeron la severidad del CBT en plantas inoculadas con *L. maculans*.

Resulta de gran utilidad la publicación anual que se realiza en Australia (Blackleg resistance ratings, 2012) e Inglaterra (HGCA, 2012) donde se monitorea el estado de la resistencia de los cultivares comerciales y se los clasifica en un ranking de categorías según su comportamiento frente a CBT y son sugeridas medidas de manejo para cada una de las situaciones. Además del monitoreo de la resistencia de los cultivares resulta de gran importancia el conocimiento de virulencia y agresividad de las razas presentes del patógeno.

1.3.2. Control cultural

En todas las regiones estudiadas, el manejo de los rastrojos y la rotación de los cultivos con siembra de colza con un espacio de al menos cuatro años redujo el riesgo de CBT (West *et al.*, 2001). La destrucción de rastrojos infectados mediante rastrillado, entierro o quemado es recomendado para el manejo del CBT en colza en Australia (Khangura y Barbetti, 2001). Enterrar los rastrojos infectados no sólo acelera su tasa de descomposición sino que también evita la liberación de las ascosporas de

los mismos por el viento (Kharbanda y Tewari, 1996). En este sentido, se observó que en condiciones de siembra directa la severidad del CBT fue superior en comparación con el método de siembra convencional (Söchting y Verreet, 2004)

El método de escape de la enfermedad es otra de las técnicas culturales utilizadas procurando evitar la coincidencia de los picos de liberación de ascosporas de los rastrojos con los estadios más susceptibles del cultivo. Experiencias en Australia (McGee y Emmett, 1977) y en Inglaterra (West *et al.*, 2001) sugirieron que el atraso o el adelanto de la fecha de siembra de la colza, respectivamente, permite llegar al pico de descarga de ascosporas con un cultivo bien establecido, fuera de su período más vulnerable a infecciones de *L.maculans*. La variación de los resultados podría deberse a las diferentes condiciones ambientales que influenciarían el momento de descarga de ascosporas y la infección.

1.3.3. Control químico

Para un manejo efectivo del CBT se requiere integrar la resistencia genética de los cultivares, con factores agronómicos y uso de fungicidas (Gladders *et al.*, 2004). El control químico como única herramienta de control es insuficiente ya que la protección que brindan los fungicidas es por un período limitado debido a su degradación, la expansión de las hojas y el despliegue de nuevas hojas luego de la aplicación (West *et al.*, 2000).

Gladders *et al.*, (2009) registraron en aplicaciones de los fungicidas Difenoconazole y Prothioconazole, solos o en mezcla con Tebuconazole, que cuando observaban un 10-20% de las plantas afectadas por MF, 6 semanas después, ocasionaban una reducción significativa del CBT. En sus experimentos, el índice medio de CBT para 2006, 2007 y 2008 fue de 24,1; 31,3 y 10,2 respectivamente, con rendimientos de 4,03; 3,34 y 4,08 tn/ha.

West *et al.*, (2002b) en Inglaterra, reportaron que cuando las MF se producen en otoño temprano, las aplicaciones de fungicidas hasta el estado de diez hojas, son esenciales para prevenir el desarrollo de canchales y evitar pérdidas de rendimiento. En dicho país, más del 90% de los cultivos de colza reciben al menos una aplicación anual de fungicidas para el control del CBT (Eckert *et al.*, 2010) y agregan que *L. maculans* y *L. biglobosa* difieren en su sensibilidad a los fungicidas, siendo la germinación de conidios de la primera especie la más sensible.

Steed *et al.*, (2007) observaron que en las condiciones de Inglaterra, una simple aplicación de Flusilazole y Carbendazim (EF 1.7-1.11) puede proveer un control

efectivo del CBT en años en que las epidemias de MF son de corta duración y ocurren a mediados de otoño (entre 800-1300 °C día desde la siembra). En Polonia, la aplicación al momento del pico de liberación de las ascosporas desde el rastrojo, fue el momento más eficiente (Kaczmarek *et al.*, 2010). Los fungicidas utilizados fueron una mezcla de triazoles, Prothioconazole con Tebuconazole y Flusilazole con Carbendazim.

En Lituania, la doble aplicación (en dos estadios vegetativos del cultivo) de Metconazole disminuyó la incidencia de CBT significativamente y en todos los cultivares testeados mostró una buena eficiencia económica. Balodis *et al.*, (2007) y Le Page y Penaud (1995) sugieren que la adecuada protección química de los cultivos de colza en Francia requiere al menos tres aplicaciones, pero esto es antieconómico. West *et al.*, (2002a) observaron que pocas aplicaciones podrían ser suficientes, pero existe un gran debate acerca del momento óptimo de las intervenciones en relación con el desarrollo de la planta y el patógeno, ya que una vez que el micelio alcanza el tallo, los fungicidas no ejercen su acción fungitóxica a tal distancia.

Para comparar la eficiencia de los tratamientos con fungicidas, o bien distintas prácticas de manejo/control de la enfermedad, o bien para pronosticar futuros niveles de la misma, entre otros usos, son de gran utilidad los modelos de simulación que cuantifiquen el progreso de su incidencia o severidad a través del tiempo (Madden, 1980).

1.4. Modelos de simulación de progreso de las enfermedades

Se trata de modelos empíricos basados en curvas de crecimiento o progreso de la enfermedad respecto al tiempo. En el caso del patosistema en estudio en particular, donde el daño económico no es producido directamente por la reducción del tejido foliar fotosintético, interpretar las curvas de progreso de manchas foliares observadas en otoño a través de sus parámetros, podría aportar información de gran utilidad para el entendimiento del CBT producido en primavera.

Múltiples son los modelos matemáticos que permiten ajustar las curvas de progreso de epidemias. Para el caso de enfermedades foliares bien podría reducirse la exploración a los modelos Gompertz, Logístico y Monomolecular (Tabla 1), con tres parámetros cada uno (Neher y Campbell, 1992), representando ellos: "a" el índice de enfermedad máximo o asíntota, "b" relacionado al inoculo inicial y "c" la tasa de progreso de infección aparente (número de lesiones originadas/lesión/unidad de tiempo). Los procesos dinámicos son definidos por su tasa de cambio en el tiempo.

Una epidemia puede, por ello, ser expresada como 'dy/dt' – el cambio en enfermedad ('dy') con infinitesimal cambio en el tiempo ('dt'). Esta expresión representa la tasa absoluta de incremento de enfermedad o tasa absoluta de progreso.

Tabla 1: Modelos Monomolecular, Logístico y Gompertz, sus ecuaciones integradas y diferenciales.

	Ecuación	Ecuación diferencial
Monomolecular	$y = a(1 - b e^{-cx})$	$dx/dt = c_M (1-x)$
Logístico	$y = \frac{a}{(1 + b e^{-cx})}$	$dx/dt = c_L x (1-x)$
Gompertz	$y = a e^{-e^{b-cx}}$	$dx/dt = c_G x [-\ln(x)]$

Donde: c_M , c_L , c_G es la tasa específica de cada modelo; 1 representa la cantidad máxima de enfermedad; x es la cantidad de enfermedad (incidencia o severidad, en proporción 0-1) ; y por lo tanto (1-x) representa el tejido sano.

1.4.1. Modelo Monomolecular

En este modelo la velocidad de aumento de la enfermedad es proporcional al inóculo inicial y la tasa, ambos supuestos constantes. El gráfico de la variación de la enfermedad por unidad de tiempo o función diferencial (dx/dt) muestra que los incrementos son siempre decrecientes y que se aproximan a cero, en la medida que se agotan los tejidos sanos, originando una curva cóncava en relación a la abscisa, aproximándose asintóticamente a la cantidad máxima de enfermedad (Figura 5a)

1.4.2. Modelo Logístico

Este modelo ha sido el más empleado para describir el progreso de la enfermedad. La interpretación biológica indica que la velocidad de aumento de la enfermedad es proporcional a la propia cantidad de enfermedad y a la cantidad de tejido sano disponible. Graficando x respecto del tiempo, se origina una curva sigmoide, conocida como curva logística, simétrica en torno de $x = 0,5$.

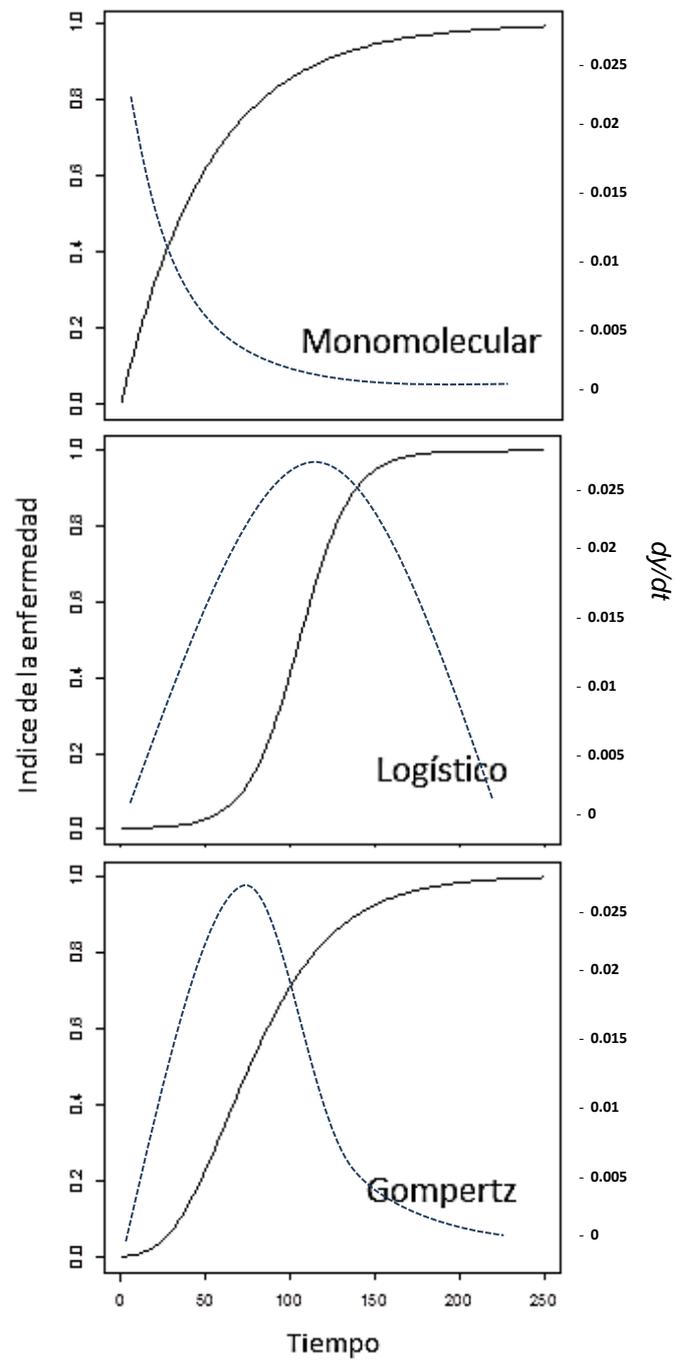


Figura 5: Modelos de progreso de enfermedad. Curvas representativas de los modelos Monomolecular, Logístico y Gompertz (líneas continuas) y sus respectivas tasas de progreso a lo largo del tiempo (líneas discontinuas).

1.4.3. Modelo de Gompertz

Esta ecuación propuesta por Winsor (1932) se fundamenta en el modelo propuesto por Benjamín Gompertz en 1925 para describir la mortalidad en humanos. Este modelo, así como el logístico, es especialmente útil para describir enfermedades policíclicas (que presentan más de un ciclo infeccioso por ciclo del cultivo).

Tabla 2: Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz.

Propiedades	
Ecuación	$IE_t = a * (\exp(-\exp(b - c * t)))$
Índice de enfermedad (Incidencia o Severidad)	IE
Asíntota (IE máxima)	a
Parámetro relacionado con Inóculo inicial	b
Tasa de progreso	c
Punto de inflexión	$IE = a/\exp(1)$ (su incidencia : I%Pi) $t = b/c$ (el tiempo en que ocurre: TPI)
Tasa máxima de incremento de IE (TMI)	$a*c/\exp(1)$
Valor delta (Fase lag de la curva)	$(b-1)/c$
Tasa relativa de incremento de IE	$c*\exp(b-c*t)$ (en función del tiempo) $c*(\ln a - \ln IE * t)$ (en función del IE)

Fuente: (Winsor, 1932)

El gráfico de su función diferencial (dy/dt vs tiempo), muestra incrementos crecientes hasta que se alcanza el punto de inflexión, en $x = 0,37 (1/e)$, seguido de incrementos decrecientes que tienden a cero. El gráfico de “y” respecto del tiempo, origina una curva también sigmoide pero se diferencia de la logística por su crecimiento más acentuado en el inicio (Figura 5).

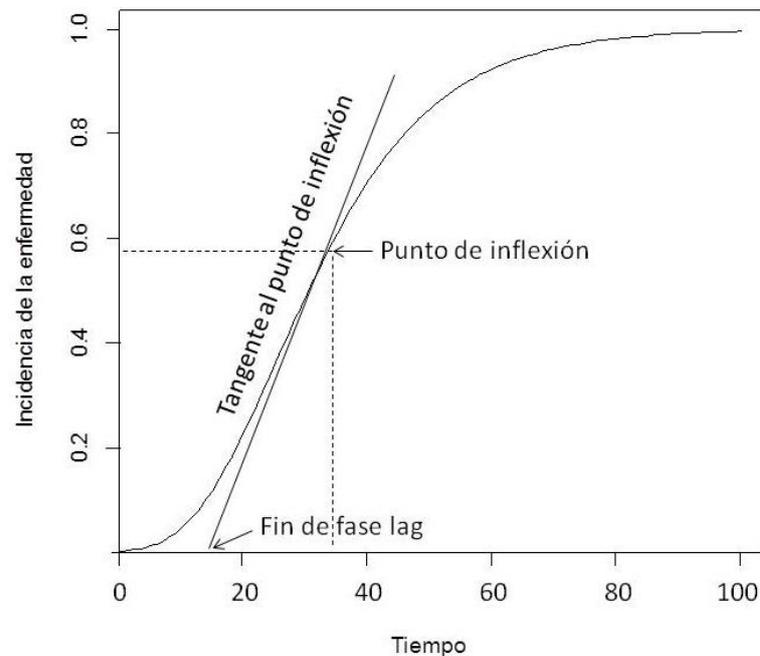


Figura 6: Curva de crecimiento tipo sigmoideo y parámetros de importancia.

La parametrización del modelo de Gompertz (Tabla 2) puede aportar interesantes herramientas en el estudio de las epidemias y en la evaluación de las medidas de control. Además de los parámetros a , b y c de las curvas también se pueden calcular otros valores que complementen la descripción de las mismas con aspectos de gran utilidad en estudios fitopatológicos (Figura 6), como ser el “período de la fase lag”, el punto de inflexión y sus coordenadas (x,y) , la tasa máxima de incremento de enfermedad (tangente al punto de inflexión) o bien las tasas de crecimiento relativizadas a cada momento en que transcurre la epidemia, o sus niveles de incidencia o severidad.

1.5. Contexto local del CBT

Considerando los diferentes escenarios de producción del cultivo de colza en el mundo podemos considerar a Australia en un extremo con uso de variedades primaverales exclusivamente de 5-6 meses de duración de ciclo, logrando rendimientos entre 1,3-1,5 tn/ha. En cuanto a la enfermedad, es conocido un período de mayor susceptibilidad entre emergencia y 5-6 hojas desarrolladas en estos países. Inglaterra y Francia podrían ubicarse en el otro extremo del escenario, en cuanto a largo de ciclo (9 a 10 meses) con variedades invernales y rendimientos alcanzados (3-

4 tn/ha). Con respecto a la enfermedad se considera que entre emergencia y las 9-10 hojas desarrolladas el cultivo expresa su período de mayor susceptibilidad.

Con respecto a los extremos recién mencionados podría considerarse a la Argentina como en una situación intermedia, ya que aquí son usadas variedades tanto primaverales como invernales con un largo de ciclo promedio de 7 a 8 meses. Los rendimientos registrados se observan entre 1,7 a 2,5 tn/ha. Sin embargo, tanto en Balcarce como para el resto del país se desconoce cuáles son los estadios fenológicos de mayor susceptibilidad en que infecciones de *L. maculans* provocarán CBT en niveles perjudiciales para el cultivo de colza. Tampoco existe una adecuada caracterización del comportamiento de las variedades de esta oleaginosa ante el CBT.

Múltiples estudios en diversas partes del mundo han demostrado la existencia de la relación entre la epidemia de MF y el consecuente CBT. Las MF son un común denominador en los lotes de producción de colza de la región bajo estudio. Este conocimiento y sus interacciones serían aportes de gran importancia para el manejo de la enfermedad.

