

# Semana 4

## Medicion del hospedero, ambiente y patógeno

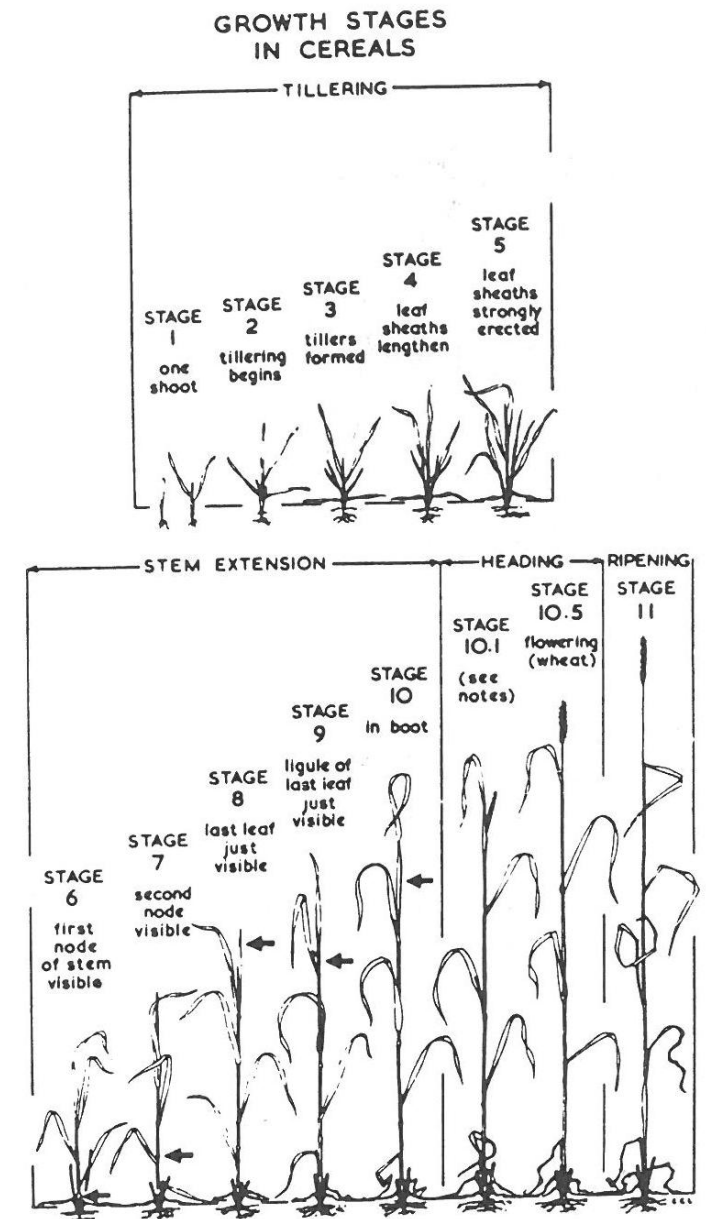
SP6350 Manejo de Enfermedades

Ciclo I-2025

Dr. Mauricio Serrano

# Medicion del hospedero

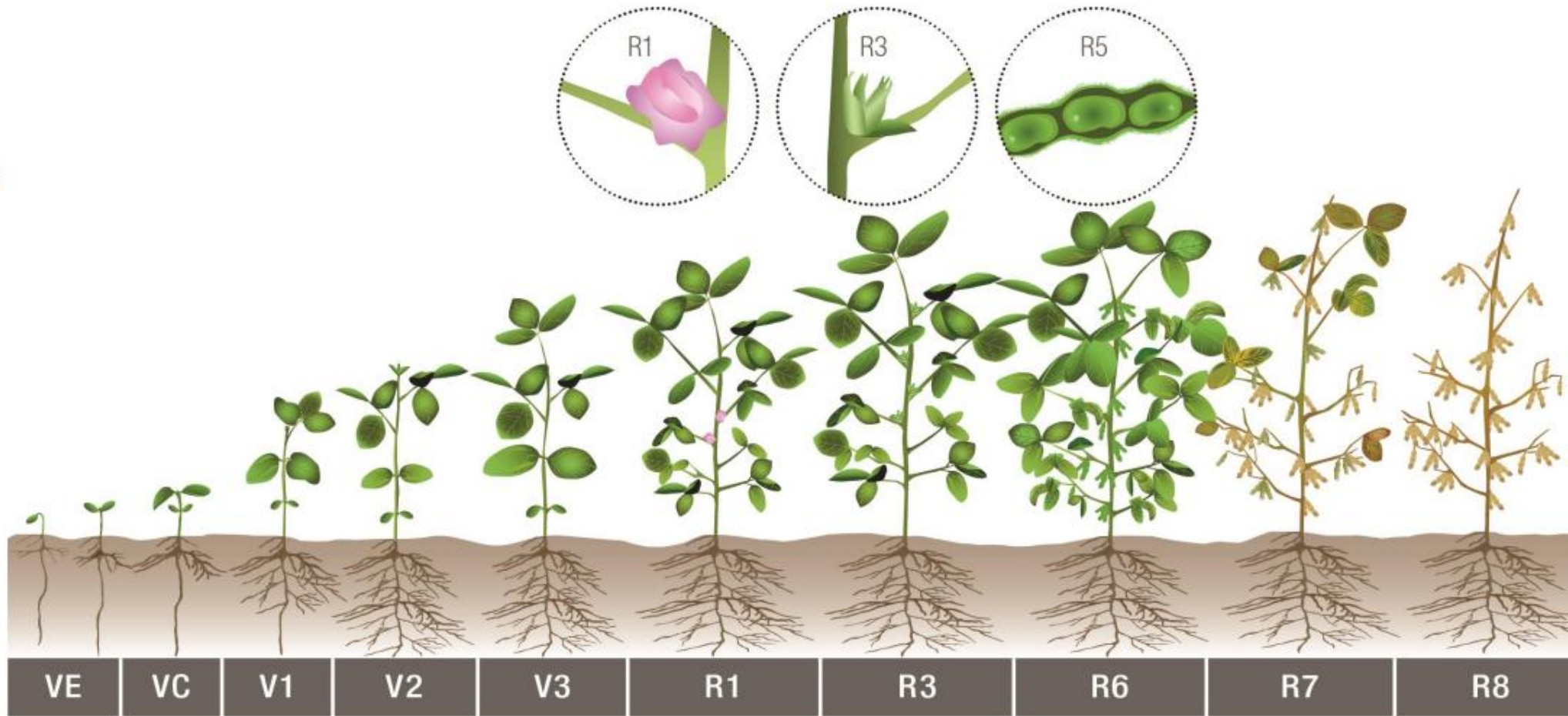
- Es nuestro objeto de estudio sobre el cual se genera la epidemia
- Consideremos:
  - que la epidemia puede ocurrir en un estado fenológico específico
    - Fenología: Disciplina que estudia las relaciones entre el ambiente y eventos biológicos **periodicos** tales como los estados de desarrollo (crecimiento).