La región Sudeste de la provincia de Buenos Aires se perfila como una importante zona de producción de colza en la Argentina. El CBT se presentó todos los años de evaluación de cultivares (INTA, 2011), quizás favorecido por la amplia presencia de flora natural (*Brassicas* sp.) que sirven de hospedantes alternativos para su perpetuación *in situ* (Hall, 1992; Marcroft *et al.*, 2002), la masificación del uso de la siembra directa o condiciones ambientales favorables en otoño. Considerando que los rastros mantienen el inóculo activo por un lapso de varios años en el mediano plazo podrían ocurrir importantes epidemias de CBT, que se incrementarían a través de los ciclos del cultivo. La información que se genere en el presente trabajo aportaría datos relevantes como base para la toma de decisión en medidas de control, tales como las aplicaciones de fungicidas o las prácticas de manejo que disminuyan los niveles de la enfermedad en el cultivo.

Establecer relaciones entre la epidemia de MF y el consecuente CBT resulta imprescindible en el estudio del patosistema Colza / *L. maculans* debido a sus características epidemiológicas. Estos conocimientos sirven de base para la aplicación de medidas de manejo una vez que se han observado los síntomas primarios durante las etapas iniciales del cultivo en el otoño.

1.6. Hipótesis y objetivos

Hipótesis 1:

“El número de hojas desplegadas al momento de detección de manchas foliares por *L. maculans* se relaciona con la severidad del cancro de la base del tallo en Balcarce, Argentina”

Objetivo 1:

Determinar el período de estadios fenológicos de colza en el que infecciones foliares de *L. maculans* en otoño causan máximo nivel de cancro de la base del tallo.

(Se recomienda continuar con la lectura del capítulo 2)

Hipótesis 2:

“Para la variedad N8450, dentro del período de mayor susceptibilidad detectado en Balcarce, al menos un componente epidemiológico de manchas foliares por *L. maculans* puede explicar el daño del cancro en la base del tallo”

Objetivo 2:

Relacionar la epidemia de manchas foliares dentro del período de susceptibilidad detectado con el cancro en la base del tallo en primavera a través de sus componentes epidemiológicos.

2. DETERMINACIÓN DE LOS ESTADIOS FENOLÓGICOS DE COLZA EN EL QUE INFECCIONES FOLIARES DE *L. maculans* EN OTOÑO CAUSAN CANCRO EN LA BASE DEL TALLO CON MÁXIMA SEVERIDAD.

2.1. Materiales y métodos

Este experimento fue llevado a cabo durante los meses de mayo a diciembre del año 2010, en la Estación Experimental Unidad Integrada FCA/INTA Balcarce (S37 45.187 W58 19.072). Se siguió el siguiente esquema de trabajo, utilizando dos ambientes: Invernáculo y Campo.

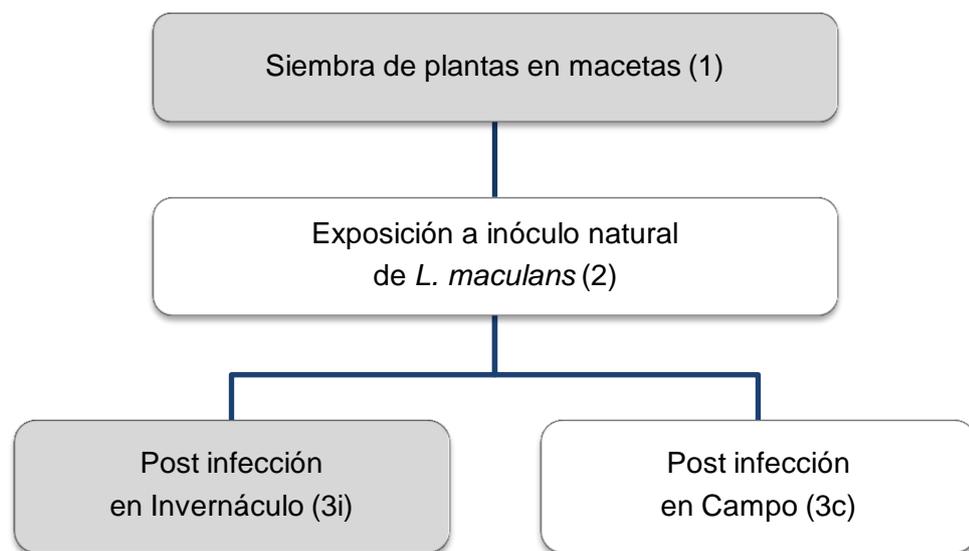


Figura 7: Esquema de las etapas del experimento y sus ambientes de desarrollo. Recuadros grises representan el ambiente “invernáculo” y blancos al “campo”.

2.1.1. Siembra de plantas en invernáculo

Se utilizaron cuatro variedades de colza que combinan las características de largo de ciclo y grado de resistencia al CBT, como se detalla en la tabla 3:

Tabla 3: Comportamiento ante la enfermedad de las variedades y ciclos.

	Comportamiento ante la enfermedad		
	Bueno	Susceptible	Desconocido
Invernales	Gospel	-----	Hidromel
Primaverales	Hyola 61 (H61)	Nexera 8450 (N8450)	-----

(Iriarte, L., com.pers., 2010) Chacra Integrada Barrow y (Martínez, A., com.pers., 2010) Advanta Semillas

Para tener en un mismo momento plantas con un amplio rango de estadios vegetativos (representado por el número de hojas desarrolladas) se realizaron distanciadas en el tiempo por una semana de cada variedad (Figura 8). Se incubaron en el invernáculo las semillas en bandejas multiceldas para 40 plantines. Cuando las plántulas alcanzaron el estado de dos hojas desarrolladas se trasplantaron a macetas de 2 litros (conteniendo tierra esterilizada y turba en proporción 3:1) hasta el momento de su exposición al inóculo del patógeno en el campo. Las plantas sembradas en una misma fecha fueron manejadas en grupos de estadios fenológicos similares (GEF). Los estadios fenológicos se determinaron con la escala de estados de desarrollo de Sylvester-Bradley y Makepeace (1984) (escala adjuntada en el anexo con el prefijo "EF"). Las hojas se consideraron desplegadas cuando alcanzaron 3 cm en su sección más larga.

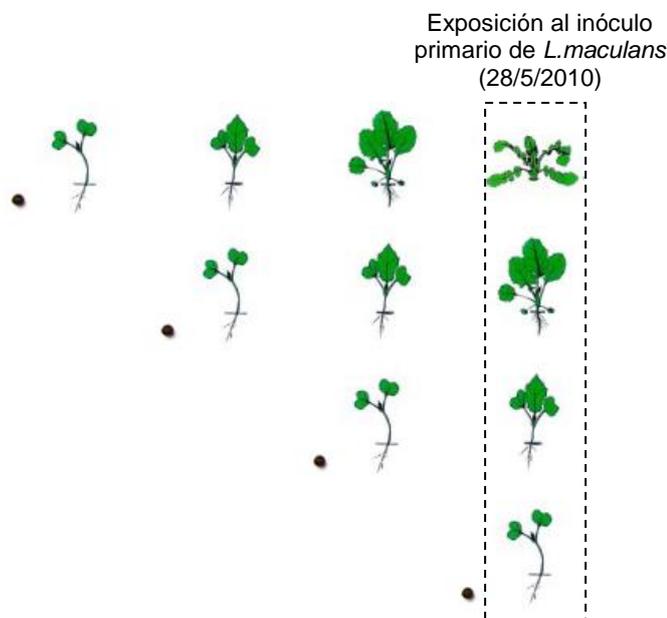


Figura 8: Esquema de siembras desfasadas de plantas de colza en invernáculo (período: 24/05/2010 a 18/06/2010) a ser expuestas al inóculo de *L. lingam*

La configuración de los tratamientos surge de la combinación de los siguientes factores: variedad x GEF.

El total de plantas producidas para la exposición al inóculo natural fue de 392 plantas (cuatro Variedades x siete GEF x 14 repeticiones).

Las plantas se mantuvieron en el invernáculo para protección de potenciales infecciones primarias de *L. maculans*, regadas diariamente con solución nutritiva (Hoagland *et al.*, 1950) al 25 % en agua destilada.

2.1.2. Exposición a la fuente de inóculo (Infección natural)

Las plantas fueron transportadas al campo el 28/5/2010 localizando las mismas sobre un rastrojo de colza de años anteriores con conocida ocurrencia de CBT (corroborando la presencia de pseudotecios). Los residuos provinieron de sitios de experimentación de la EEA INTA Balcarce y de la Estación Experimental Integrada Barrow. Las plantas en las macetas fueron distribuidas en el campo a una distancia de 10 cm entre ellas para minimizar la interferencia de crecimiento de las mismas debido a la diferencia de tamaños en que se encontraban. Se regó diariamente procurando mantener alta humedad en la superficie de las hojas para facilitar la infección. Se realizó el seguimiento diario de la aparición de los síntomas primarios de la enfermedad, de esta manera se determinó los “días a primera mancha foliar”. Esta etapa se dio por finalizada cuando la variedad susceptible logró un 100 % de plantas con al menos una MF. Esto ocurrió a los 39 días desde la exposición (27/7/2010). Se evaluó semanalmente la severidad de las MF y se calculó el área bajo la curva a través del método de integración trapezoidal..

2.1.3. Período post infección (desarrollo de CBT)

Una mitad de las plantas bajo estudio (cuatro variedades x siete GEF x siete repeticiones) permaneció en el sitio de infección, trasplantadas a tierra (Figura 3c) y la otra mitad se transportó nuevamente al invernáculo (Figura 3i). De esta manera se logró variar el ambiente post infección, principalmente a través de la diferencial exposición al inóculo de *L. maculans* (ascosporas) y el aumento de la temperatura para la etapa asintomática y la formación del CBT. Se continuaron las evaluaciones de la severidad de MF y se evaluó el CBT al momento del 50% de plantas con vainas con

inicio de coloración oscura (EF6.4). Para ello se cortaron transversalmente los tallos en su parte basal (sector de 5 cm centrados en el punto de cambio de color verde a blanco) y se evaluó la severidad con la ayuda de una escala de seis grados propuesta por Aubertot *et al.*, (2006) modificada (West, J., com. pers., 2010) (Figura 9). Esta estima el porcentaje de sección diametral de médula dañada (decoloración a destrucción). Para el entrenamiento de la estimación visual de la sintomatología del CBT se utilizó el programa de unificación de criterios “Quantipest” realizado en INRA, Francia, donde se utiliza la escala usada en este experimento. Para la estimación del tiempo térmico acumulado en cada etapa se utilizó la temperatura base de 4°C (West, J., com. pers., 2010).

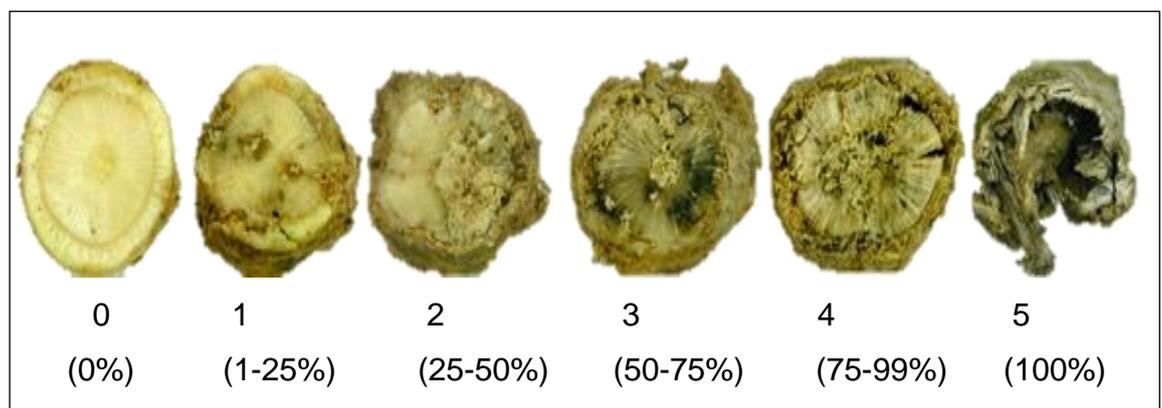


Figura 9: Escala de severidad de Cancro de la base del tallo (CBT) propuesta (Aubertot *et al.*, 2006) modificada (West, J., com. pers., 2010).

2.1.4. Diseño experimental y análisis estadístico.

Los tratamientos (variedad x GEF) fueron distribuidos durante la 2^o y 3^o etapa del experimento en un diseño completo aleatorizado con siete repeticiones, donde cada ambiente de la 3^o etapa fue analizado en forma independiente. El análisis estadístico se realizó con el software estadístico R 2.14 (R Development Core Team, 2008). Se analizaron las varianzas de los tratamientos para variables de MF y CBT. Se compararon las medias de los tratamientos con test de Tukey (5%). Se correlacionaron las variables de MF con CBT y se ajustaron regresiones lineales (simples y polinómicas) y no lineales (exponenciales) entre las variables correlacionadas.

Se utilizó el Índice de Criterio de Akaike (ICA) para determinar el mejor ajuste de los modelos significativos. De cada regresión obtenida se determinó el máximo nivel de severidad del CBT y de acuerdo al intervalo de confianza (IC95%) se trazó una

recta horizontal en el límite inferior del mismo. Se consideró no diferente a ese valor máximo, a todos los puntos de la curva que quedaron por encima de dicha recta horizontal. Proyectando esos puntos de la curva hacia el eje x, se estableció el periodo de estadios fenológicos en que la aparición de MF provocaría los máximos niveles de severidad de CBT.

Modelo estadístico

$$\gamma_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

γ_{ijk} es la variable respuesta de la observación correspondiente a la combinación de la i –ésima variedad, el j –ésimo GEF en la k –ésima planta.

μ corresponde a la media general

α_i efecto de la i –ésima variedad ($i = 1, 2, 3, 4$)

β_j efecto del j –ésimo GEF ($j = 1, 2, \dots, 7$)

$\alpha\beta_{ij}$ efecto de la interacción de la i –ésima variedad por el j –ésimo GEF

e_{ijk} es el error experimental, en que $e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$

2.2. Resultados

2.2.1. Temperatura durante el experimento

En la figura 10 se grafica la temperatura media diaria durante el período en que se llevó a cabo el experimento en los ambientes. La temperatura media del periodo de infección (día 0 a 39, 18/6 al 27/7) fue de 8,1°C acumulando un total de 164°Cd. En la 3º etapa en el ambiente post infección Campo (28/7 al 17/11), la temperatura media fue de 11,5°C en con una suma térmica de 854°Cd y una duración de 113 días. En cuanto al ambiente post infección Invernáculo (28/7 al 23/10) con 88 días de duración, se registró una temperatura media de 18,6 °C, acumulando un total de 1287°Cd (432°Cd más que en al ambiente campo, aún con 25 días menos)

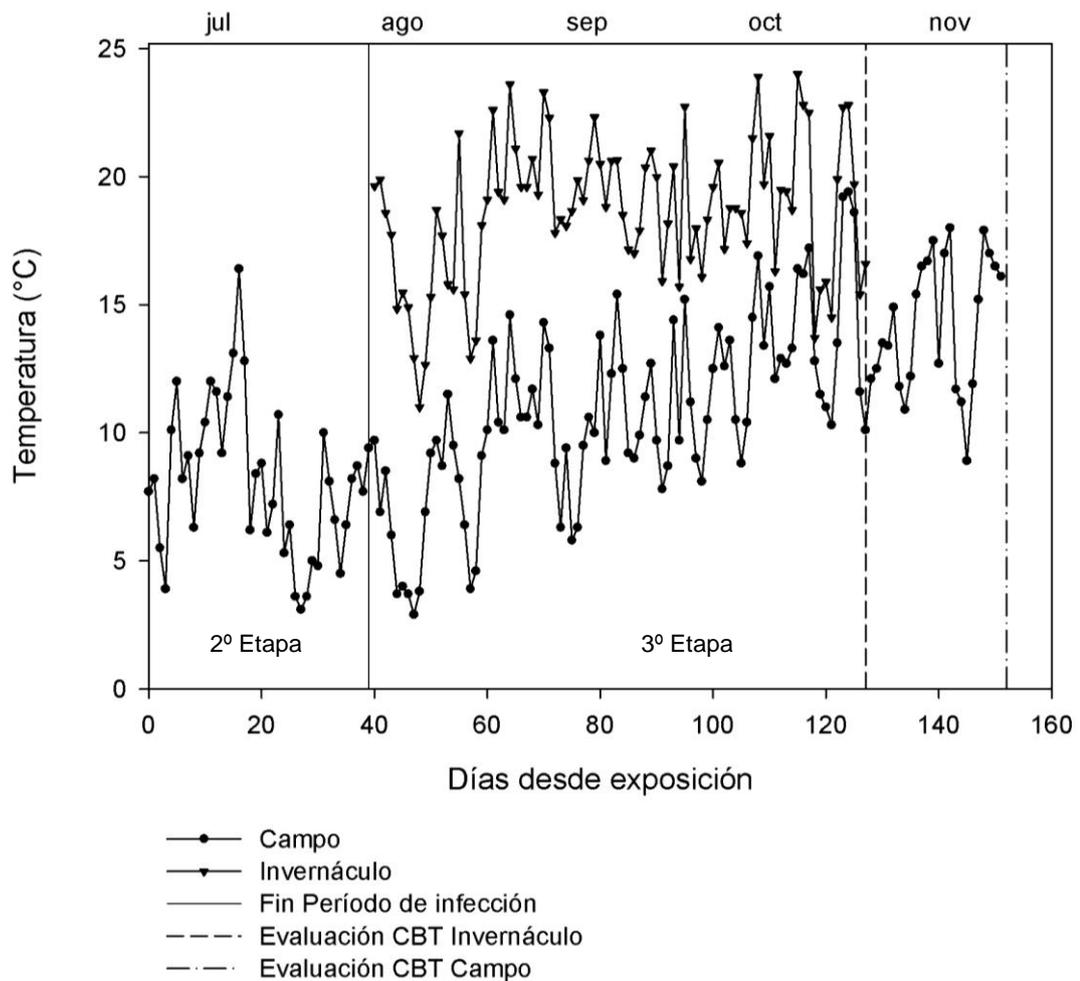


Figura 10: Temperaturas medias durante el experimento llevado a cabo en la EEA Balcarce durante los meses de junio a diciembre de 2010.