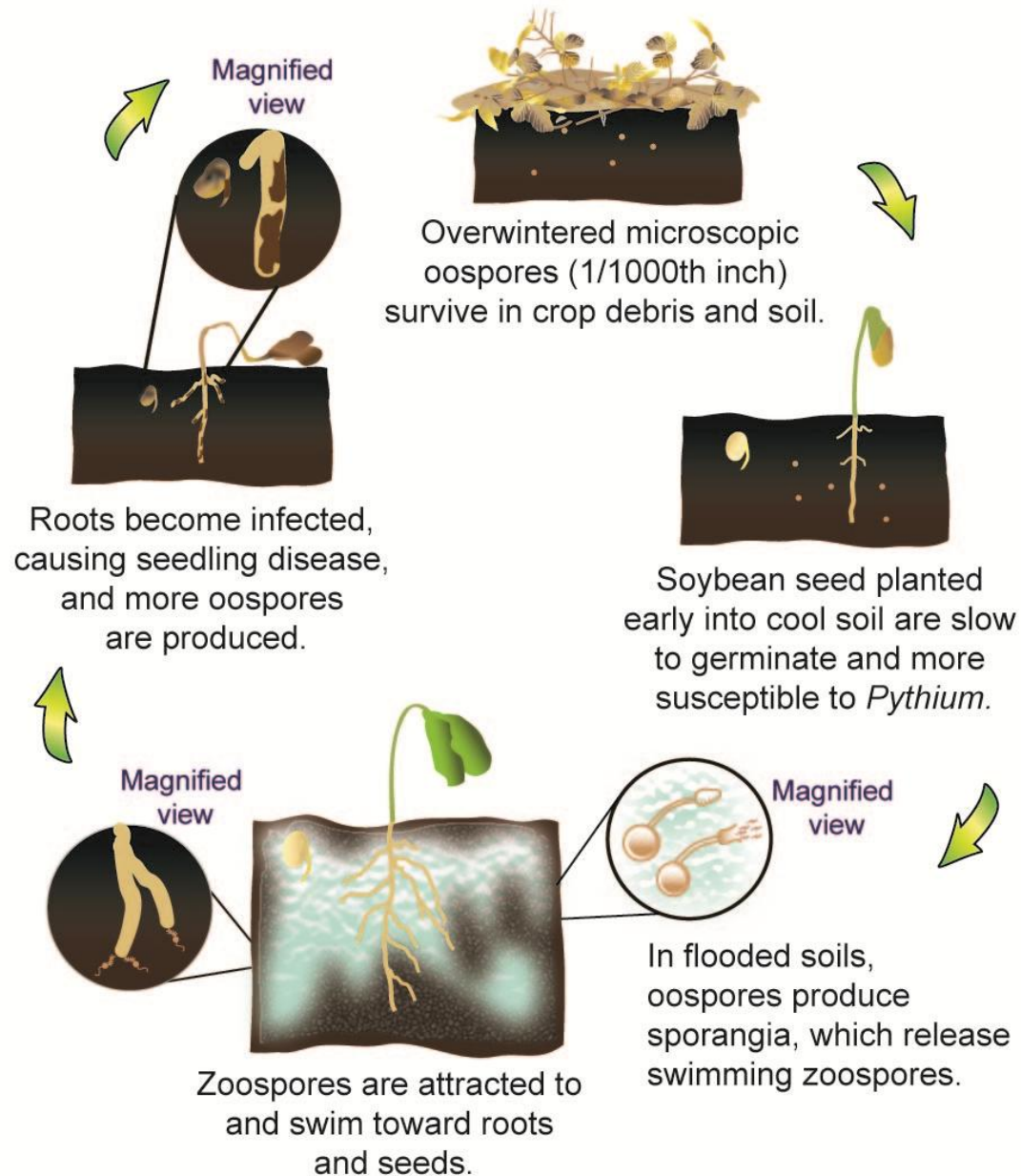


(a)

**Figure 3.1.** Standard diagrams for assessing growth stages of (a) cereals (wheat, barley, oats, and rye) based on the Feekes scale (see Table 3.1) (from Large, 1954; used with permission), and (b) growth stages of corn or maize (USDA Tech. Bull. 976 and Honway, 1966; after P. T. Walker).

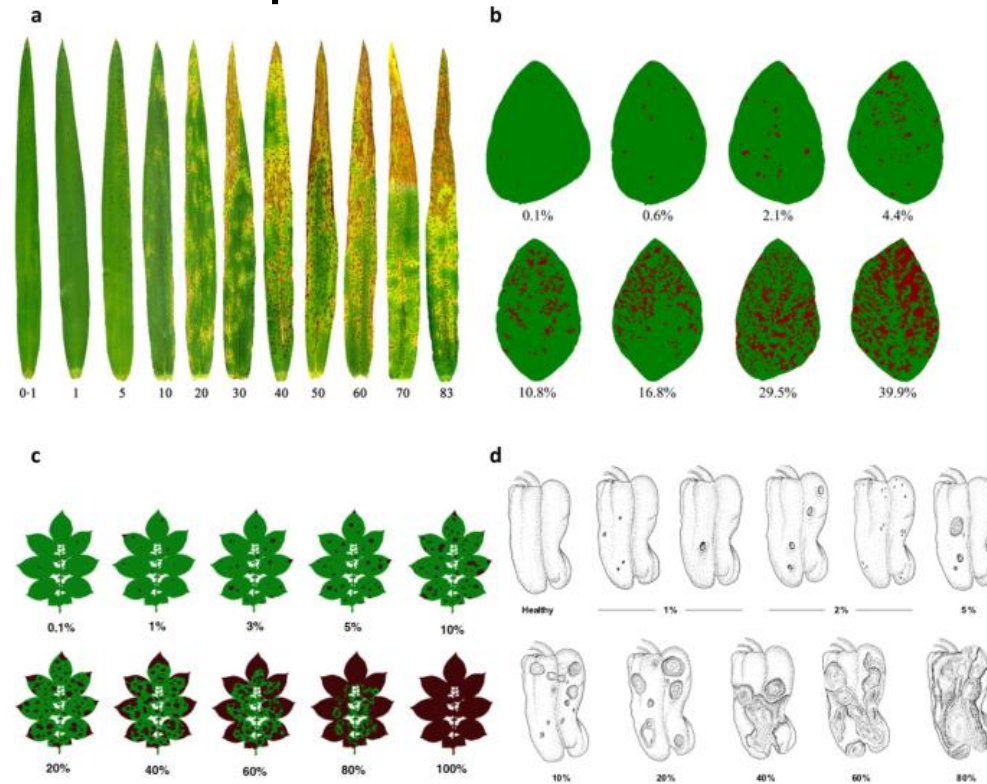
- Estados de desarrollo de la soya



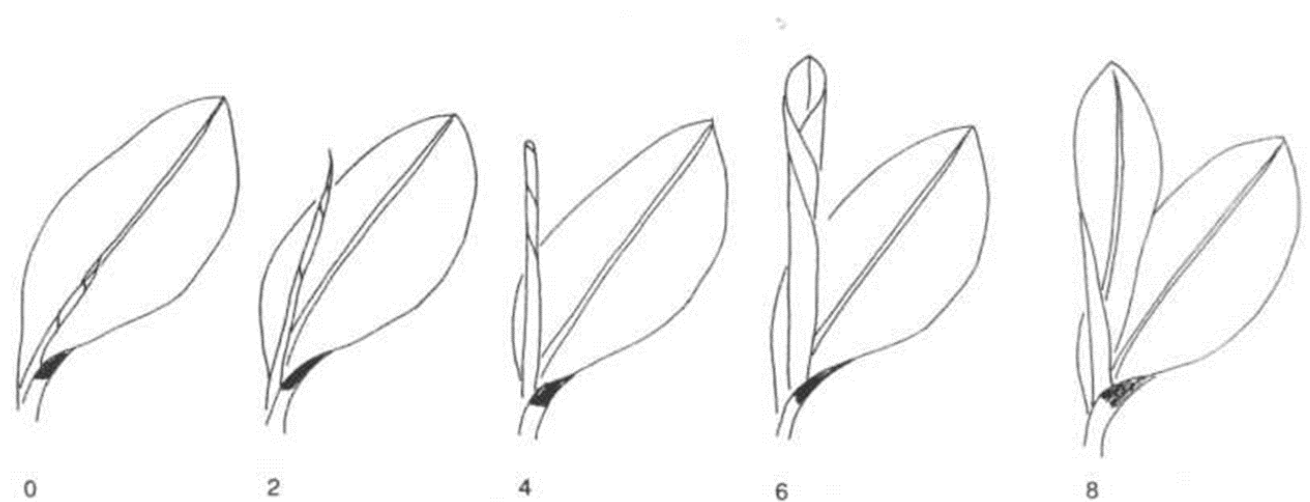
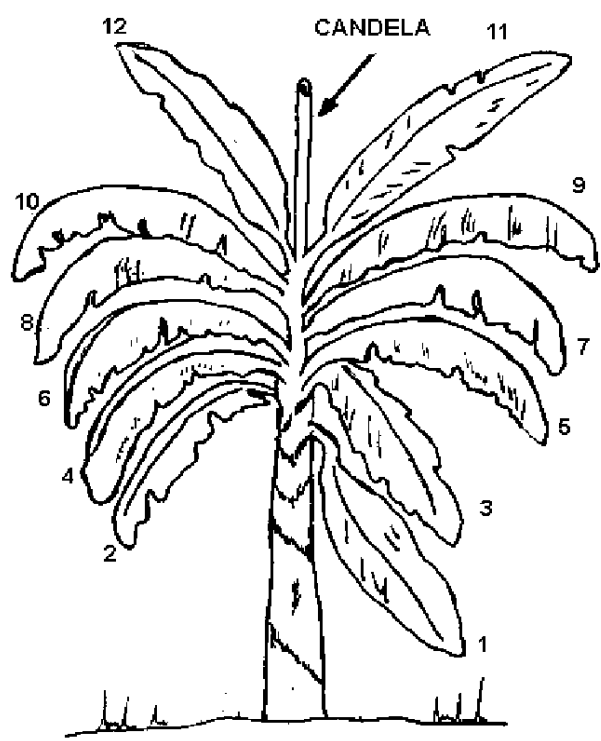


- En que etapas fenológicas ocurre el mal de talluelo causado por *Pythium* spp. en soya?