2.2.2. Manchas foliares

En promedio por cada hoja desplegada se acumuló 50°Cd (filocrono). Los GEF podrían entonces relacionarse con la “edad” de las plantas (cantidad de hojas x 50°Cd) al momento de su exposición. Excepto para la variedad N8450, en general, el ambiente “invernáculo” aumentó el número de hojas al momento de la aparición de la primera mancha, ya que al momento de finalización de la etapa de infección de esta variedad, todas las plantas presentaban manchas (Tabla 3).

Tabla 4: Número de hojas desplegadas para cada GEF y variedad al momento de exposición al inóculo de *L. maculans* (día 0 de 2^o etapa) y al momento de observación de la primera mancha foliar. Los datos corresponden a las medias de siete repeticiones (desvío estándar entre paréntesis).

Variedad	GEF	Campo 3 ^o etapa		Invernáculo 3 ^o etapa	
		Al momento de exposición	Aparición de síntomas	Al momento de exposición	Aparición de síntomas
Gospel	1	0	3,3	0	5,3
	2	1 (0,0)	4,7	1 (0,0)	5,4
	3	3 (0,4)	6,3	3 (0,0)	8,6
	4	5 (0,8)	7,9	4 (0,5)	8,9
	5	7 (0,5)	9,0	7 (0,4)	10,9
	6	8 (0,5)	12,3	8 (0,9)	15,7
	7	9 (0,7)	13,4	9 (0,9)	17,6
Hidromel	1	0	3,9	0	5,3
	2	1 (0,0)	4,3	1 (0,0)	5,4
	3	3 (0,4)	6,3	3 (0,6)	6,9
	4	4 (0,4)	7,3	4 (0,4)	8,1
	5	5 (0,5)	9,3	6 (0,5)	9,6
	6	8 (0,9)	11,4	8 (0,4)	13,7
	7	9 (0,9)	13,4	9 (0,8)	15,7
Hyola 61	1	0	3,6	0	5,9
	2	1 (0,0)	4,9	1 (0,0)	6,9
	3	3 (0,9)	6,9	3 (0,7)	7,1
	4	4 (0,5)	7,6	4 (0,0)	8,7
	5	7 (0,5)	9,6	7 (0,5)	12,6
	6	8 (0,8)	11,0	8 (0,9)	14,0
	7	9 (0,8)	12,3	9 (0,7)	14,6
Nexera 8450	1	0	3,0	0	3,3
	2	1 (0,0)	4,0	1 (0,0)	4,6
	3	3 (0,4)	5,0	3 (0,4)	6,0
	4	4 (0,0)	7,9	4 (0,4)	7,0
	5	6 (0,5)	9,7	6 (0,7)	8,6
	6	8 (0,5)	11,0	7 (0,8)	9,7
	7	9 (0,8)	12,3	9 (0,9)	12,1

*El número 0 de los GEF1 corresponde al estadio de cotiledones.

Tabla 5: Efecto del cultivar y el GEF sobre los días a primera mancha y área bajo la curva de las MF en el ambiente post infección “campo”. Medias con letras iguales no difieren significativamente entre si según Tukey (5%): mayúsculas para GEF o minúsculas para los cultivares. Cada dato es el valor promedio de siete plantas.

GEF	1	2	3	4	5	6	7	Media
Días a primera MF (días desde exposición al inóculo en el campo)								
Gospel	41AB ab	50 AB a	43 A ab	36 AB b	35 BC b	43 B ab	51 A a	43
Hidromel	51 A a	39 BC a	41 AB a	39 AB a	50 A a	41 B a	51 A a	44
H61	46 A a	53 A a	44 A a	47 A a	45 AB a	55 A a	47 AB a	48
N8450	33 B a	33 C a	29 B a	32 B a	33 C a	32 B a	36 B a	32
<i>Media</i>	43	44	39	38	41	42	46	
ABC MF (Severidad %MF.°Cd)								
Gospel	1034	997	1196	1398	1721	1158	772	1182 A
Hidromel	756	2107	1848	2633	1407	2718	704	1739 A
H61	953	503	903	1231	698	460	1909	951 A
N8450	1745	3534	4230	3901	3729	3046	2644	3261 B
<i>Media</i>	1122 a	1785 a	2044 a	2291 a	1889 a	1846 a	1507 a	

Del análisis de la varianza de la variable “días a primera mancha” en función del GEF x variedad como factores, en el ambiente “campo” se observó una interacción significativa ($P=0,007$). Se procedió a analizar un factor dentro de cada nivel del otro factor (Tabla 4). La variedad N8450 presentó síntomas antes que H61 en todos los GEF salvo en el 7; con respecto a Hidromel presentó un período de incubación menor en los GEF 1, 5 y 7; y menor que Gospel en los GEF 2, 3 y 7. Del análisis del factor GEF dentro de cada variedad se observó que sólo para la variedad Gospel hubo efecto de los GEF, siendo los GEF 2 y 7 (50 y 51 días) los que presentaron un período de incubación mayor. Por su parte, en los GEF 4 y 5 los síntomas se manifestaron antes (a los 36 y 35 días respectivamente). En cuanto al ABC MF no hubo interacción entre los factores. N8450 presentó mayor enfermedad acumulada a través del tiempo ($P=0,002$) que el resto de las variedades testeadas.

Ambiente post infección “Invernáculo”

Tabla 6: Efecto del cultivar y el GEF sobre los días a primera mancha y área bajo la curva de las MF en el ambiente post infección “invernáculo”. Medias con letras iguales no difieren significativamente entre si según Tukey (5%): mayúsculas para GEF o minúsculas para los cultivares. Cada dato es el valor promedio de siete plantas.

GEF	1	2	3	4	5	6	7	Media
Días a primera MF (días desde exposición al inóculo en el campo)								
Gospel	48	43	46	39	39	55	55	46 A
Hidromel	47	43	39	39	42	48	55	45 A
H61	49	50	41	43	49	52	46	47 A
N8450	35	37	35	35	32	37	40	36 B
<i>Media</i>	<i>45 abc</i>	<i>43 abc</i>	<i>40 bc</i>	<i>39 c</i>	<i>40bc</i>	<i>48ab</i>	<i>49a</i>	
ABC MF (Severidad%MF.°Cd)								
Gospel	4660	5056	3565	5861	6547	2888	2076	4379 A
Hidromel	3565	5990	8286	7700	6828	4137	2888	5628 A
H61	2762	2844	5292	3323	2762	3169	3729	3412 A
N8450	5947	7173	15574	12985	17898	6866	8229	10667 B
<i>Media</i>	<i>4234 a</i>	<i>5266 a</i>	<i>8179 a</i>	<i>7467 a</i>	<i>8509 a</i>	<i>4265 a</i>	<i>4231 a</i>	

No se observó interacción entre los GEF y los cultivares ($P \leq 0,05$) en los días hasta aparición de la primera mancha. En GEF 7 la aparición de síntomas fue posterior que en los GEF 3, 4 y 5, mientras que en GEF 6 las MF aparecieron más tardíamente que en el GEF 4 (Tabla 5). El cultivar N8450 presentó el menor tiempo hasta la aparición de la primera mancha, con 36 días. Los otros cultivares testeados, Gospel con 46 días, Hidromel con 45, y H61 con 47, no difirieron significativamente entre sí. En cuanto al ABC MF no hubo interacción entre los factores ($P \leq 0,05$). Sólo se detectó el efecto de la variedad ($P=0,01$) siendo N8450 la que presentó la mayor severidad (10667) diferenciándose significativamente del resto de los cultivares analizados

2.2.3. Cancro de la base del tallo

La severidad promedio de todas las plantas en el ambiente “Campo” fue de 25% y en “Invernáculo” fue de 34%.

Ambiente post infección “Campo”

Del análisis de la varianza para la variable severidad del CBT se observó interacción significativa de los factores GEF y variedad ($P=0,001$) (Tabla 6). Al analizar el GEF dentro de cada variedad se observó efecto significativo en todas las variedades salvo en Gospel, donde la severidad del CBT se mantuvo dentro del rango 0-14%. En el resto de los cultivares se detectó el efecto de los GEF. En Hidromel el GEF1 presentó la mayor severidad promedio (44%) aunque el GEF2 con 21% no se diferenció significativamente. Tampoco se diferenciaron entre si los GEF 3 al 7, manteniendo niveles del 5 al 10%. En H61 la severidad del CBT del GEF1 fue mayor, con 29%, y el resto de los GEF tuvo valores de 0-2%. En el cultivar N8450 los GEF 1 al 4 presentaron los mayores valores (89-100%) mientras que el GEF7 presentó la menor severidad (23%).

Tabla 7: Efecto del GEF y del cultivar sobre la severidad del cancro de la base del tallo para el ambiente post infección campo. Medias con letras iguales no difieren significativamente entre si según Tukey (5%): mayúsculas para GEF o minúsculas para los cultivares.

GEF	1	2	3	4	5	6	7	Media
Gospel	14 A a	12 A a	8 A a	5 A a	4 A a	0 A a	2 A a	7
Hidromel	44 B b	21 A ab	10 A a	12 A a	5 A a	10 A a	10 A a	16
H61	29 B b	2 A a	2 A a	0 A a	0 A a	0 A a	2 A a	5
N8450	80 C cd	100 B d	84 B cd	89 B cd	68 B bc	53 B b	23 B a	71
Media	42	34	26	27	19	16	9	

En todos los GEF la variedad N8450 presentó los mayores niveles de severidad del CBT, en relación al resto de variedades, las cuales presentaron similares niveles de severidad en todos los GEF salvo en el 1 donde Gospel fue la que desarrolló el menor nivel (14%) (Tabla 6).

Ambiente post infección “Invernáculo”

No hubo interacción de los factores GEF y variedad para la severidad de cancro de la base del tallo ($P \leq 0,05$). Del análisis de los efectos simples (GEF $P=0,002$ y variedad $P=0,001$) se observó que los GEF 1 y 2 tuvieron mayor CBT (44 y 45 % respectivamente) en relación al GEF7 (24%), mientras que el resto de los GEF no se diferenciaron de ninguno de estos extremos (CBT entre 26 y 34%) (Tabla 7). Las variedades H61 y Gospel tuvieron el mejor comportamiento frente al CBT alcanzando valores de su severidad de 6 y 15% respectivamente. En el otro extremo, la variedad N8450 desarrolló la mayor expresión de CBT con 83% de severidad, quedando en situación intermedia Hidromel con 31%.

Tabla 8: Efecto del GEF y el cultivar sobre la severidad del cancro en la base del tallo para el ambiente post infección invernáculo. Medias con letras iguales no difieren significativamente entre si según Tukey (5%): mayúsculas para GEF o minúsculas para los cultivares. Cada valor es promedio de siete plantas

GEF	1	2	3	4	5	6	7	Media
Gospel	36	16	11	9	14	16	5	15 A
Hidromel	41	57	27	14	32	32	13	31 B
H61	5	5	7	4	6	7	7	6 A
N8450	95	100	89	77	84	66	71	83 C
<i>Media</i>	<i>44 b</i>	<i>45 b</i>	<i>33 ab</i>	<i>26 ab</i>	<i>34 ab</i>	<i>30 ab</i>	<i>24 a</i>	

2.2.4. Relación entre Mancha foliar y Cancro de la base del tallo

De los análisis de correlación entre las variables de MF (número de hojas a primera mancha, días a primera mancha y área bajo la curva de MF) con la severidad del CBT solo la primer variable (NH1M) fue significativa ($P \leq 0,05$).

Ambiente post infección “Campo”

Solo en las variedades Hidromel y N8450 se pudo establecer un período de estadios fenológicos de mayor susceptibilidad. En la variedad H61 si bien pudo

ajustarse una curva esta no pudo definir ningún período de estadios fenológicos de mayor susceptibilidad ya que solo en con tres hojas se observó 29% de severidad de CBT.

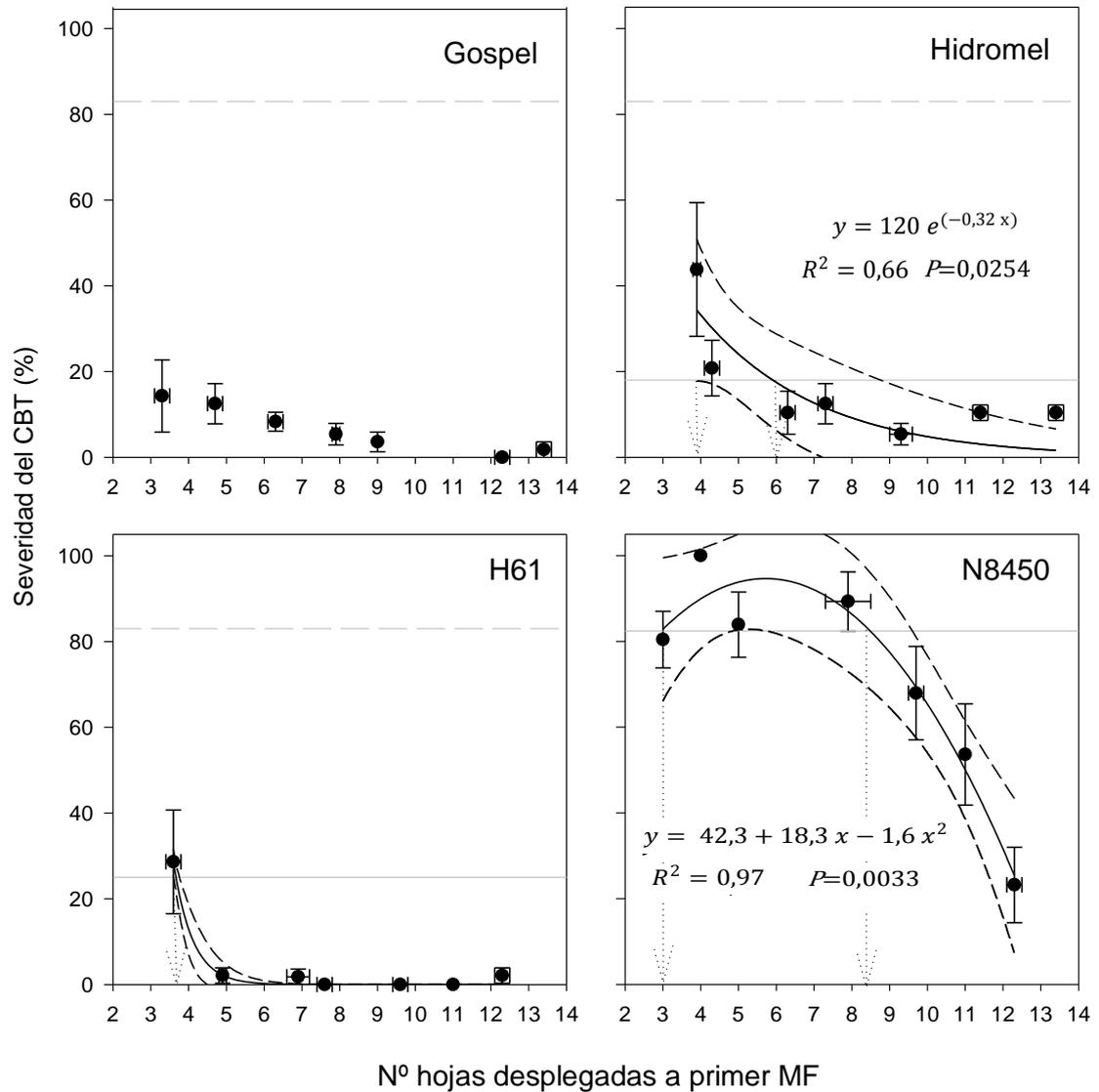


Figura 11: Relación entre NH1MF y la severidad CBT en ambiente post-infección “campo”. Rectas horizontales son: límite inferior del IC 95% del valor máximo predicho para cada variedad (—); límite inferior del IC 95% del valor máximo predicho para la variedad susceptible N8450 (- - -). Las flechas verticales indican el periodo de estadios fenológicos cuyos CBT predichos por las curvas se ubican por encima de las rectas anteriormente descritas. Los puntos corresponden a valores promedio de las siete repeticiones con sus respectivos errores estándar.

En Gospel la regresión no fue ajustada ya que no demostró diferencias significativas en su test de comparación de medias de los GEF. Por lo tanto, infecciones foliares en cualquier estadio fenológico, darían un mismo nivel de severidad de CBT.

En la variedad N8450 la función polinómica de segundo grado fue la que mejor explicó la relación entre estadio fenológico al detectar MF y severidad de CBT (ICA=52,3 vs 62,3 del modelo lineal) (Figura 11). Esta función fue descripta entre 3-12 hojas desplegadas y 95-31% de severidad de CBT. El rango de hojas que mostró severidad de CBT igual variedad al máximo observado (95%-82%) fue entre 3-8 hojas desplegadas. Esta variedad, fue utilizada para estimar el potencial del ambiente en cuanto a la severidad del CBT, a través de su mínimo valor máximo (82%), pudiéndose observar la diferencia que existe con los otros valores de máximas severidades.

Para la variedad Hidromel se ajustó la función exponencial negativa entre NH1M y CBT ($P=0,025$) entre 4-13 hojas y 33-2% de severidad del CBT. MF observadas entre 4-6 hojas dio 33-18% de severidad de CBT, igual a la máxima estimada por la regresión.

Ambiente post infección "Invernáculo"

La variable NH1M se relacionó con CBT sólo en la variedad N8450. El modelo lineal logró mejor ajuste ($P=0,012$). Esta función fue obtenida en un rango total entre 3-12 hojas desplegadas con 100-73% de severidad de CBT. El período de estadios fenológicos que produjeron los niveles máximos de CBT fue entre 3 y 7 hojas desplegadas, con 100-88% de severidad de CBT (Figura 12). El valor del límite inferior del intervalo de confianza (95%) del valor máximo (88%) de N8450 se colocó en los cuatro gráficos con líneas punteadas.

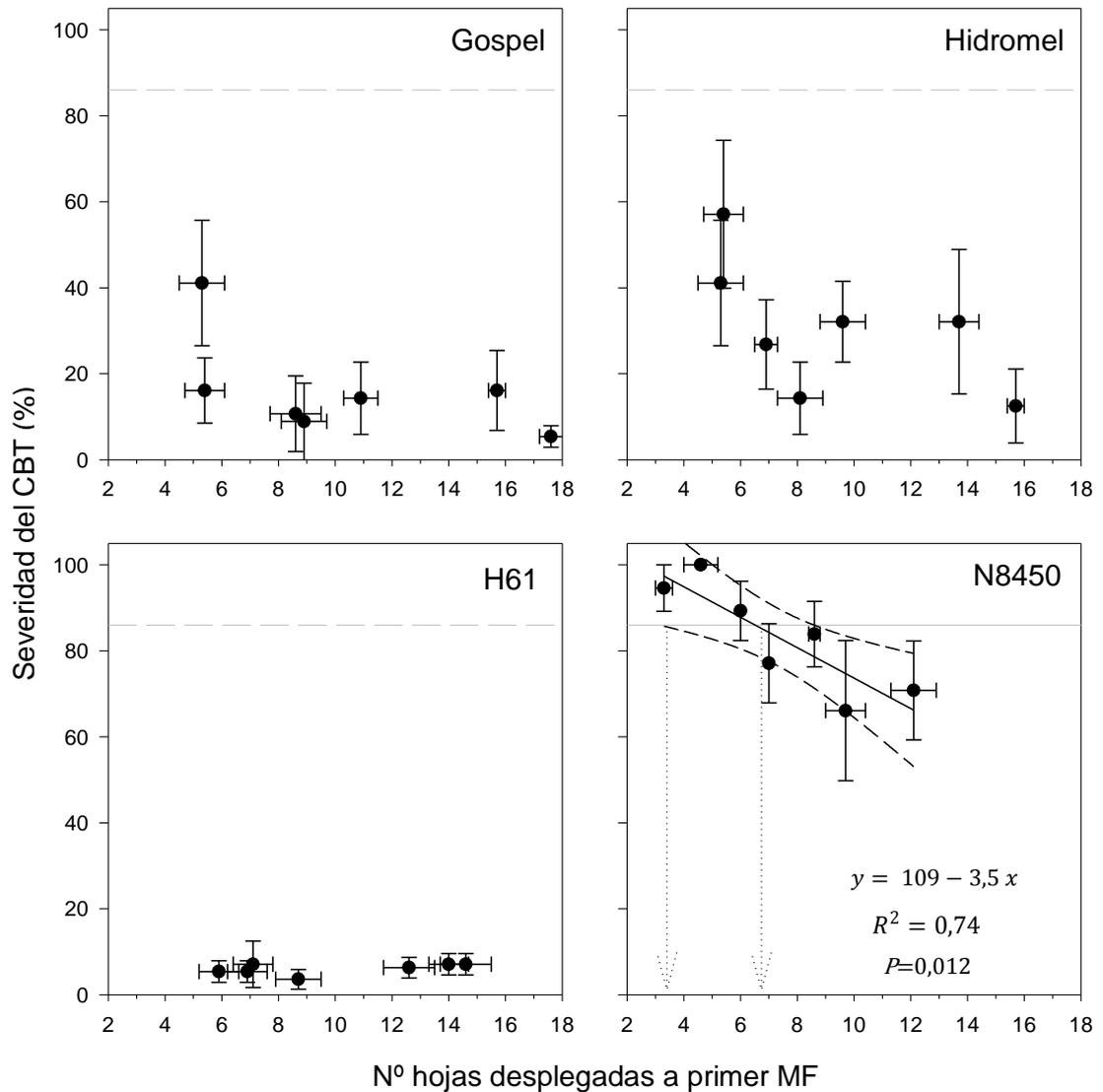


Figura 12: Relación entre NH1MF y severidad del CBT en el ambiente post-infección “invernáculo”. Rectas horizontales son: límite inferior del IC 95% del valor máximo predicho para cada variedad (—) y límite inferior del IC 95% del valor máximo predicho para la variedad susceptible N8450 (- - -). Las flechas verticales indican el periodo de estadios fenológicos cuyos CBT predichos por las curvas se ubican por encima de las rectas anteriormente descritas. Los puntos corresponden a valores promedio de las siete repeticiones con sus respectivos errores estándar.

2.3. Discusión

Para la variable “días a primer mancha” a nivel de planta individual, el factor GEF solo tuvo efecto significativo en la variedad Gospel. Este resultado indicaría que la edad del tejido expuesto no tuvo influencia sobre la aparición de los primeros síntomas foliares. Por otro lado, la variedad tuvo efecto significativo en todos los GEF, resaltando la importancia del nivel de resistencia genético propio de los cultivares. Esta resistencia sería la que opera en la primera etapa de contacto del patógeno con el hospedante, gobernada por genes simples, mayores, raza-específica o resistencia vertical. Si bien en todas las plantas se observaron las MF, la diferencia en el componente del monociclo “tiempo de incubación” fue notoria entre las variedades. Lo mismo ocurrió con el ABC de las MF, donde sólo la variedad presentó efecto, siendo N8450 la que mostró mayores niveles en relación a las otras variedades.

Naseri *et al.*, (2008a) demostró la importancia de los factores ambientales sobre el periodo de incubación, siendo principalmente la temperatura y la humedad los de mayor relevancia. En el presente trabajo todos los tratamientos de GEF fueron expuestos a las mismas condiciones ambientales durante el período de incubación. Los resultados indicaron que el factor genético, tuvo efecto sobre el periodo de incubación del patógeno. Un período de incubación mayor resultaría importante para retrasar el desarrollo de los síntomas y por lo tanto la esporulación y diseminación del patógeno dentro del cultivo. Esto podría ubicar la epidemia de MF en épocas más frías, condiciones adversas para el hongo, retrasaría la colonización hacia el tallo y la producción de CBT.

En cuanto al CBT, se observó que las variedades demostraron niveles promedio variables de severidad: bajos como H61 (< 10%) o Gospel (<20%); intermedios como Hidromel (<30%) o altos como N8450 (>70%) en ambos ambientes post infección. Coincidiendo con lo postulado por Delourme *et al.*, (2006) y Fernando *et al.*, (2007) quienes sugieren que la resistencia genética es la principal herramienta de control del CBT en el cultivo de colza.

En el ambiente post infección más cálido (invernáculo) la variable CBT demostró tener mayor variabilidad enmascarando posiblemente la interacción observada en el ambiente “campo”. Mientras que en este último ambiente los máximos niveles de CBT se observaron con infecciones de hasta 8 hojas en el ambiente “invernáculo” fue hasta la hoja 7. Sin embargo, los niveles de severidad promedio observados fueron mayores en el segundo (83 vs 71%) en concordancia con lo expuesto por West *et al.*, (2001)

quienes afirmaban que el desarrollo del CBT y las lesiones aéreas en el tallo es más rápido en regiones con temperaturas mayores durante el periodo floración-cosecha, como sucede en Australia o Canadá respecto de Inglaterra. Esto podría deberse a: i) una mayor acumulación de Cd^0 en ambientes con mayor temperatura aunque la duración de los estadios fenológicos sea menor en relación a ambientes más fríos (observado en el presente experimento); ii) una tasa de crecimiento del patógeno a través del peciolo y el tallo aumentada (Hammond y Lewis, 1987) y que sería mayor a la tasa de crecimiento del cultivo por poseer una temperatura base menor ($0^{\circ}C$ vs $4^{\circ}C$ respectivamente).

En las relaciones establecidas entre NH1M y CBT la tendencia observada fue que a medida que las infecciones de *L. maculans* ocurrían en estadios fenológicos más avanzados, el nivel de severidad del CBT era menor. Lo mismo fue observado por (Ghanbarnia *et al.*, 2011) quienes demostraron que infecciones en estadio cotiledonar tuvieron mayor severidad del CBT que en tres hojas desplegadas, aunque sin diferencias de incidencia entre ambos estadios.

La variable de la epidemia de MF que mejor correlacionó con la severidad del CBT fue el número de hojas desarrollada a primera mancha. Es por esta razón que una demora de la infección primaria durante los primeros estadios de desarrollo de la colza permitiría al cultivo desarrollar mayor cantidad de hojas, con la consiguiente disminución de severidad en el CBT, siendo este el principio de control conocido como de "evasión". de "evasión".

Plantas de la variedad Hidromel y N8450 se mostraron menos vulnerables a infecciones luego de la 6° y 8° hoja respectivamente, siendo estos estadios más avanzados que lo hallado por Marcoft (2005) en Australia (3°-5° hojas).

3. RELACIÓN ENTRE LA EPIDEMIA DE MANCHAS FOLIARES DE OTOÑO Y EL DESARROLLO DE CANCRO EN LA BASE DEL TALLO EN PRIMAVERA

3.1. Materiales y métodos

El Este experimento fue llevado a cabo durante los meses de marzo a diciembre de 2011, en la Estación Experimental Unidad Integrada FCA/INTA Balcarce. (S37 45.187 W58 19.072). sobre un suelo Argiudol Típico, Serie Mar del Plata (USDA Taxonomy), con tosca presente a una profundidad promedio de 1 m. Parcelas de la variedad Nexera 8450 (ciclo primaveral, susceptible a *L. maculans* fueron sembradas el 12/05/2011. La densidad de siembra fue de 6 kg/ha, dando en promedio 30 plantas por metro lineal (aprox. 140 plantas/m²) a los 15 días de la emergencia. Las parcelas tuvieron 5 metros de largo y 1,47 m de ancho (siete surcos a 21 cm entre sí).

Con el objetivo de lograr diferentes curvas de progresos de la mancha foliar se aplicaron los siguientes tratamientos de protección antifúngica según se consigna en la Tabla 8.

Tabla 9: Tratamientos de protección antifúngica

Tratamientos	Ingrediente Activo y Estadio Fenológico al momento de aplicación
CD	Control desprotegido
Azoxistrobin 75 gr i.a./ha	
AzP	EF1.2* + EF 1.4 + EF 1.6 + EF 1.8
Az2	EF 1.2
Az4	EF 1.4
Az6	EF 1.6
Az8	EF 1.8
Propiconazole 75 gr i.a./ha	
PrP	EF 1.2 + EF 1.4 + EF 1.6 + EF 1.8
Pr2	EF 1.2
Pr4	EF 1.4
Pr6	EF 1.6
Pr8	EF 1.8

*Estadios fenológicos (Sylvester-Bradley y Makepeace 1984) en que se realizó la aplicación de los fungicidas.

Las pulverizaciones se realizaron con los siguientes ingredientes activos y dosis: Azoxistrobin 75 g i.a/ha (Amistar®25%, Syngenta, Buenos Aires, Argentina) y Propiconazole 75 g i.a/ha (Tilt®25%, Syngenta, Buenos Aires, Argentina).

Las aplicaciones fueron realizadas con mochila de pulverización de presión constante con CO₂ a 3 bares de presión logrando un volumen de aplicación de 130 lt/ha. Con el fin de asegurar la infección natural por *L. maculans* fueron dispersados manualmente en forma homogénea 60 g/m² de residuos triturados de cultivos del año anterior con inóculo de *L. maculans* (pseudotecios con ascosporas) luego de la siembra. La humedad ambiente diaria fue mantenida a través de dos riegos de 5 mm/cm² por microaspersión. Los aspersores fueron distribuidos de manera tal de asegurar un mojado de las hojas uniforme en todas las parcelas.

Tabla 10: Aplicación de tratamientos y trabajos de mantenimiento del experimento.

2011	DdE ¹	Tiempo Térmico ² (°Cd)	EF ³	Tratamientos	Evaluación	Manejo sanitario y nutricional ⁴
12-may	-16		0			Siembra + FDA
28-may	0	7,3	0.8			
1-jun	4	38	1.0	AzP y PrP		
22-jun	25	146	1.2	AzP + Az2 y PrP + Pr2		
24-jun	27	154	1.2			Galant + Clap
9-jul	42	196	1.3		1° MF	
12-jul	45	223	1.4			
14-jul	47	239	1.4	AzP + Az4 y PrP + Pr4	MF	
21-jul	54	276	1.5		MF	
29-jul	62	324	1.5		MF	Galant + Lontrel
4-ago	68	334	1.6	AzP + Az6 y PrP + Pr6		
5-ago	69	338	1.6		MF	
10-ago	74	373	1.6			Urea + SA
11-ago	75	385	1.7		MF	
26-ago	90	438	1.8	AzP + Az8 y PrP + Pr8		
29-ago	93	453	1.8			SA
7-oct	132	748	4.5		CBT1	
18-nov	174	1216	6.7		CBT2	

¹ DdE: Días desde emergencia

² Tiempo térmico: calculado con temperatura base = 4°C

³ EF: Estadios fenológicos.

⁴ Manejo Sanitario y nutricional: Fertilizantes (FDA: Fosfato diamónico; SA: Sulfato de amonio). Herbicidas (Galant®Dow - graminicida; Lontrel®Dow-Latifolicida). Hormiguicida (Clap®Bayer)

Estimando un rendimiento potencial del cultivo de 2,5 tn/ha de grano, se aplicaron los siguientes fertilizantes (N-P-S): 80 kg de Fosfato Diamónico (FDA, 18-46-0) a la siembra; 200 kg de urea (46-0-0-0) al voleo y 60 kg de Sulfato de Amonio (SA, 21-0-24) a chorrillo en el entresurco en el estado de seis hojas (1.6). Por último se repitió la dosis de Sulfato de Amonio al estado de elongación de tallo (2.1 - 5/9). De esta manera fueron adicionados 132 kg de N, 37 de P y 29 de S en total, quedando aproximada la relación N:S 5:1 para un buen balance nutricional (Burzaco *et al.*, 2009).

Para el control de malezas gramíneas se efectuaron dos aplicaciones de 1,2 lt/ha de Galant® (Haloxifop 54%, Dow Agrosiences, Buenos Aires, Argentina) en el estado de dos hojas (1.02 - 24/6) y en 5 hojas (1.05 - 29/7) debido a la alta emergencia de trigo semillado del año anterior. Para controlar malezas latifoliadas se aplicaron 120 cm³/ha de Lontrel® (Clopiralid 47,5%; Dow Agrosiences, Buenos Aires, Argentina). No fueron necesarios controles ante insectos plaga, pero si para hormigas mediante la aplicación de 20 cm³/ha de Clap® (Fipronil 20% de Bayer Cropsciences - Buenos Aires, Argentina).

3.1.1. Mediciones

Se delimitó la zona de muestreo a los tres surcos centrales considerando así a los cuatro surcos externos como bordura intra-parcela. Se tomaban submuestras de la zona anterior, media y posterior de la parcela para mayor representatividad.

Las etapas fenológicas se determinaron según la escala de Sylvester-Bradley y Makepeace (1984) considerando la fecha de inicio de cada etapa cuando el 50% de las plantas había comenzado dicho estado. El cultivo se consideró emergido cuando se visualizaron 10 plántulas por metro lineal con ambos cotiledones expandidos (1.0).