- En una medición de severidad el área sana puede aumentar por crecimiento del hospedero

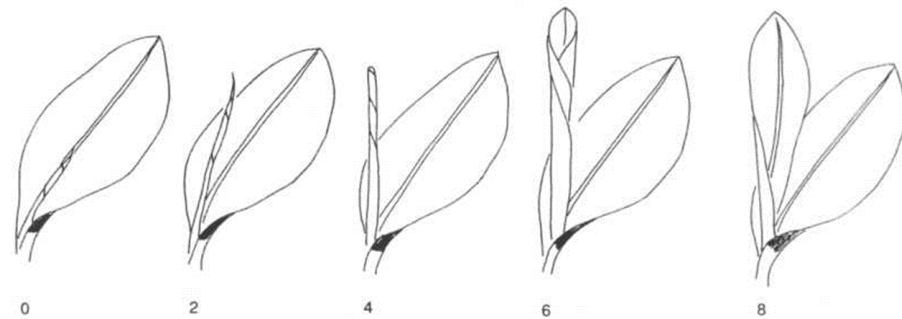
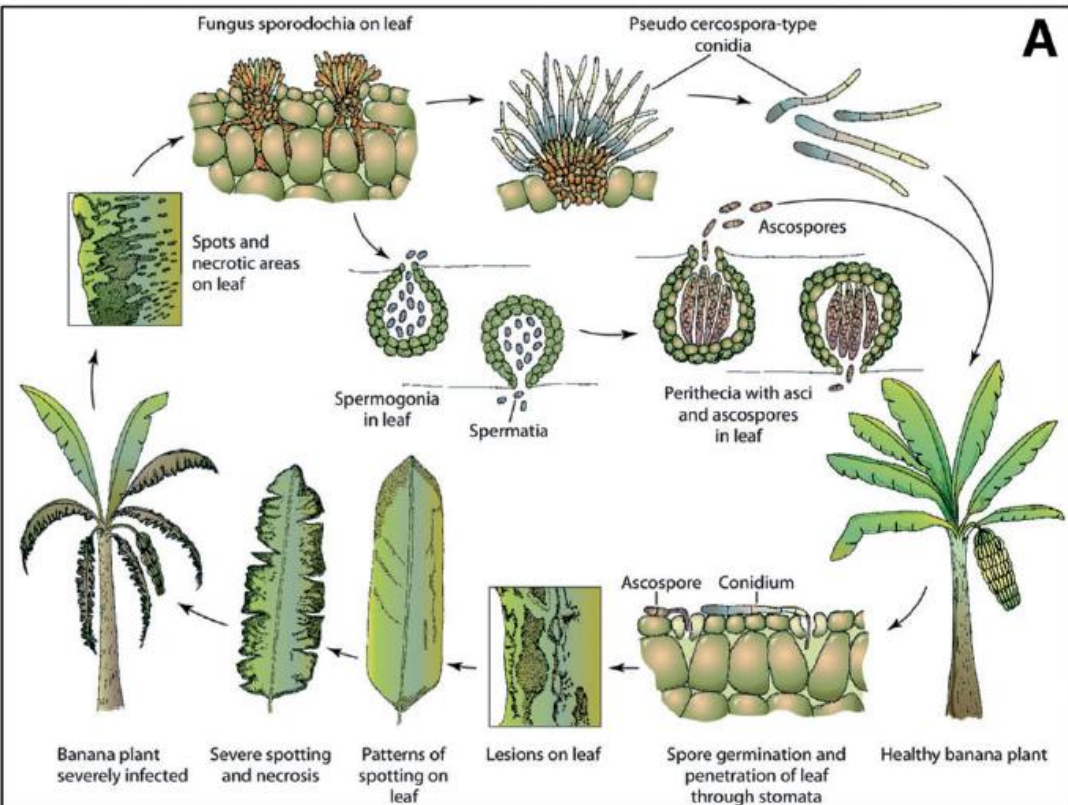


- El crecimiento del hospedero expone tejido nuevo:
  - Ejemplo: emisión foliar en banano





# Sigatoka negra en Banano causada por *Pseudocercospora fijiensis*



Churchil, 2011

Periodo de incubación: 10 a 18 días (Romero, 1997)

- Aplicaciones de Fungicidas Protectantes cada 3 a 7 días (según emisión foliar)



# Area Foliar

- Métodos electrónicos (Análisis de imágenes)
  - Fotografías, scanners, etc
- Mediciones indirectas relacionadas (
- Mediciones espectrales con radiómetros



For winter wheat, Aase (1978) found a highly significant correlation ( $r = .975$ ) between leaf area and leaf dry matter for five cultivars such that

$$LA = -28.54 + 201.90x \quad (3.1)$$

where LA is leaf area in square centimeters and  $x$  is leaf dry matter in grams. Similarly for winter barley, Ramos et al. (1983) found a correlation of  $r = .957$  between leaf area and leaf dry matter (obtained by oven drying) for 2272 plants from six cultivars where

$$LA = -6.58 + 244.86x \quad (3.2)$$

with LA and  $x$  defined as in eq. 3.1. Analogous relationships have been calculated for cotton (Ashley et al., 1965; Rhoads and Bloodworth, 1964), potato (Zrust et al., 1974), and soybean (Wiersma and Bailey, 1975).

Because area-weight relationships may vary with location and cultivar, equations should be developed for specific sets of circumstances. As with the electronic techniques, gravimetric methods do not provide a direct measure of defoliation.

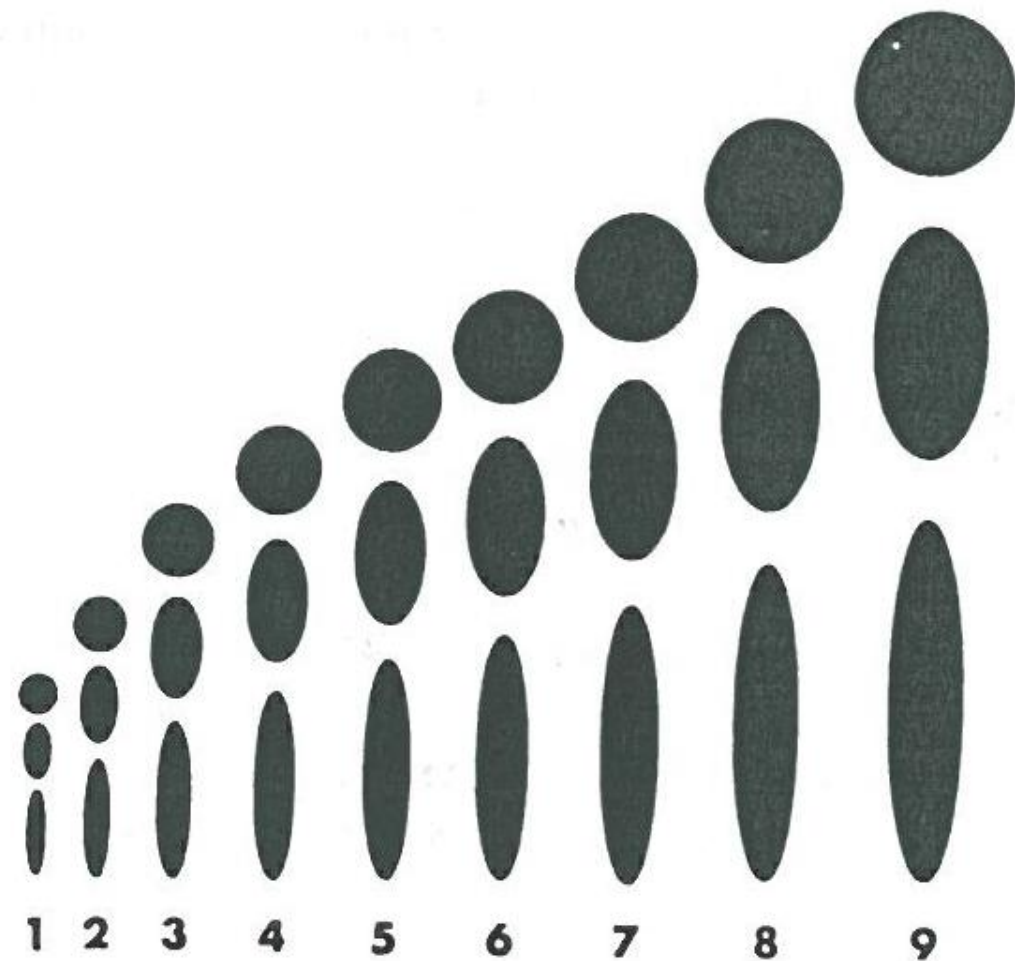
Another related-measures method relates leaf, root, or plant volume to the corresponding area measure. In this method, the plant or plant parts to be measured are introduced into a calibrated cylinder filled with water. The water that is spilled out of the cylinder is a measure of the volume of the object. For measuring roots, volume alone may be a sufficient estimator of plant size. If desired, a regression equation also can be developed to relate area of host tissue to the volume obtained.

If leaf geometry is nearly constant for a range of leaf sizes, then leaf area could be derived from measures of length and maximum leaf width. With soybean leaves, Jensen et al. (1977) found with combined results of nine cultivars that

$$A = 0.157 + 0.0182X \quad (3.3)$$

where  $A$  is area of trifoliolate leaf ( $\text{cm}^2$ ) and  $X$  is the length (mm) times width (mm) of the central leaflet. Hatfield et al. (1976) also were able to relate area

- Medición indirecta utilizando el peso seco de la hoja mediante regresión lineal con  $r = 0.957$
- Se puede usar volumen desplazado en un recipiente con agua.
- Se mide solo el tamaño de un foliolo para estimar el área foliar



**Figure 3.4.** Leaf area assessment aid for alfalfa. Circles and ellipses were drawn using microcomputer graphics software to correspond to photocopies of alfalfa leaflets. If a leaflet corresponds approximately to the size and shape of a diagram, the total area of the trifoliate leaf is given by 1 = 0.50, 2 = 1.00, 3 = 2.00, 4 = 3.00, 5 = 4.00, 6 = 4.00, 7 = 6.00, 8 = 8.00, and 9 = 10.00 cm<sup>2</sup> (not to scale) (from Duthie, 1989; used with permission).

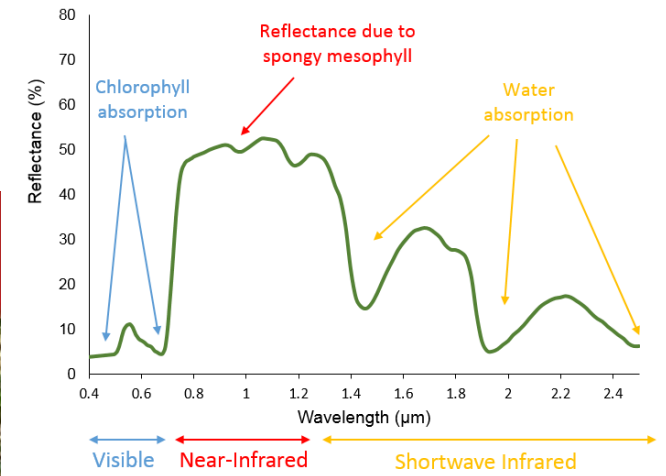
## Mediciones espectrales con radiómetros



Mohsin taking radiometer readings at Hinds farm



Sudden Death Syndrome early symptoms in a farmer's field



Uso de firma espectral para medición de SDS causada por *Fusarium virguliforme* en soya, Ames, Iowa. (Medición de reflectancia a 460, 510 y 710nm)





© 2008 NC State University

Late leaf spot of  
peanut  
(*Phaeoisariopsis  
personata*)

Medición de reflectancia a 800 nm

Nutter et al 1990

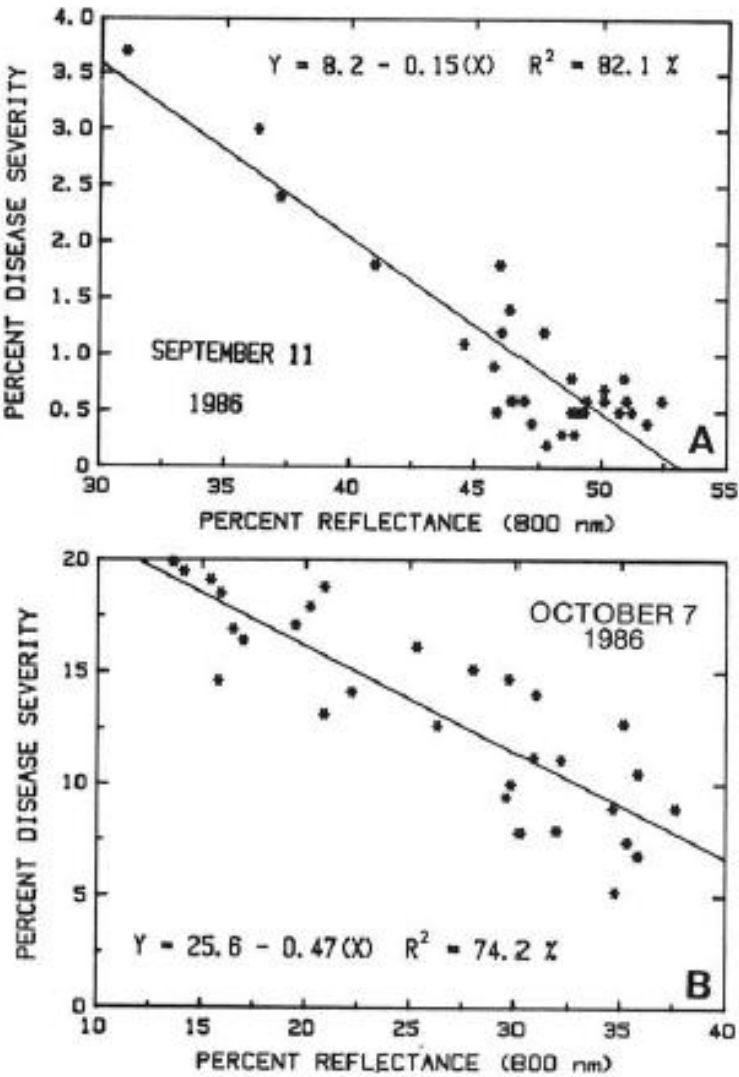


Fig. 3. Relationship between visual estimates of percent disease caused by late leaf spot and percent reflectance of sunlight recorded on 11 September (A) and 7 October (B), from peanut canopies treated with different fungicides in 1986 at Plains, GA. Data points are the means of four replications.