Epidemia de manchas foliares:

Se realizaron evaluaciones de incidencia a los 42, 47, 54, 62, 69 y 75 días posteriores a la emergencia contabilizando las plantas con al menos una mácula foliar. Para ello se realizaron tres submuestreos de 0,5 m² por parcela. Se calculó el área bajo la curva (ABCMF) por el método trapezoidal. Mediante el uso de modelos no lineales mixtos se ajustó el progreso en el tiempo de la incidencia a través de los modelos Gompertz, Logístico y Monomolecular, utilizando al Criterio de Información de Akaike (CIA) para seleccionar el modelo de mejor ajuste, siendo este, el de menor valor obtenido del ANOVA de la regresión.

Se ajustó un modelo no lineal mixto con efecto aleatorio de bloque y parcela en la asíntota. Este resulta adecuado para analizar variables con alta heterogeneidad como es la incidencia de una enfermedad (Madden *et al.*, 2002). Además, al detectarse heterogeneidad de varianzas en los residuales, se modeló la varianza con una función de potencia del valor predicho.

Cancro de la base del tallo

Se evaluó incidencia y severidad del cancro en la base del tallo a los 132 y 174 días desde la emergencia, representando el inicio de floración y la madurez fisiológica. Para su estimación fueron extraídas 25 plantas de los tres surcos centrales para el muestreo de floración y 30 para el muestreo de madurez fisiológica. Se utilizó la escala de severidad de Aubertot *et al.*, (2006) modificada (0 a 5) (Figura 8), donde a través de un corte transversal de la base del tallo se estima la severidad en alguna de las seis clases detalladas. Luego se calcula la severidad de la enfermedad (%) aplicando la siguiente fórmula:

Severidad CBT (%) =

$$\left[\frac{(0 * a + 1 * b + 2 * c + 3 * d + 4 * e + 5 * f)}{5 (a + b + c + d + e + f)} \right] * \frac{100}{5}$$

Donde las letras a, b, c, d, e y f indican la cantidad de plantas dentro de cada clase, 0,1, 2, 3, 4 y 5.

3.1.2. Diseño experimental y análisis estadístico

Los tratamientos se dispusieron en parcelas con un diseño en bloques completos aleatorizados, con tres repeticiones. A los datos de cada variable se les aplicó el test de Bartlett para evaluar la homogeneidad de varianzas entre tratamientos. Se aplicó la transformación Logit para la severidad del CBT y continuar los análisis.

$$\text{logit}(p) = \log\left(\frac{p}{1-p}\right) = \log(p) - \log(1-p).$$

Donde: p es el valor de la severidad expresada en proporción (0-1)

Posteriormente, los datos fueron analizados por medio del Análisis de Varianza (ANOVA) para detectar diferencias entre las medias de los tratamientos de protección. Cuando por medio del test F del ANOVA se detectaron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, éstas se compararon por el test de Tukey ($\alpha=0,05$). Todos los análisis fueron realizados con el software estadístico R 2.14 (Team, 2012).

Modelo estadístico del experimento:

$$\gamma_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

γ_{ijk} es la variable respuesta de la observación correspondiente a la combinación del i –ésimo tratamiento, en el j –ésimo bloque y en la k –ésima parcela.

μ es la media general

α_i efecto del i –ésimo tratamiento ($i = 1, 2, \dots, 11$)

β_j efecto del j –ésimo bloque ($j = 1, 2, 3$)

e_{ijk} es el error experimental, en que $e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$

3.2. Resultados

3.2.1. Condiciones meteorológicas y su relación con MF y CBT.

La temperatura media mensual en el periodo fue superior con respecto a la serie histórica 1970-2009 del mismo periodo, en 6 de los 8 meses en que se realizó el experimento (mayo a junio 2011) (Tabla 10). Temperaturas mínimas igual o menor a 0°C medidas a 5 cm de altura respecto al suelo ocurrieron en 64 de los 196 días totales del experimento, ocurriendo 83% de ellos en etapas vegetativas, siendo los meses de julio y septiembre los meses de mayor cantidad (14 en ambos meses). Las precipitaciones acumuladas mensuales tuvieron una distribución menos uniforme en el mismo periodo (469 mm) respecto a la serie histórica (500 mm) teniendo mayores

diferencias positivas en junio y noviembre (42 y 83 mm) mientras que en 5 de los 8 meses las precipitaciones acumuladas fueron menores. La humedad relativa media de todo el periodo fue de 72% con un coeficiente de variación del 8%.

En la Figura 13 se puede observar la evolución de las temperaturas medias a través del ciclo del experimento. Las líneas punteadas representan el comienzo y el pico de la epidemia de MF. Esta se inicio 21 días después de la precipitación mayor del mes de junio, y en coincidencia con un primer ascenso de la temperatura del invierno. La finalización o el pico máximo, desde donde comenzó a decrecer, ocurrió en un pico de mínima temperatura media.

Tabla 11: Condiciones meteorológicas de la EEA Balcarce del período mayo a diciembre 2011. Temperatura media (T. media), Precipitaciones (Pp.) acumulada mensual, Días con temperatura mínima (T. min) a 5 cm de altura ≤ 0 : humedad relativa (HR).

Mes	1970-2009		2011			
	T media (°C)	Pp. (mm)	T. media (°C)	Días con T. min a 5 cm ≤ 0	HR (%)	Pp. (mm)
Mayo	11,1	50	12,3 (+1,2) *	9	72	19 (-30)
Junio	8,2	48	8,6 (+0,4)	12	81	90 (+42)
Julio	7,6	54	8,5 (+0,9)	14	75	73 (+19)
Agosto	8,9	39	8,3 (-0,6)	11	76	25 (-13,6)
Septiembre	10,5	52	11,5 (+1,1)	14	63	36 (-16)
Octubre	13,3	88	13,0 (-0,3)	4	72	41 (-47)
Noviembre	15,9	67	18,8 (2,8)	0	65	151 (83)
Diciembre	18,8	103	19,0 (0,2)	0	70	34 (-69)

* el valor entre paréntesis corresponde a la diferencia con su valor promedio de la serie histórica 1970-2009.

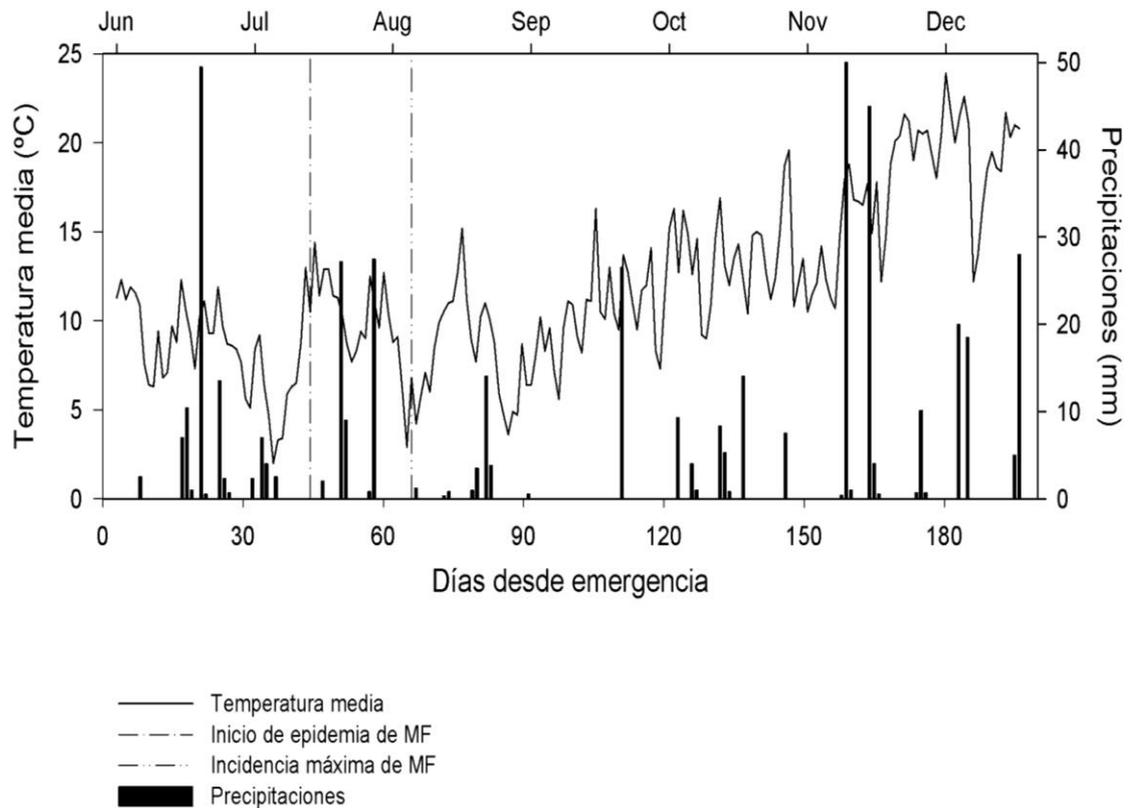


Figura 13: Progreso de las temperaturas (media), precipitaciones a través de la época del experimento, momento de inicio e incidencia máxima de MF. EEA Balcarce, período mayo a diciembre 2011.

El ciclo total del cultivo tuvo una duración de 196 días, iniciándose el 28 de mayo de 2011 con la emergencia y llegando a la madurez fisiológica el 10 de diciembre (Tabla 11). El estado de roseta culminó a los 100 días desde emergencia (dde) acumulando 488°Cd. El periodo emergencia - inicio de la floración tuvo 132 días (748°Cd) y 162 días (1045°Cd) hasta comenzar la fructificación. El tiempo térmico acumulado entre el despliegue de cada hoja (filocrono) se calculó en 50°Cd llegando a ocho hojas al momento de la elongación de la vara principal.

Tabla 12: Evolución fenológica a través del tiempo.

Fecha (2011)	Días desde emergencia	Tiempo térmico ¹ (°Cd)	Fenología (EF ²)	Estado Fisiológico
12-may	-16		0	Siembra
28-may	0	7,3	0,8	Emergencia
01-jun	4	38,3	1,0	Vegetativo
18-jun	21	122,7	1,02	
01-jul	34	169,1	1,03	
12-jul	45	222,8	1,04	
21-jul	54	275,8	1,05	
02-ago	66	328,7	1,06	
11-ago	75	384,7	1,07	
22-ago	86	428,1	1,08	
05-sep	100	487,9	2,1	Elongación (E)
21-sep	116	608,9	3,1	Botón Floral (BF)
07-oct	132	748,3	4,1	Inicio Floración (IF)
06-nov	162	1045,4	5,1	Inicio Fructificación (IFr)
18-nov	174	1216,5	5,9	
10-dic	196	1559,4	6,8	Madurez Fisiológica (MF)

¹Tiempo térmico: calculado con temperatura base = 4°C

²EF: Estadios fenológicos según Sylvester-Bradley

En la Figura 14 se observan las epidemias de MF y CBT del tratamiento Control Desprotegido para utilizarlo como referencia en la evolución fenológica del cultivo y el tiempo transcurrido. La epidemia de MF tuvo un incremento positivo durante 22 días desde su comienzo, 42 días desde emergencia (dde), cuando se observó la primera MF, hasta el nivel máximo de incidencia a los 64 dde. El primer muestreo destructivo para CBT se llevó a cabo 132 dde (inicio de floración), mientras que el último se realizó a los 197 dde (madurez fisiológica).

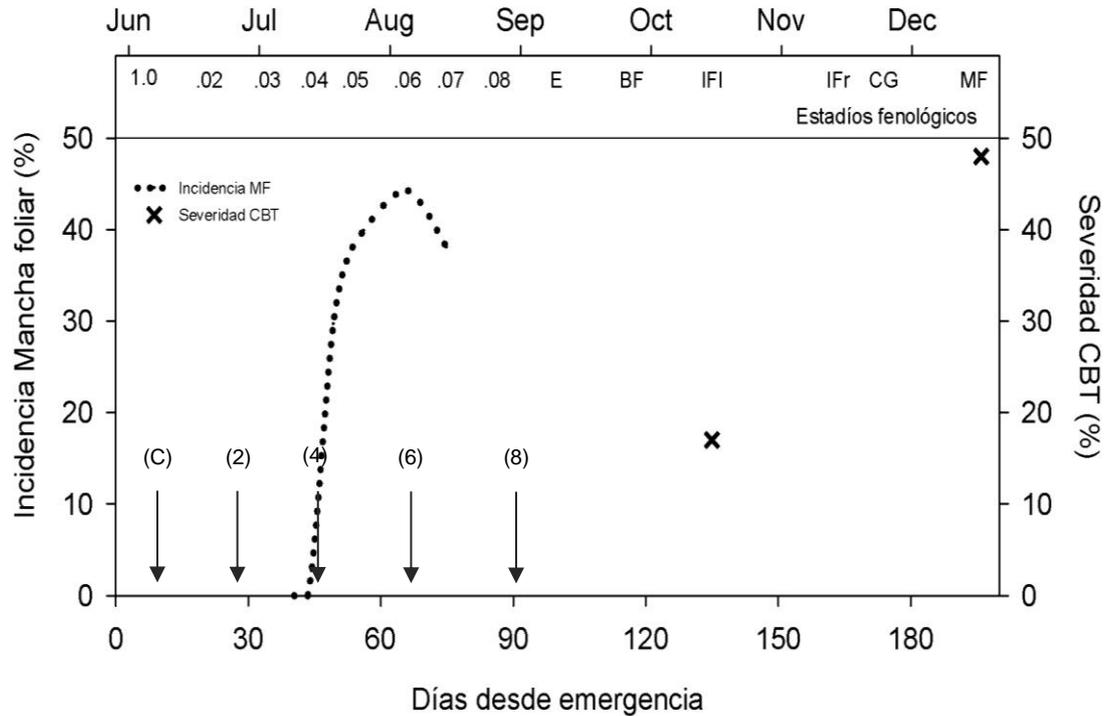


Figura 14: Progreso de la incidencia de la epidemia de MF (líneas punteadas) y severidad del CBT (cruces) en el control desprotegido. En la parte superior del gráfico se observa la sucesión de estadios de desarrollo del cultivo según la escala de Sylvester-Bradley y Makepeace (1984). Las flechas hacia abajo representan el momento de las aplicaciones con fungicidas y los números entre paréntesis las hojas desarrolladas del cultivo. Tratamientos de protección: aplicaciones múltiples AzP y PrP en EF1.0 + EF1.2 + EF1.4 + EF1.6 + EF1.8; aplicaciones simples de Az y Pr en EF1.2, EF1.4, EF1.6 o EF1.8.

3.2.2. Epidemia de manchas foliares

Ajuste de modelos

Los modelos de Gompertz y Monomolecular fueron los que lograron ajustar para describir las curvas de progreso en el tiempo de las epidemias de MF, mientras que el Logístico no logró convergir de manera conjunta (Tabla 12). De acuerdo al menor ICA entre los modelos que lograron convergir, el seleccionado fue el de Gompertz para continuar su parametrización y análisis (ICA= 887 vs. 898). De los tres parámetros obtenidos, la asíntota (*a*) fue analizada ya que el inóculo inicial fue el mismo para todos los tratamientos (relacionado al parámetro *c*) y la tasa de progreso (*b*) no es

comparable ya que están referenciadas a distintas asíntotas propias de cada tratamiento (Figuras 15 y 16), pudiendo caer en el error de subestimarlas (Neher y Campbell, 1992).

Tabla 13: Modelos testeados con sus respectivos ICA. Tiempo en días (t)

Modelo	Ecuación	ICA
Monomolecular	$a * (1 - b * \exp(-d * t))$	898
Gompertz	$a * (\exp(-\exp(b - d * t)))$	887
Logístico	$a / (1+b*\exp(-d*t))$	No logró converger

Tabla 14: Parámetros del modelo de Gompertz (a,b,c) para las epidemias de manchas foliares y comparación de medias del parámetro “a”. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0,05$). Valor del parámetro obtenido de tres repeticiones con su error estándar (ee).

Tratamiento	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
CD	44,8 ± 3,1 f	1,65 ± 0,12	0,044 ± 0,007
AzP	16,8 ± 2,3 b	1,59 ± 0,10	0,037 ± 0,005
Az2	23,5 ± 2,8 c	1,67 ± 0,08	0,029 ± 0,003
Az4	29,2 ± 2,5 cd	1,79 ± 0,19	0,058 ± 0,012
Az6	38,5 ± 3,0 e	1,70 ± 0,10	0,043 ± 0,006
Az8	40,2 ± 2,9 ef	1,76 ± 0,14	0,051 ± 0,009
PrP	12,2 ± 2,2 a	1,46 ± 0,11	0,030 ± 0,005
Pr2	33,9 ± 2,6 d	1,75 ± 0,17	0,050 ± 0,011
Pr4	41,4 ± 2,9 ef	2,03 ± 0,3	0,074 ± 0,025
Pr6	47,7 ± 3,2 f	1,76 ± 0,14	0,051 ± 0,009
Pr8	46,9 ± 3,2 f	1,75 ± 0,13	0,051 ± 0,008

Del análisis de la varianza se observó un efecto significativo del tratamiento sobre el parámetro a ($P < 0,05$) (Tabla 14). De la comparación múltiple del parámetro (representando la asíntota como el nivel de incidencia máximo alcanzado) por el test de Tukey ($\alpha = 0,05$) se observó que los tratamientos protegidos totales PrP y AzP fueron los de menor valor alcanzado en cada uno de los grupos de fungicidas (12,2% y 16,8% respectivamente) y a su vez difirieron entre sí (Tabla 13). Entre los tratamientos con aplicación simple de fungicida los Az2 y Az4 no difirieron significativamente entre sí (23,5% y 29,2%) aunque este último tampoco se diferenció del Pr2 (33,9%). En el siguiente nivel de asíntota se encuentran los tratamientos Az6 (38,5%), Az8 (40,2%) y Pr4 (41,4%), y estos dos últimos no fueron significativamente diferentes de los Pr6 (47,7%), Pr8 (46,9%) o CD (44,8%).