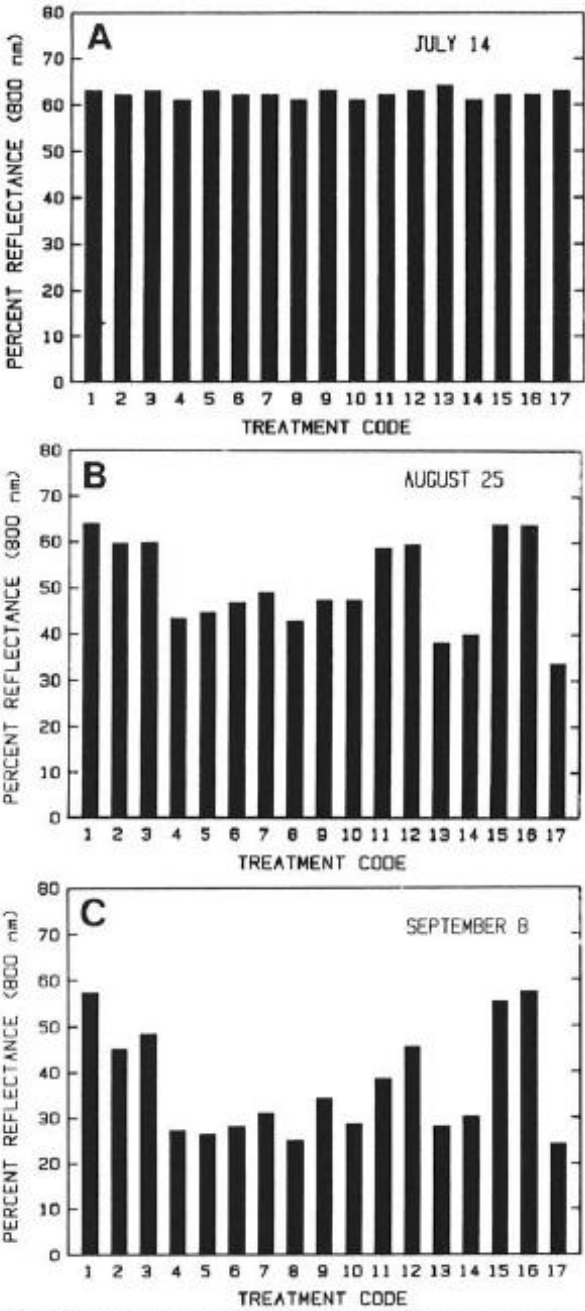


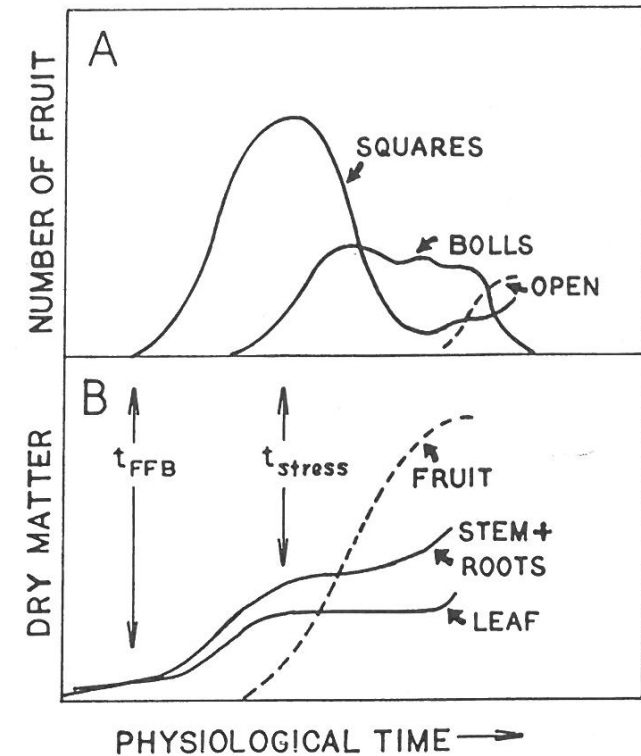
Fig. 2. Percent reflectance of sunlight (800 nm) from peanut canopies treated with different fungicides to control late leaf spot on three dates in 1987. The fungicide code corresponds to the treatment numbers used in Table 4.

# Escala de tiempo

- Días del año
- Grados día
  - Unidades acumuladas por encima de una temperatura base.

$$DD = \sum (\bar{T} - T_{base})$$

- Acumulación de materia seca



**Figure 3.5.** Pattern of (A) fruit (squares, bolls, and open bolls) and (B) dry matter accumulation in cotton plants relative to physiological time. The time of the first fruiting branch ( $t_{FFB}$ ) and the time of crop carbohydrate stress ( $t_{stress}$ ) are indicated (from Gutierrez et al., 1983; used with permission).



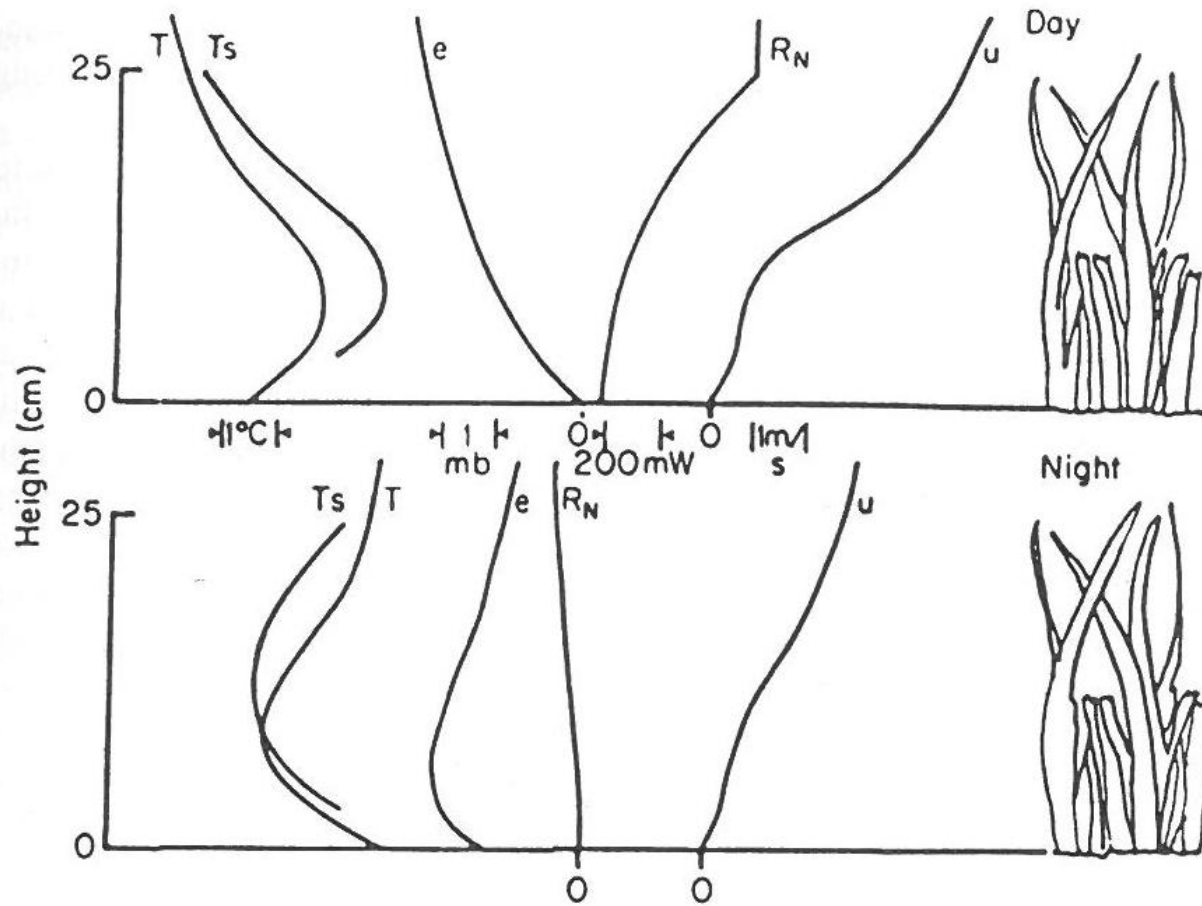
# Medición del ambiente

- **Clima (Climate):** resumen de las condiciones atmosféricas típicas de un sitio específico.
- **Clima (weather):** condiciones atmosféricas que prevalecen en un sitio y tiempo específico.
- **Microclima:** rango de 1mm a 300m, a menudo se refiere a condiciones del dosel.
- Temperatura, Humedad y viento son las variables que a menudo interesan más a los epidemiólogos



Ejemplo: *Sclerotium rolfsii*. Sus estructuras de sobrevivencia no soportan el invierno en el norte de Estados Unidos.

# Consideraciones



**Figure 4.1.** Idealized day and night vertical gradients of selected environmental variables in the canopy of a 25-cm tall grass crop for air temperature ( $T$ ), leaf surface temperature ( $T_s$ ), vapor pressure ( $e$ ), radiation ( $R_N$ ), and wind speed ( $u$ ) (adapted from Burrage, 1978).

- Variación en un perfil vertical

# Consideraciones

- Uso de la información:
  1. Determinar relación entre el ambiente y el patógeno
  2. Comparación de epidemias en diferentes ambientes o temporadas
  3. Evaluación de manejo de la enfermedad bajo determinados ambientes
  4. Desarrollo de sistemas de pronóstico
- Instrumentos:
  - Precisión: valor real  $\pm$  error (Aunque esta definición se acerca más a “exactitud”)
  - “Hysteresis”: tiempo de reacción o de retardo en registrar el efecto
  - Repetibilidad: misma medición si se pone de nuevo en mismas condiciones
  - Reproducibilidad: aparatos diferentes proporcionan las mismas mediciones
  - Resolución: relativo grado de diferencia en el ambiente que el aparato es capaz de medir

# Temperatura

- Se define como el estado térmico de un cuerpo referido a su habilidad de comunicar calor hacia otros cuerpos.
- Alta correlación con respuestas biológicas en la mayoría de estudios.
- Diferentes tipos de termómetros

# Humedad

- La mayoría de eventos en muchos patógenos dependen de la disponibilidad de agua
- Se puede medir como Humedad relativa, mojadura foliar, lluvia, humedad del suelo.
  - O al menos son la mas usadas en estudios epidemiológicos



# Relación de HR con presión de vapor

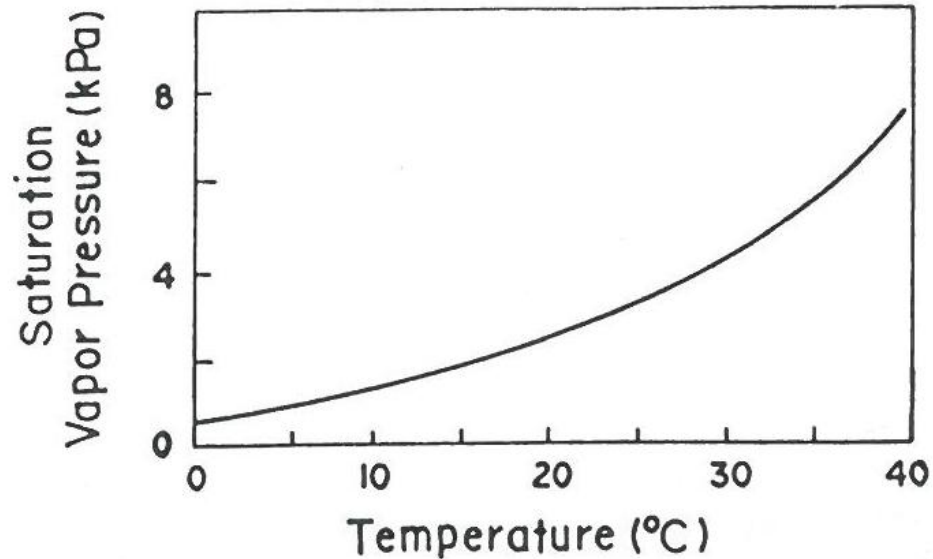


Figure 4.6. Saturation vapor pressure,  $e_s$ , of water in air in relation to temperature (from Rosenberg et al., 1983; used with permission).

- Conforme el aire se calienta, puede sostener más agua.
- Discuta:
  - Efecto del cambio climático en desarrollo de enfermedades:
    - Roya del café
    - Sigatoka negra del banano

# Humedad Relativa

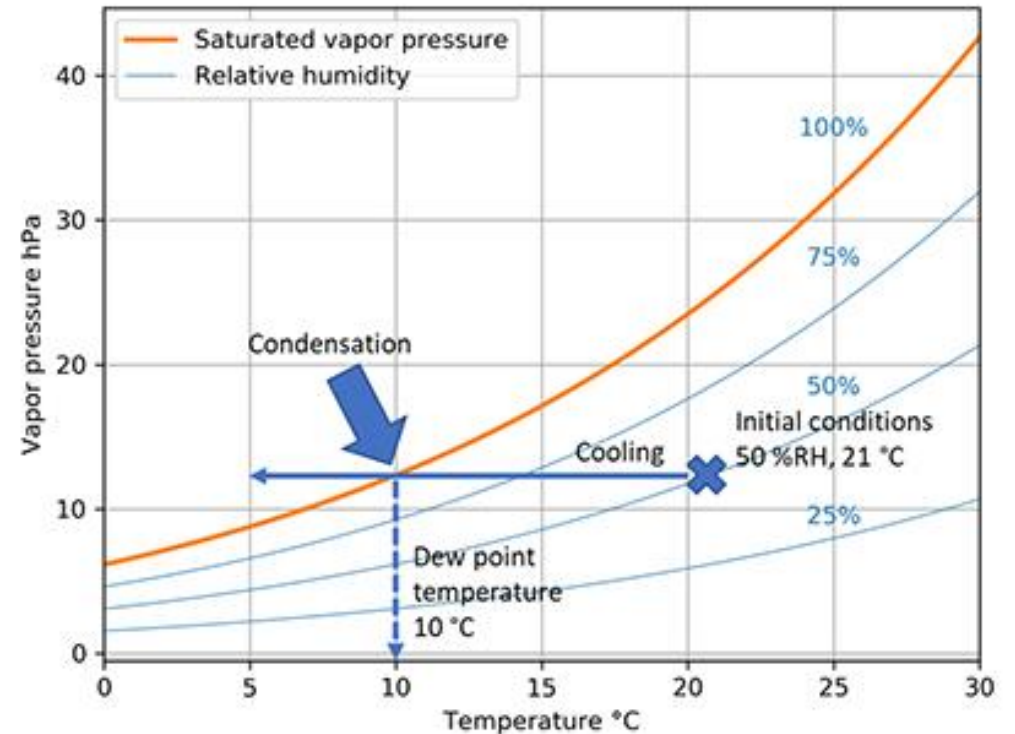
$$RH = \left( \frac{e_a}{e_s} \right) 100\% \quad (4.1)$$

where  $e_a$  is the actual vapor pressure and  $e_s$  is the saturation vapor pressure at the same temperature. Because  $e_s$  is temperature dependent, RH when expressed without an indication of temperature is useful only in a qualitative way (Rosenberg et al., 1983).

- Es una relación entre la presión de vapor observada y la presión de vapor máxima a una determinada temperatura.
- No indica un contenido real de agua en términos volumétricos

# Otras mediciones

- Punto de rocío: temperatura a la cual el aire debe ser enfriado a presión constante y contenido de vapor para que ocurra saturación.
- Humedad absoluta: ratio de masa de vapor de agua sobre el volumen total de aire.