A continuación se presentan las curvas de progreso de las epidemias de MF de los tratamientos agrupados según ingrediente activo del fungicida, en primer lugar los tratamientos con protección con Azoxistrobin (Figura 15) y luego Propiconazole (Figura 16). Se presentan para cada gráfico las observaciones de todas las repeticiones con la curva del modelo de Gompertz ajustado para cada caso.

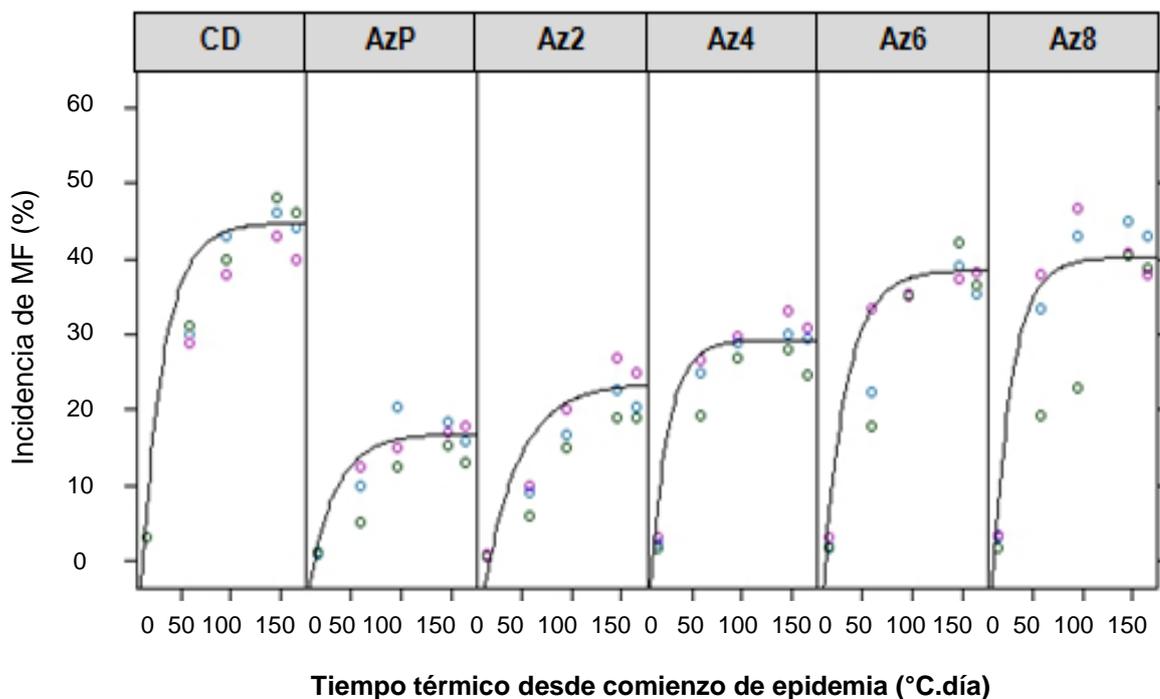


Figura 15: Curvas de progreso según modelo de Gompertz de las epidemias de MF (incidencia) para los tratamientos protegidos con Azoxistrobin aplicados al estado de 2 hojas (Az2), 4 hojas (Az4), 6 hojas (Az6) y 8 hojas (Az8) y los controles protegido (AzP) y desprotegido (CD).

Las curvas reflejan que los tratamientos con protección antifúngica lograron generar variabilidad en la epidemia de MF. En los tratamientos AzP, Az2 y Az4 se observa los menores valores de incidencia de MF para este principio activo. En condición similar al CD se observaron los tratamientos Az6 y Az8, los cuales progresaron hacia los niveles más altos de MF, logrando valores cercanos al 40%.

En el grupo de los tratamientos protegidos con Propiconazole se observó que el PrP se diferenció del resto de los tratamientos manteniendo los niveles de incidencia de MF siempre por debajo del 10%. En situación intermedia, aunque llegando a superar el 30% de incidencia, se ubicó el tratamiento Pr2, mientras que los tratamientos Pr4, Pr6 y Pr8 no se diferenciaron de CD.

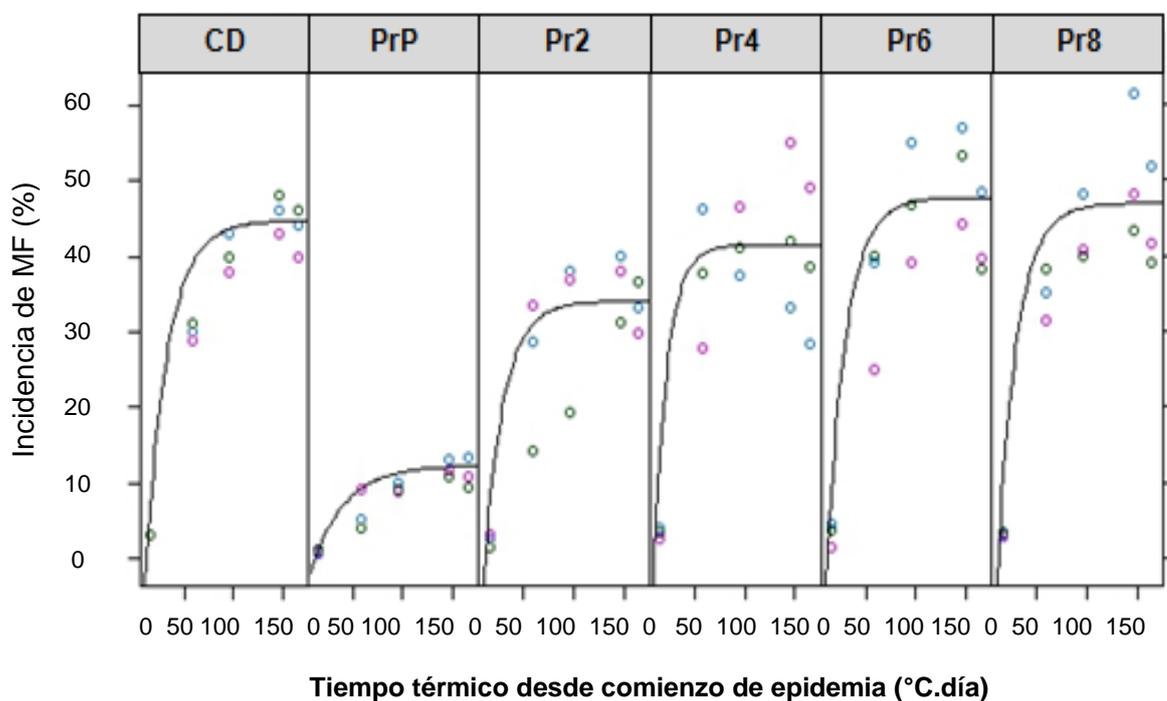


Figura 16: Curvas de progreso según modelo de Gompertz de las epidemias de MF (incidencia) para los tratamientos protegidos con con Propiconazole aplicados al estado de 2 hojas (Pr2), 4 hojas (Pr4), 6 hojas (Pr6) y 8 hojas (Pr8) y los controles protegido (PrP) y desprotegido (CD).

Tabla 15: ABC de progreso, punto de inflexión, tasa máxima de incremento y duración de la fase lag del modelo de Gompertz para la epidemia de manchas foliares. El Punto de Inflexión se detalla para ambos ejes: la variable tiempo (t) e Incidencia de MF (I%MF). Estos valores se estimaron a partir de los modelos presentados en la Tabla 13, según se detalló anteriormente en materiales y métodos.

Tratamiento	ABC (I%MF x °Cd)	Punto de inflexión (I%MF) (°Cd)		Tasa máxima (I%MF/°Cd)	Fase lag (duración en °Cd)
CD	4226	16,5	37,6	0,725	14,85
AzP	1530	6,2	42,9	0,230	15,96
Az2	1698	8,7	58,1	0,249	23,38
Az4	3044	10,8	31,2	0,619	13,78
Az6	3596	14,2	39,6	0,606	16,25
Az8	4009	14,8	34,4	0,756	14,85
PrP	968	4,5	48,3	0,136	15,31
Pr2	3385	12,5	34,7	0,628	14,86
Pr4	4513	15,2	27,5	1,123	13,96
Pr6	4851	17,5	34,6	0,894	15,01
Pr8	4680	17,3	34,4	0,879	14,80

3.2.3. Cancro de la base del tallo

El análisis de las variables Incidencia y Severidad del CBT mostraron valores diferenciales entre tratamientos ($P < 0.05$). Se puede observar que la media general de incidencia y severidad del CBT en inicio de floración fue de 40% y 10% y luego en madurez fisiológica fue de 75% y 30%. En los controles desprotegidos estos valores fueron de 55%/17,3% en inicio de floración y 93,3%/48,3% en madurez fisiológica.

De la comparación por el test de Tukey para la variable incidencia del CBT en floración se pueden diferenciar los tratamientos AzP y Az2 con respecto al CD (Tabla 15). Con respecto a la severidad en el mismo momento, los tratamientos Azp, Az2, Az4 y PrP son los que lograron diferenciarse del CD, mientras que los restantes no fueron significativamente diferentes.

Tabla 16: Efecto de los tratamientos de protección ante *L. maculans* sobre la incidencia y severidad del cancro de la base del tallo (CBT) en inicio de floración y madurez fisiológica. Letra diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0,05$)

Tratamiento	Floración		Madurez fisiológica	
	Incidencia (%)	Severidad (%)	Incidencia(%)	Severidad(%)
CD	55,0 bc	17,3 d	93,3 b	48,3 c
AzP	13,3 a	2,7 a	30,7 a	8,3 a
Az2	21,7 a	5,0 ab	60,0 ab	16,3 ab
Az4	30,0 abc	7,0 bc	68,0 ab	21,3 ab
Az6	45,0 bc	12,7 cd	74,7 ab	26,1 bc
Az8	50,0 bc	11,3 bcd	81,3 ab	35,5 bc
PrP	28,3 ab	7,0 bc	65,3 ab	18,9 ab
Pr2	38,3 abc	8,7 bcd	89,3 b	36,3 bc
Pr4	45,0 abc	10,0 bcd	78,7 ab	30,9 bc
Pr6	50,0 bc	13,3 cd	88,0 b	37,9 bc
Pr8	68,3 c	18,7 d	92,0 b	47,5 c

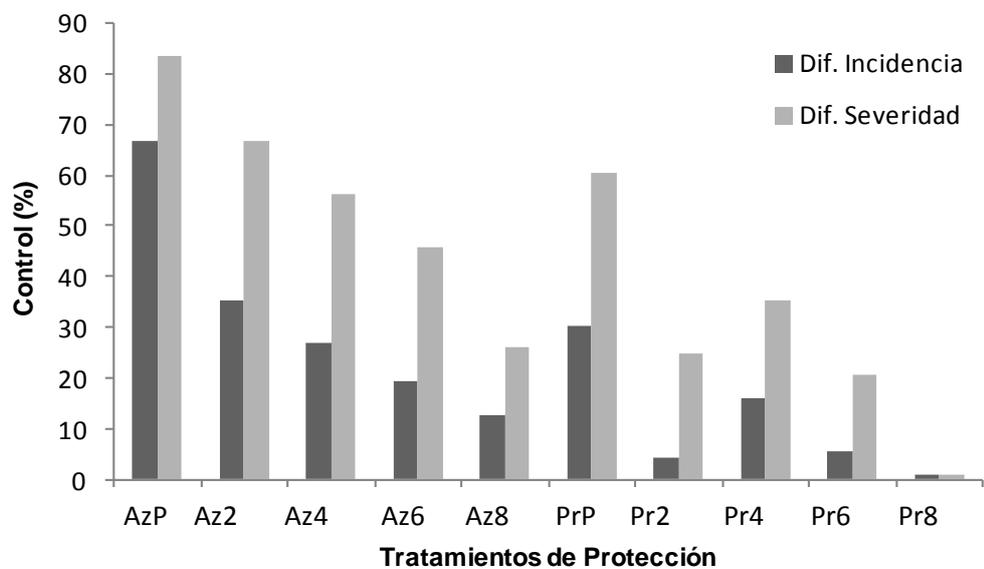


Figura 17: Control (%) medido como diferencia de incidencia o severidad del CBT en madurez fisiológica para los tratamientos en relación al CD.

En relación a las evaluaciones de CBT en madurez fisiológica se observa que sólo el tratamiento AzP tuvo una incidencia significativamente menor que el CD llegando a un control del 67% (Tabla 15, Figura 17). En cambio, al analizar la severidad del CBT se observa que hubo mayor distinción de los tratamientos: aquellos protegidos con Azoxistrobin tuvieron un control significativo tanto el AzP (83 %) como los de aplicación simple en Az2 (67%) y Az4 (56%) mientras que en la protección con Propiconazole no alcanzó una sola aplicación para diferenciarse del CD, siendo el PrP (60%) el único que se diferenció significativamente (Tabla 15, Figura 17).

3.2.4. Relación entre la epidemia de manchas foliares y cancro de la base del tallo.

Con todas las variables epidemiológicas obtenidas del estudio del progreso de MF y aquellas surgidas de las evaluaciones del CBT en floración y madurez fisiológica del cultivo se establecieron análisis de correlación para verificar que variables se relacionaban entre sí (Tabla 16). Se puede observar que las variables de MF que se correlacionaron significativamente fueron: ABC, a , I%Pi y TMI con la incidencia y severidad de CBT tanto en floración como en madurez fisiológica (Tabla 16).

De las cuatro variables de MF significativas, el parámetro " a " junto con la I%Pi de la curva fueron los que mayor coeficiente de correlación obtuvieron. Considerando que este último se obtiene a partir del primero (aún explicando cosas distintas de la misma curva de progreso) y que crece en forma proporcional, es lógico que tengan los mismos valores tanto de significancia como de correlación. Por lo tanto sería pertinente seleccionar el parámetro " a " y avanzar en el análisis para la predicción del CBT desde la epidemia de MF. También es de esperar, que siendo el parámetro b similar para todos los tratamientos, el ABC de la curva de progreso estaría altamente correlacionada con su asíntota (parámetro a).

Tabla 17: Tabla de correlación entre parámetros que caracterizan la epidemia de MF y el CBT.

		Cancro en la base del tallo			
		Floración		Madurez Fisiológica	
		Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Epidemia de Manchas foliares	ABC ¹	0,87*	0,8*	0,79*	0,84*
	a ²	0,89*	0,85*	0,81*	0,87*
	<i>b</i> ³	0,39	0,23	0,39	0,34
	<i>c</i> ⁴	0,46	0,31	0,44	0,42
	I%Pi ⁵	0,89*	0,85*	0,81*	0,87*
	TPi ⁶	-0,56	-0,45	-0,5	-0,53
	TMI ⁷	0,78*	0,67*	0,71*	0,73*
	FL ⁸	-0,43	-0,37	-0,36	-0,41

(1) Área bajo la curva de la epidemia de MF

(2) Parámetro *a* del modelo de Gompertz – relacionado con la máxima incidencia alcanzada.

(3) Parámetro *b* del modelo de Gompertz - relacionado con el inoculo inicial de la epidemia.

(4) Parámetro *c* del modelo de Gompertz - relacionado con la tasa de progreso.

(5) Incidencia (%) en el Punto de inflexión.

(6) Tiempo en el Punto de inflexión.

(7) Tasa máxima de incremento de la incidencia

(8) Fase lag de la curva.

En cuanto a las variables del CBT mejor correlacionadas por *a* fueron: en floración la Incidencia y en madurez fisiológica la severidad (resaltado su coeficiente de Pearson en negritas en la tabla). Considerando que en la madurez fisiológica se expresa el daño final de la enfermedad, este momento podría tener mayor relación con el rendimiento de los granos y mejor complementación con el análisis del control de cada tratamiento. Por esto se prosigue a explicar la variable severidad del CBT en madurez fisiológica a través del parámetro $a_{Gompertz}$ de la curva de progreso de la epidemia de MF. Para ello se establecieron regresiones entre estas dos variables con el fin de entender de qué manera se relacionan la fase inicial de infección de *L. maculans* en otoño con el desarrollo del CBT y el consiguiente daño en primavera. La

regresión lineal que se presenta en la Figura 2 explica la relación entre estas variables ($P < 0,05$).