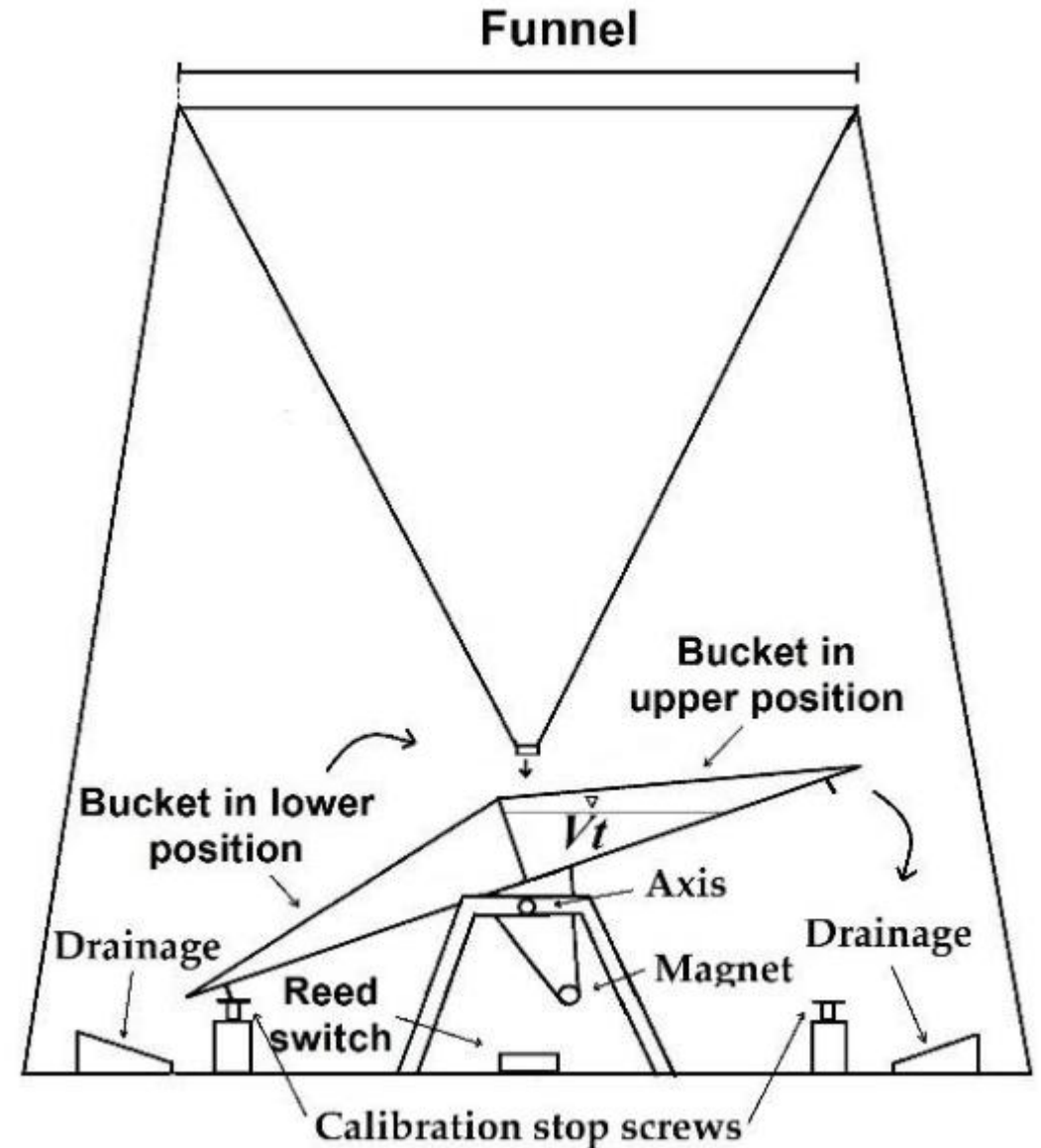
# Mojadura foliar

- Puede ocurrir por rocío, niebla, gutación, irrigación, lluvia
- Elemento clave en desarrollo de muchos patógenos
- La duración de la mojadura foliar es por lo general una variable de mucho interés.
- En ocasiones es necesario medir dentro del dosel o usar varios sensores
- Medición indirecta:
  - $>90\%HR$  por lo general, aunque es inadecuado en cultivos de dosel denso



# Lluvia

- Puede llegar a ser más importante que el rocío para la mojadura foliar.
- Actualmente existen pluviómetros con “tipping bucket system” que permite hacer mediciones automatizadas.





# Humedad del suelo

Soil moisture content can be determined gravimetrically by comparing the dry and wet weights of a soil sample. A solid sample is weighed to obtain the wet weight, dried for 24 hr at 100°C in a forced air oven, and reweighed to obtain the dry weight. The percent moisture can then be calculated as

- Método gravimétrico

$$\% \text{ moisture} = \frac{\text{wet wt.} - \text{dry wt.}}{\text{dry wt.}} \times 100 \quad (4.2)$$

- Sistemas electrónicos



# Viento

- Es el factor más importante que modifica la temperatura y la humedad disponible en la superficie foliar
- Importante factor en la dispersión de esporas de hongos
- Puede causar abrasiones en la planta que sirvan de puntos de entrada para patógenos.



# Radiación

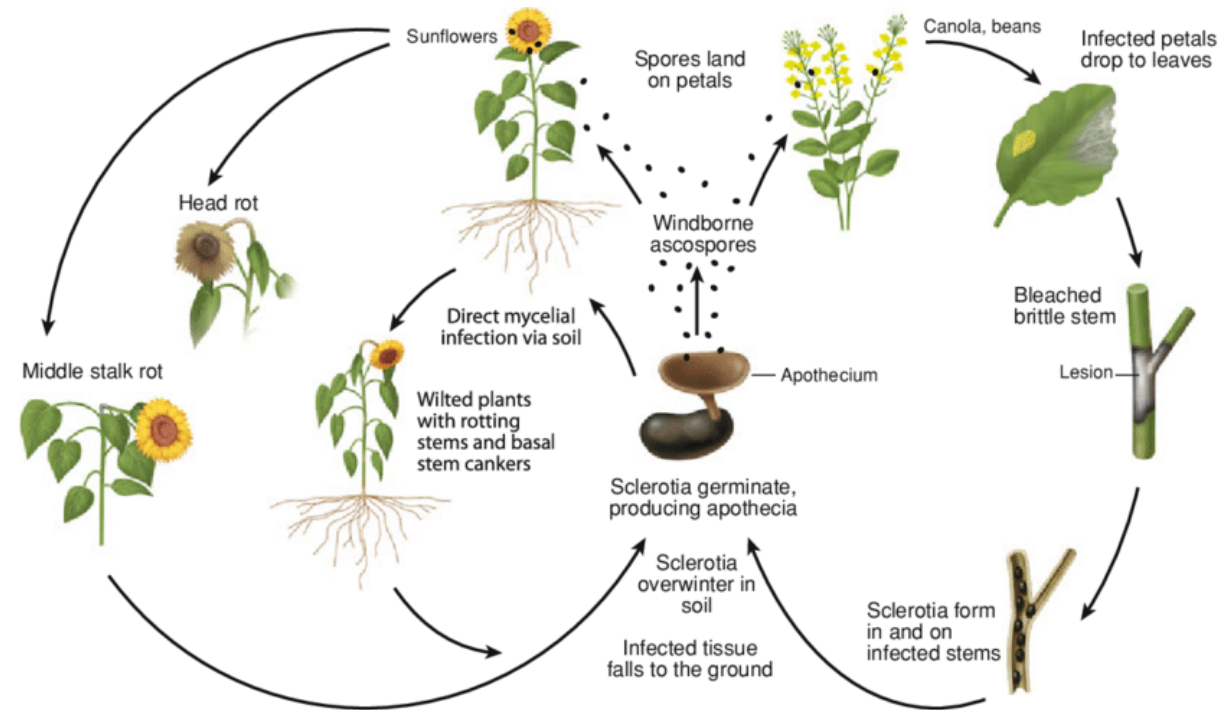
- Se define como el proceso mediante el cual se transfiere energía de un cuerpo a otro a través de ondas electromagnéticas.
- No se mide con mucha frecuencia y por tanto no se conoce mucho de su efecto sobre el desarrollo de epidemias
- La radiación fotosintéticamente activa (PAR) se mide en la banda de 400-700nm y se relaciona con la respuesta de las plantas a la radiación.

# Medición del patógeno

- A partir del conocimiento del patosistema definimos que tipos de propágulos son relevantes de medir
  - Esporas/conidios
  - Esclerocios
  - Clamidosporas
  - Oosporas
  - Esporangios
  - Zoosporas
  - Proporción del vector que contiene el patógeno

# Consideraciones

- Uno o varios tipos de propágulos?
- Viabilidad de propagulos?
- Técnica de medición varia según dispersión por agua, viento, suelo o insectos
- Conteo de colonias
- Trampeo de esporas



Ejemplo: *Sclerotinia sclerotiorum*, los esclerocios no representan la cantidad de inóculo presente para iniciar una epidemia, ya que son las ascosporas producidas en los apotecios las responsables de crear nuevas infecciones