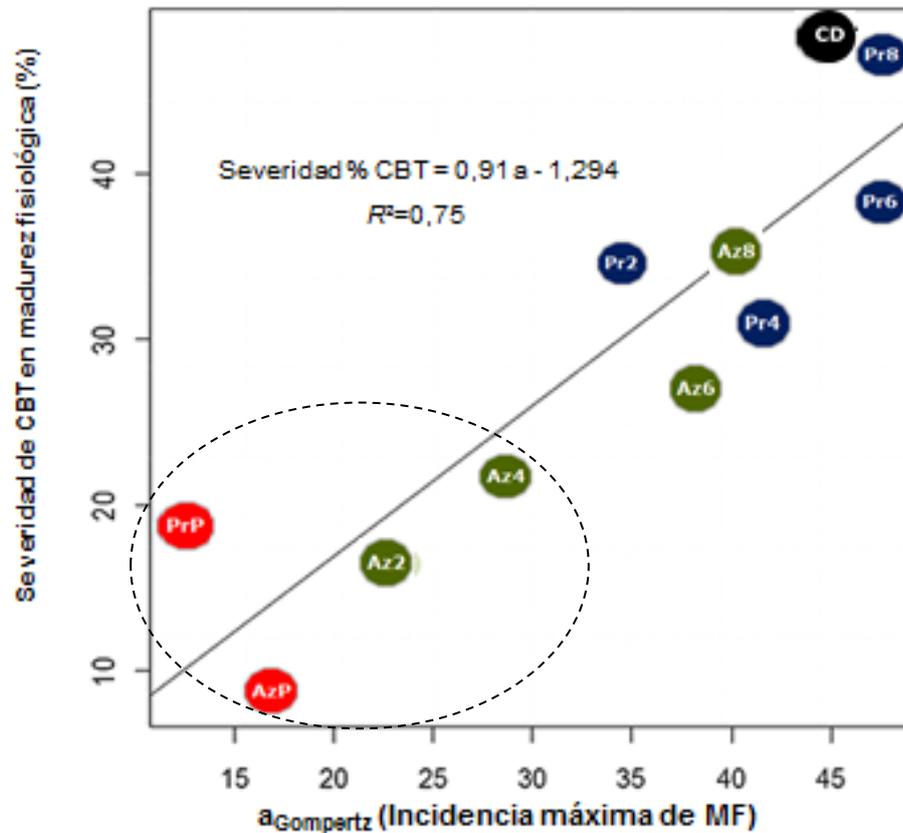


Figura 18: Regresión entre la severidad del CBT en Madurez Fisiológica y la incidencia máxima de MF según modelo de Gompertz (a_{Gompertz}). Cada símbolo corresponde a los valores medios de los tratamientos de protección según se indica en el gráfico. Valores de incidencia máxima de MF dentro del círculo de líneas punteadas indican control de CBT.

Siguiendo con esta relación (parámetro a_{Gompertz} y severidad del CBT en madurez fisiológica) es destacable que los tratamientos que tuvieron control sobre el CBT fueron aquellos que en la epidemia otoñal de MF no superaron al 30% de incidencia (línea punteada vertical en Figura 18).

3.3. Discusión

El año en que se realizó el experimento resultó levemente más cálido que la serie histórica 1970-2009 durante los meses de mayo, junio y julio, meses en que el cultivo se encuentra emergiendo, con sus estados de desarrollo más susceptibles y los rastrojos descargando ascosporas. Debido a que el inóculo en la región podría aumentar año tras año resulta pertinente ir estudiando más detalladamente esta etapa inicial de la enfermedad, ya que en ella no sólo se define el daño consiguiente en el cultivo sino que también es el último momento de intervención para procurar que el patógeno provoque las mínimas pérdidas en la producción. En estas condiciones la epidemia de MF fue relativamente corta: tuvo un crecimiento rápido, llegando en 22 días a valores cercanos al 50% de incidencia. Luego la MF comienza a decrecer (momento en el cual se discontinuó la evaluación de MF), este comportamiento guarda relación con lo presentado en la figura 16 para el CD. Esto puede deberse a que la epidemia se mantenga localizada en estratos bajos del canopeo, mientras el cultivo continúa desplegando hojas nuevas y elongando su tallo al mismo tiempo que va ocurriendo la abscisión de las hojas con las mayores lesiones, provocando una menor incidencia aparente, ya que las plantas que fueron infectadas permanecerán en esa condición hasta el final de su ciclo.

Los mejores controles se observaron en los tratamientos múltiples de protección tanto de Azoxistrobin (AzP) como de Propiconazole (PrP). Azoxistrobin controló las manchas foliares y el CBT con una aplicación simple en 2 o 4 hojas (Az2 y Az4). Propiconazole no demostró ninguna eficiencia cuando fue aplicado una sola vez. Pudiendo sugerir en este caso que una sola aplicación no sería suficiente para un óptimo control de CBT, al igual que el planteo de Le Page y Penaud (1995) afirmando que en Francia son necesarias tres aplicaciones para un buen control de CBT, aunque resulta antieconómico. Si bien este experimento no procuraba definir la dosis óptima o eficiencia de principios activos queda claro que en caso de ser un fungicida con acción preventiva y de alta residualidad como lo es Azoxistrobin, sería más eficiente su uso anticipadamente o bien inmediato al comienzo de la epidemia de MF. Por lo tanto, para utilizar complementariamente a la protección química como técnica de control, resultaría más prudente para una práctica ambientalmente sustentable realizar un seguimiento de la epidemia de MF e intervenir una vez comenzada la misma, sin permitir que su incidencia se incremente en niveles que lleguen a 30% según lo observado en este trabajo. En ese mismo sentido se expresó Steed (2007) quien

sugiere que cuando la incidencia de MF llega a un 10% dentro del periodo 800°Cd desde la siembra, las aplicaciones fraccionadas de Flusilazole + Carbendazim lograron mejor respuestas en el rendimiento con dos aplicaciones de media dosis que con una sola de dosis completa.

El modelo de Gompertz tuvo mejor ajuste para describir el progreso de la epidemia de manchas foliares de otoño medido en incidencia de plantas con al menos una lesión. El parámetro $a_{Gompertz}$ fue la variable calculada del modelo que presentó mejor correlación con el CBT. Esto no coincide con las observaciones de pobres correlaciones entre la incidencia de la epidemia de MF y la severidad del CBT obtenidas por West *et al.* (2000a) quienes explican que puede deberse a que el hongo sea aislado de hojas sin lesiones, subestimándose su evaluación. Resultaría entonces de gran utilidad profundizar las técnicas de evaluación de la epidemia de MF con el fin de explotar todos los recursos matemáticos para su entendimiento más minucioso. Por ejemplo, Powers *et al.* (2010) contrastaron la severidad de las MF o el tiempo térmico con hojas con presencia de lesiones con la severidad del CBT. Ellos encontraron, al igual que en este trabajo, buena correlación entre la severidad de las MF y el CBT en madurez fisiológica, en otras menor severidad de MF con CBT más severo, y en otras mayor severidad de MF y menor CBT.

Los tratamientos de protección con fungicida generaron curvas de progreso de enfermedad con diferentes asíntotas, por lo cual su tasa de progreso no pudo utilizarse por probable subestimación en coincidencia con lo que postulan Neher y Campbell (1992). Resultaría de gran interés realizar las modificaciones necesarias de los datos recolectados para una estimación justa de la tasa de progreso de las mismas y su comparación entre tratamientos.

La severidad del CBT en EF6.7 se pudo describir a través de una función de regresión lineal con la forma

$$Severidad\ CBT_{(EF6.7)} = 0,91\ a_{Gompertz} - 1,29 \quad (R^2 = 0,75)$$

Este modelo puede ser comparado con otros obtenidos anteriormente como el de Gladders & Musa (1980) en Inglaterra donde relacionan incidencia de CBT en floración tardía (EF5.3) y en cosecha (EF6.9) con el nivel máximo de incidencia de MF (x) en otoño en cultivares invernales:

$$\text{Incidencia } CBT_{(EF5.3)} = 0,74 x + 20,5 \quad (R^2 = 0,97)$$

$$\text{Incidencia } CBT_{(EF6.9)} = 0,99 x + 1,6 \quad (R^2 = 0,97)$$

O con el modelo de Garbe (1998) en Alemania:

$$\text{Severidad (Score 1 - 9) } CBT_{(EF6.9)} = 0,13 x + 2,76 \quad (R^2 = 0,69)$$

O también ciertos casos en los que la correlación obtenida fue muy baja, como el de Le Page y Penaud (1995) en Francia con $R^2=0,19$.

Debido a la gran variabilidad de respuestas ante la diversidad de cultivares con resistencias genéticas diferenciales y la necesidad de generar modelos más flexibles aplicables a un rango mayor de situaciones, Sun *et al.*, (2000) en la estación Experimental de Rothamsted, sugieren regresiones múltiples en dos modelos donde describen la relación MF/CBT como:

Modelo 1:

$$\begin{aligned} \text{Incidencia } CBT_{(EF6.9)} &= \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 (x_2 - x_1) && \text{si } x_2 > x_1 \\ &= \beta_0 + \beta_1 x_1 && \text{si } x_2 \leq x_1 \end{aligned}$$

Donde x_1 es incidencia máxima desde siembra a estadio fisiológico (EF) 1.6-1.7 (unos 100 días desde la siembra) y x_2 fue la incidencia máxima entre EF 1.7 - 2.0 (principio de elongación del tallo)

Modelo 2:

$$\text{Incidencia } CBT_{(EF6.9)} = \alpha_0 + \alpha_1 x_3 + \alpha_2 x_4 \quad \text{si } x_2 > x_1$$

Donde x_3 es incidencia máxima desde siembra a EF 3.3-3.5 (pimpollos visibles) y x_4 fue la incidencia máxima entre EF 4.5 - 5.5 (apertura de flores). Al testear ambos modelos durante cuatro ciclos de crecimiento durante la década del '90 con cuatro variedades encontraron mejor ajuste en el modelo 1 ($0,75 \geq R^2 \geq 0,93$) que con el modelo 2 ($0,54 \geq R^2 \geq 0,71$) para las variedades por separado. Y corriendo el modelo para las cuatro variedades combinadas sólo el modelo 1 logró ser ajustado ($R^2 = 0,65$).

4. CONCLUSIONES

Respondiendo al objetivo planteado originalmente de determinar el período de estadios fenológicos de colza en el que infecciones foliares de *L. maculans* en otoño causan cancro en la base del tallo en primavera en Balcarce y de acuerdo a los resultados obtenidos que:

En el ambiente post-infección "Campo"

- ✓ **Gospel** y **H61** tuvieron baja severidad de CBT y no permitieron testar la hipótesis.
- ✓ **Hidromel** y **N8450** alcanzaron mayor severidad de CBT permitiendo establecer relaciones entre esta variable y MF.
- ✓ La variable N° de hojas desplegadas al momento de aparición de primer MF se correlacionó con la severidad del CBT.

En el ambiente post-infección "Invernáculo":

- ✓ Solo **N8450** permitió ajustar la regresión entre el número de hojas desplegadas al momento de detección de primer MF y la severidad del CBT.

En referencia ambos ambientes:

- ✓ Cuando se pudo determinar el período de mayor susceptibilidad en un mismo ambiente ("campo") se observó que la **variedad** afectó el período de susceptibilidad máxima.
- ✓ En N8450 se observó que el **ambiente** postinfección también afectó el período de máxima susceptibilidad.

Con esta información obtenida se postula que la Hipótesis 1:

"El número de hojas desplegadas al momento de detección de manchas foliares por *L. maculans* se relaciona con la severidad del cancro de la base del tallo en Balcarce, Argentina"

NO SE RECHAZA

Este período de mayor vulnerabilidad a infecciones de *L. maculans* observado en la variedad N8450 dio origen a la segunda hipótesis y objetivo del trabajo, el cual consistía en relacionar la epidemia de manchas foliares dentro del período de susceptibilidad con el cancro de la base del tallo en primavera.

- ✓ Gompertz es el modelo que mejor ajusta las curvas de progreso de MF.
- ✓ La mejor correlación entre la MF y el CBT se obtuvo entre el parámetro $a_{\text{Gompertz MF}}$ (incidencia máxima) y la incidencia en floración ($r=0,89$) o la severidad en madurez fisiológica ($r=0,87$) del CBT.

Con esta evidencia se postula que la Hipótesis 2:

“Para la variedad N8450, dentro del periodo de mayor susceptibilidad anteriormente detectado, en Balcarce, componentes epidemiológicos de manchas foliares por *L. maculans*, pueden explicar el daño del cancro en la base del tallo en primavera”

NO SE RECHAZA

Del trabajo se desprende que el control del CBT en las condiciones de Balcarce durante los años de estudio fue factibles a través del uso de variedades resistentes (Experimento 2010) o, en caso de uso de variedades susceptibles, por medio de aplicación de fungicidas en momentos oportunos con respecto a la epidemia de manchas foliares (Az2 y Az4, Experimento 2011).

Perspectivas

Para afianzar los métodos de control hoy en día disponibles (uso de variedades resistentes o aplicación de fungicidas) debería monitorearse anualmente la efectividad de los genes de resistencia de las variedades comerciales, así como también, de los principios activos de los fungicidas (de haber registros de los mismos para el cultivo).

Para incorporar otro método de control de alta relevancia, hoy en día no disponible, como el principio de “evasión”, nuevos estudios deberían realizarse. Para ello debería detectarse mediante trampas cazaesporas el momento inicial de liberación de ascosporas de *L. maculans* al ambiente por parte de los rastrojos infectados. Conociendo este momento, podría desfasarse el período de mayor vulnerabilidad del cultivo a infecciones de ascosporas. De este modo, al aterrizar las mismas sobre el cultivo, ocurrirían infecciones, pero probablemente solo provocarían canchales en partes superiores del tallo, y no en la base, sin comprometer la producción.

Otro aspecto de relevancia sería el estudio del impacto de la enfermedad sobre el rendimiento en diferentes ambientes y años. De esta manera podría predecirse los niveles de tolerancia de parte del cultivo a la enfermedad y estimarse los umbrales de daño. Estos aportarían una herramienta más en la toma de decisiones para la aplicación de medidas de control.

5. BIBLIOGRAFÍA

- ANSAN-MELAYAH, D.; BALESSENT, M.H. ; DELOURME, R. ; PILET, M.L. ; TANGUY, X. ; RENARD, M. ; ROUXEL, T. 1998. Genes for race-specific resistance against blackleg disease in *Brassica napus* L. *Plant Breeding* 117, 373-378.
- AUBERTOT, J.N. ; SOHBI, Y. ; BRUN, H. ; PENAUD, A. ; NUTTER, F.W. 2006. Phomadidacte: a computer-aided training program for the severity assessment of phoma stem canker of oilseed rape. *Bulletin OILB/SROP* 29, 247-254.
- Canola Association of Australia (CAA). 2012. Blackleg Resistance Ratings [En línea] <www.canolaaustralia.com> [Consulta: octubre de 2012].
- BADAWY, H. M. A.1992. Temperature and Ageing of Host Tissue Affect the Interactions between Different Oilseed Rape Cultivars and Pathotype Groups of *Leptosphaeria maculans*. *Journal of Phytopathology* 34, 255–263,
- BALODIS, O. ; GAILE, Z. ; BANKINA, B. ; VITOLA, R. 2007. Fungicide application effect on yield and quality formation of winter oil-seed rape (*Brassica napus* L.). Proceedings of the 13th International Scientific Conference "Research for Rural Development 2007", Jelgava, Latvia, 16-18 May 2007. Latvia University of Agriculture, Faculty of Agriculture, Jelgava, pp. 14-21.
- BARBETTI, M.J. 1975. Effects of temperature on development and progression in rape of crown canker caused by *Leptosphaeria maculans*. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 15, 705-708.
- BIDDULPH, J.E. ; FITT, B.D.L. ; LEECH, P.K. ; WELHAM, S.J. ; GLADDERS, P. 1999. Effects of temperature and wetness duration on infection of oilseed rape leaves by ascospores of *Leptosphaeria maculans* (stem canker). *European Journal of Plant Pathology* 105, 769-781.
- BLACKLEG RESISTANCE RATINGS, 2012. [En línea] <http://www.australianoilseeds.com/_data/assets/pdf_file/0004/8770/2012_Australian_National_Blackleg_Ratings.pdf> [Consulta: octubre de 2012]
- BOEREMA, G.H. 2004. Phoma identification manual : differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI, Wallingford [etc.].
- BRUN, H.; CHÈVRE, A.M.; FITT, B.D.L.; POWERS, S.; BESNARD, A.L.; ERMEL, M.; HUTEAU, V.; MARQUER, B.; EBER, F.; RENARD, M.; ANDRIVON, D. 2010.

- Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytologist* 185, 285-299.
- BURZACO J.P.; GARCÍA, F. 2009. Mejores prácticas de manejo para la nutrición del cultivo de Colza-Canola. Facultad de Agronomía, UBA, Argentina. [En línea] <<http://www.ipni.net>> [Consulta: octubre de 2012].
- DELOURME, R.; CHEVRE, A.M.; BRUN, H.; ROUXEL, T.; BALESDENT, M.H.; DIAS, J.S.; SALISBURY, P.; RENARD, M.; RIMMER, S.R. 2006. Major gene and polygenic resistance to *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape (*Brassica napus*). (Special Issue: Sustainable strategies for managing *Brassica napus* (oilseed rape) resistance to *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker).). *European Journal of Plant Pathology* 114, 41-52.
- ECKERT, M.R.; ROSSALL, S.; SELLEY, A.; FITT, B.D.L. 2010. Effects of fungicides on in vitro spore germination and mycelial growth of the phytopathogens *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* (phoma stem canker of oilseed rape). *Pest Management Science* 66, 396-405.
- FAO, 2012. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA [En línea] <<http://faostat.fao.org/>> [Consulta: octubre de 2012].
- FERNANDO, W.G.D.; CHEN, Y.; GHANBARNIA, K.; SURINDER KUMAR GUPTA, M.D.A.J.C.K. 2007. Breeding for Blackleg Resistance: The Biology and Epidemiology. *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp. 271-311.
- FITT, B.D.L.; BRUN, H.; BARBETTI, M.J.; RIMMER, S.R. 2006. World-wide importance of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*). (Special Issue: Sustainable strategies for managing *Brassica napus* (oilseed rape) resistance to *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker). *European Journal of Plant Pathology* 114, 3-15.
- Garbe, V. 1998. Control of canker (Phoma lingam) in winter oilseed rape and possibilities of integrated pest management. *International Organization for Biological Control Bulletin*. 21:105-110.
- GHANBARNIA, K.; FERNANDO, W.G.D.; CROW, G.; 2011. Comparison of disease severity and incidence at different growth stages of naturally infected canola plants under field conditions by pycnidiospores of Phoma lingam as a main source of inoculum. *Canadian Journal of Plant Pathology* 33, 355-363.

- GLADDERS, P.; MUSA, T. M. 1980. Observations on the epidemiology of *Leptosphaeria maculans* stem canker in winter oilseed rape. *Plant Pathology* 29, 28–37.
- GLADDERS, P.; JEWELL, K.; MCDONOUGH, S. 2004. The contribution of cultivar resistance and fungicides to disease control in winter oilseed rape in England. *Bulletin OILB/SROP* 27, 51-56.
- GLADDERS, P.; BRUN, H.; PINOCHET, X.; JEDRYCZKA, M.; HAPPSTADIUS, I.; EVANS, N. 2006. Studies on the contribution of cultivar resistance to the management of stem canker (*Leptosphaeria maculans*) in Europe. *Bulletin OILB/SROP* 29, 293-300.
- GLADDERS, P.; OXLEY, S.J.P.; DYER, C.; RITCHIE, F.; SMITH, J.A.; ROQUES, S.; MOORE, A.; MAULDEN, K.; TORRANCE, J. 2009. New fungicides for oilseed rape: defining dose-response activity. HGCA Project Report. Home Grown Cereals Authority, London, p. 103.
- HALL, R. 1992. Epidemiology of blackleg of oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Pathology* 14, 46-55.
- HALL, R.; PETERS, R.D.; ASSABGUI, R.A. 1993. Occurrence and impact of blackleg on oilseed rape in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology* 15, 305-313.
- HAMMOND, K.E.; LEWIS, B.G. 1986. The timing and sequence of events leading to stem canker disease in populations of *Brassica napus* var. *oleifera* in the field. *Plant Pathology* 35, 551-564.
- HAMMOND, K.E.; LEWIS, B.G. 1987. The establishment of systemic infection in leaves of oilseed rape by *Leptosphaeria maculans*. *Plant Pathology* 36, 135-147.
- HAMMOND, K.E.; LEWIS, B.G.; MUSA, T.M. 1985. A systemic pathway in the infection of oilseed rape plants by *Leptosphaeria maculans*. *Plant Pathology* 34, 557-565.
- HAYDEN, H.; HOWLETT, B. 2005. Genetic structure of a population of the fungus *Leptosphaeria maculans* in a disease nursery of *Brassica napus* in Australia. *Current Genetics* 48, 142-149.
- HGCA, 2012. Components of resistance to diseases in winter oilseed. Cereals and oilseeds division of the Agriculture and Horticulture Development Board (AHDB) [En línea] <<http://www.hgca.com>> [Consulta: octubre de 2012].

- HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station.
- HUANG, Y.J., PIRIE, E.J., EVANS, N., DELOURME, R., KING, G.J., FITT, B.D.L., 2009. Quantitative resistance to symptomless growth of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) in *Brassica napus* (oilseed rape). Plant Pathology 58, 314-323.
- INRA, 2010. Quantipest. [En línea] < <http://www.endure-network.eu> > [Consulta: noviembre de 2010].
- INTA, 2011. RED NACIONAL DE EVALUACIÓN DE CULTIVARES DE COLZA. [En línea] < <http://www.inta.gob.ar> > [Consulta: noviembre de 2012].
- JINDRICOVA, B., FODOR, J., SINDELAROVA, M., BURKETOVA, L., VALENTOVA, O., 2011. Role of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the interaction between a hemibiotrophic fungal pathogen, *Leptosphaeria maculans*, and oilseed rape. Environmental and Experimental Botany 72, 149-156.
- KACZMAREK, J., MACZYNSKA, A., GLAZEK, M., JEDRYCZKA, M., 2010. Effect of autumn and spring fungicide treatments on infection of oilseed rape by stem canker of brassicas. Progress in Plant Protection 50, 652-655.
- KHANGURA, R.K., BARBETTI, M.J., 2001. Prevalence of blackleg (*Leptosphaeria maculans*) on canola (*Brassica napus*) in Western Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture 41, 71-80.
- KHARBANDA, P.D., TEWARI, J.P., 1996. Integrated management of canola diseases using cultural methods. Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie 18, 168-175.
- LE PAGE, R., PENAUD, A., 1995. Phoma du colza, tout se joue avec le premier pic d'ascospores. Oléoscope, pp. 25-27.
- LIU, S.Y.; LIU, Z.; FITT, B.D.L.; EVANS, N.; FOSTER, S.J.; HUANG, Y.J.; LATUNDE-DADA, A.O.; LUCAS, J.A. 2006. Resistance to *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) in *Brassica napus* (oilseed rape) induced by *L. biglobosa* and chemical defence activators in field and controlled environments. Plant Pathology 55, 401-412.

- MCGEE, D.C.; EMMETT, R.W. 1977. Black leg (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.) of rapeseed in Victoria: crop losses and factors which affect disease severity. Australian Journal of Agricultural Research 28, 47-51.
- MADDEN, L.V. 1980. Quantification of disease progression. Protection Ecology 2, 159-176.
- MADDEN, L.V.; TURECHEK, W.W.; NITA, M. 2002. Evaluation of Generalized Linear Mixed Models for Analyzing Disease Incidence Data Obtained in Designed Experiments. Plant Disease 86, 316-325.
- MARCROFT, S.J.; WRATTEN, N.; PURWANTARA, A.; SALISBURY, P.A.; POTTER, T.D.; BARBETTI, M.J.; KHANGURA, R.; HOWLETT, B.J. 2002. Reaction of a range of *Brassica* species under Australian conditions to the fungus, *Leptosphaeria maculans*, the causal agent of blackleg. Australian Journal of Experimental Agriculture 42, 587-594.
- MARCROFT, S.J.; SOSNOWSKI, M.R.; SCOTT, E.S.; RAMSEY, M.D.; SALISBURY, P.A.; HOWLETT, B.J. 2005. *Brassica napus* plants infected by *Leptosphaeria maculans* after the third to fifth leaf growth stage in south-eastern Australia do not develop blackleg stem canker. European Journal of Plant Pathology 112, 289-292.
- MARCROFT, S.J.; VAN DE WOUW, A.P.; SALISBURY, P.A.; POTTER, T.D.; HOWLETT, B.J. 2012. Effect of rotation of canola (*Brassica napus*) cultivars with different complements of blackleg resistance genes on disease severity. Plant Pathology 61, 934-944.
- NASERI, B.; DAVIDSON, J.A.; SCOTT, E.S. 2008a. Effect of temperature, cultivar and plant tissue on the germination of, and hyphal growth from, ascospores of *Leptosphaeria maculans*. Australasian Plant Pathology 37, 365-372.
- NASERI, B.; DAVIDSON, J.A.; SCOTT, E.S. 2008b. Survival of *Leptosphaeria maculans* and associated mycobiota on oilseed rape stubble buried in soil. Plant Pathology 57, 280-289.
- NEHER, D.A.; CAMPBELL, C.L. 1992. Underestimation of disease progress rates with the logistic, monomolecular, and gompertz models when maximum disease intensity is less than 100 percent. Phytopathology 82, 811-814.

- POISSON, L. 1999. Study of rapeseed susceptibility to primary contamination of *Leptosphaeria maculans* in relation to plant vegetative stage. *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress*, Canberra, Australia.
- POWERS, S.J.; PIRIE, E.J.; LATUNDE-DADA, A.O.; FITT, B.D.L. 2010. Analysis of leaf appearance, leaf death and phoma leaf spot, caused by *Leptosphaeria maculans*, on oilseed rape (*Brassica napus*) cultivars. *Annals of Applied Biology* 157, 55-70.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- ROTHAMSTED R., 2010. [En línea] <http://www.rothamsted.ac.uk/ppi/diseases/sc.html> [Consulta: septiembre de 2012].
- SAGyP, 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Agricultura. Cultivos. Granos. [En línea] <<http://www.sagpya.gov.ar>> [Consulta: octubre de 2012].
- SALAM, M.U.; KHANGURA, R.K.; DIGGLE, A.J.; BARBETTI, M.J. 2003. Blackleg Sporacle: A Model for Predicting Onset of Pseudothecia Maturity and Seasonal Ascospore Showers in Relation to Blackleg of Canola. *Phytopathology* 93, 1073-1081.
- SHOEMAKER, R.A.; BRUN, H. 2001. The teleomorph of the weakly aggressive segregate of *Leptosphaeria maculans*. *Canadian Journal of Botany* 79, 412-419.
- SÖCHTING, H.P.; VERREET, J.A. 2004. Effects of different cultivation systems (soil management, nitrogen fertilization) on the epidemics of fungal diseases in oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *napus*). *Journal of Plant Diseases and Protection*, pp. 1-29.
- SPRAGUE, S.J.; BALESIDENT, M.H.; BRUN, H.; HAYDEN, H.L.; MARCROFT, S.J.; PINOCHET, X.; ROUXEL, T.; HOWLETT, B.J. 2006. Major gene resistance in *Brassica napus* (oilseed rape) is overcome by changes in virulence of populations of *Leptosphaeria maculans* in France and Australia. (Special Issue: Sustainable strategies for managing *Brassica napus* (oilseed rape) resistance to *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker)). *European Journal of Plant Pathology* 114, 33-40.

- SPRAGUE, S.J.; WATT, M.; KIRKEGAARD, J.A.; HOWLETT, B.J. 2007. Pathways of infection of *Brassica napus* roots by *Leptosphaeria maculans*. *New Phytologist* 176, 211-222.
- STEED, J.M.; BAIERL, A.; FITT, B.D.L. 2007. Relating plant and pathogen development to optimise fungicide control of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) on winter oilseed rape (*Brassica napus*). *European Journal of Plant Pathology* 118, 359-373.
- SUN, P.; FITT, B.D.L.; GLADDERS, P.; WELHAM, S.J. 2000. Relationships between phoma leaf spot and development of stem canker (*Leptosphaeria maculans*) on winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Annals of Applied Biology* 137, 113-125.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; MAKEPEACE, R.J. 1984. A code for stages of development in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Aspects of applied biology / Association of Applied Biologists*, 399-419.
- TOSCANO-UNDERWOOD, C.; WEST, J.S.; FITT, B.D.L.; TODD, A.D.; JEDRYCZKA, M. 2001. Development of phoma lesions on oilseed rape leaves inoculated with ascospores of A-group or B-group *Leptosphaeria maculans* (stem canker) at different temperatures and wetness durations. *Plant Pathology* 50, 28-41.
- TRAVADON, R.; BOUSSET, L.; SAINT-JEAN, S.; BRUN, H.; SACHE, I. 2007. Splash dispersal of *Leptosphaeria maculans* pycnidiospores and the spread of blackleg on oilseed rape. *Plant Pathology* 56, 595-603.
- WEST, J.S.; BIDDULPH, J.E.; FITT, B.D.L.; GLADDERS, P. 1999. Epidemiology of *Leptosphaeria maculans* in relation to forecasting stem canker severity on winter oilseed rape in the UK. *Annals of Applied Biology* 135, 535-546.
- WEST, J.S.; EVANS, N.; LIU, S.; HU, B.; PENG, L. 2000. *Leptosphaeria maculans* causing stem canker of oilseed rape in China. *Plant Pathology* 49, 800.
- WEST, J.S.; KHARBANDA, P.D.; BARBETTI, M.J.; FITT, B.D.L. 2001. Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. *Plant Pathology* 50, 10-27.
- WEST, J.S.; FITT, B.D.L.; LEECH, P.K.; BIDDULPH, J.E.; HUANG, Y.J.; BALESSENT, M.H. 2002a. Effects of timing of *Leptosphaeria maculans* ascospore release and fungicide regime on phoma leaf spot and phoma stem canker development on

winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Plant Pathology* 51, 454-463.

WEST, J.S.; HUANG, Y.J.; STEED, J.M.; LEECH, P.K.; FITT, B.D.L.; GLADDERS, P. 2002b. New perspectives on the epidemiology and management of phoma stem canker of winter oilseed rape in England. The BCPC Conference: Pests and diseases, Volumes 1 and 2. Proceedings of an international conference held at the Brighton Hilton Metropole Hotel, Brighton, UK, 18-21 November 2002. British Crop Protection Council, Farnham, pp. 563-568.

WILLIAMS, FITT, B.D.L. 1999. Differentiating A and B groups of *Leptosphaeria maculans*, causal agent of stem canker (blackleg) of oilseed rape. *Plant Pathology* 48, 161-175.

WINSOR, C.P., 1932. The Gompertz Curve as a Growth Curve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 18, 1-8.

ZHOU, Y.; FITT, B.D.L.; WELHAM, S.J.; EVANS, N.; GLADDERS, P. 2000. Effects of stem canker (*Leptosphaeria maculans*) and light leaf spot (*Pyrenopeziza brassicae*) on yield of winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Plant Pathology* 49, 487-497.

6. ANEXO

Estados de desarrollo en colza - Escala de Sylvester – Bradley y Makepeace (1984)

Estado	Código
0	Germinación y Emergencia 0.2 Semilla embebida 0.4 Emergencia de la radícula 0.6 Hipócotilo extendido 0.8 Emergencia de cotiledones
1	Producción de hojas 1.00 Ambos cotiledones expandidos 1.01 Primera hoja verdadera expandida 1.02 Segunda hoja verdadera expandida 1.03 Tercera hoja verdadera expandida 1.04 Cuarta hoja verdadera expandida 1.05 Quinta hoja verdadera expandida 1.n
2	Alargamiento del tallo 2.00 No hay entrenudos visibles (roseta) 2.01 Un entrenudo visible 2.02 Dos entrenudos visibles 2.03 Tres entrenudos visibles 2.n
3	Elongación vara floral 3.1 Racimo floral visible en el centro de la roseta encerrado por hojas 3.3 Racimo floral visible por encima del nivel de la roseta pimpollos verdes 3.5 Pimpollos florales por encima de las hojas 3.6 Primeros tallos de las flores extendidos 3.7 Primeros pimpollos florales amarillos 3.9 Más de la mitad de los pimpollos florales en racimos amarillos
4	Floración 4.1 Primera flor abierta 4.2 20 % de los pimpollos de los racimos florecidos 4.3 30 % de los pimpollos de los racimos florecidos 4.4 40 % de los pimpollos de los racimos florecidos 4.5 50 % de los pimpollos de los racimos florecidos 4.9 Todos los pimpollos de los racimos florecidos
5	Desarrollo de silicuas 5.1 Silicuas de la porción inferior del tallo de 2 cm. de largo 5.2 20 % de las silicuas de por lo menos 2 cm. de largo 5.3 30 % de las silicuas de por lo menos 2 cm. de largo 5.4 40 % de las silicuas de por lo menos 2 cm. de largo 5.5 50 % de las silicuas de por lo menos 2 cm. de largo 5.9 Todas las silicuas de mas de 2 cm. de largo
6	Desarrollo de Semillas 6.1 Presencia de semillas 6.2 Muchas semillas translucidas de tamaño completo 6.3 Muchas semillas verdes 6.4 Muchas semillas verdes con moteado marrón 6.5 Muchas semillas marrones 6.6 Muchas semillas marrón oscuro 6.7 Muchas semillas negras blandas 6.8 Muchas semillas negras duras 6.9 Todas las semillas negras y duras

Las observaciones en el estado de desarrollo de semilla se realizan en el tercio bajo del tallo principal