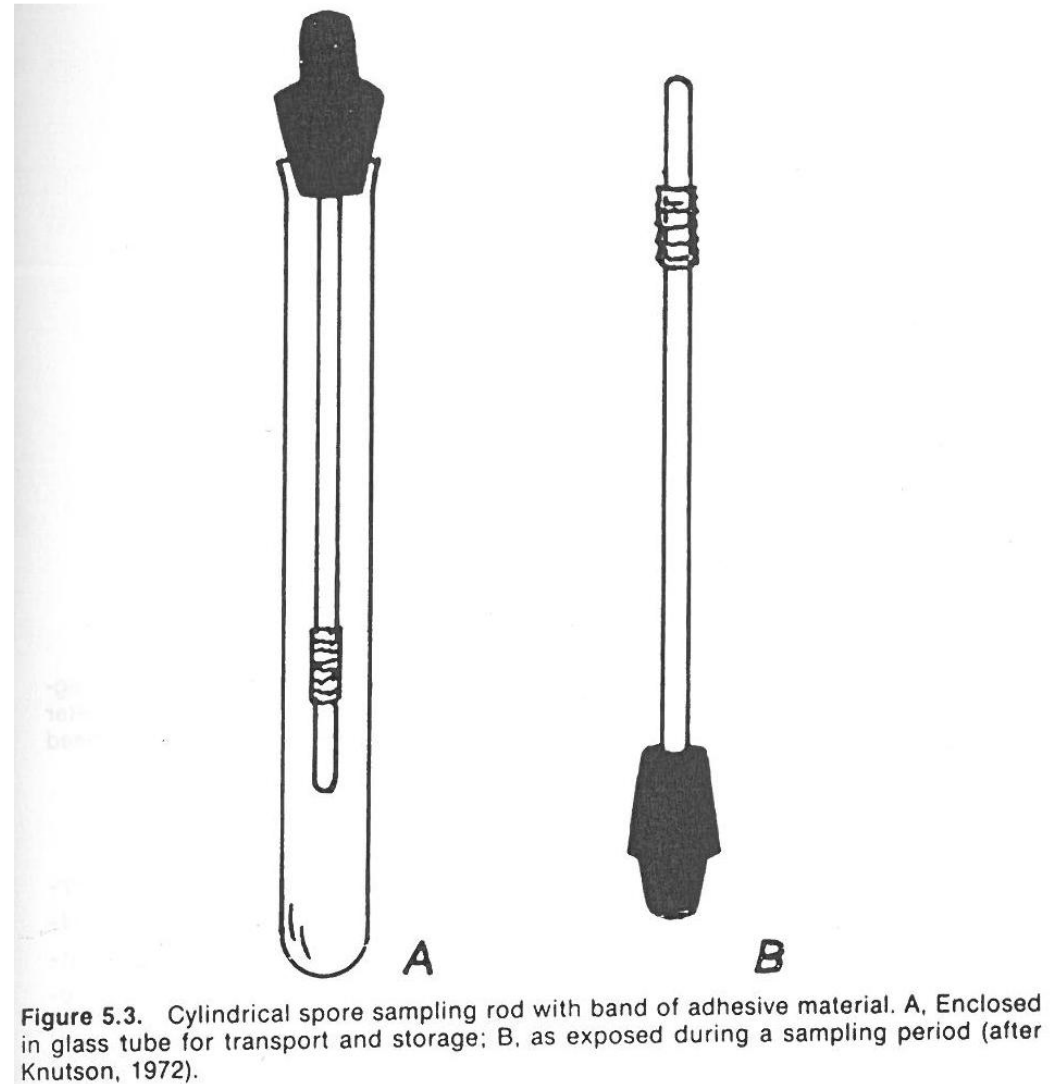


# Trampeo de esporas

- Sedimentación en placas petri



- Captura por impacto en el aire usando sustancias adhesivas
  - Se expone durante una cantidad de tiempo determinado



- Rotorod sampler
  - Mejora la captura aumentando la probabilidad de impacto con las esporas
  - Sustancia adhesiva en las puntas, o un slide con sustancia adhesiva

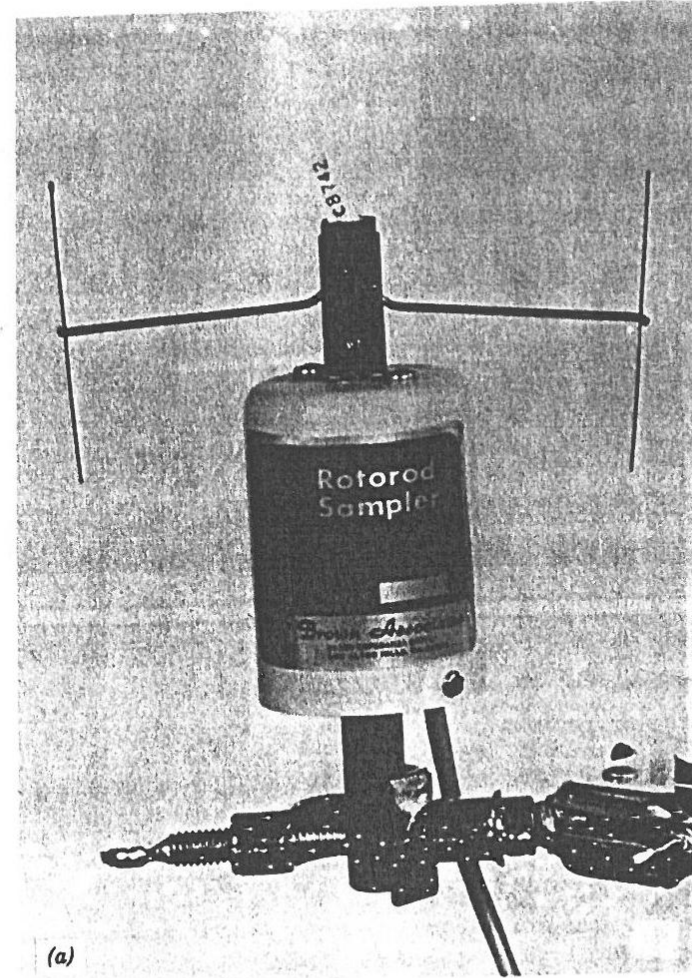


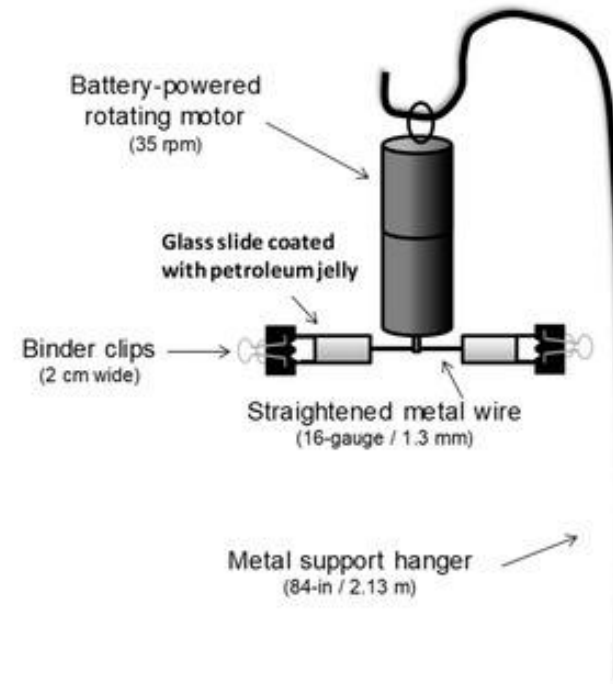
Figure 5.5. Rotorod® whirling-arm or rotary inertial impaction spore samplers and motors. (a) H-shaped sampling head for smaller spores, 1–10  $\mu\text{m}$  in diameter; (b) U-shaped sampling head for larger spores, 10–25  $\mu\text{m}$  in diameter. (c) Sampler with retracting collector head to shield the collection rods when the sampler is not in operation (courtesy Sampling Systems, Inc., Los Altos Hills, CA).

- Trampas volumétricas
  - Capturan un volumen de aire de forma periódica
    - Hirst
    - Burkhardt

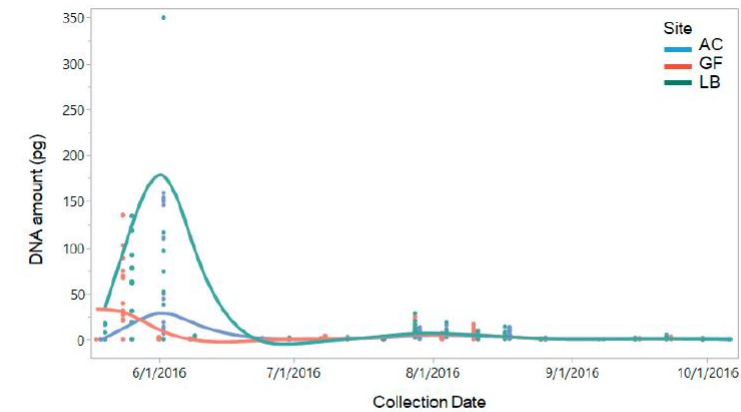


- Actualmente existen modificaciones incorporando qPCR para cuantificar el patógeno en vez de contar esporas

A



B



**Figure 4.** Amount of DNA (in picograms) detected using quantitative PCR from weekly field samples collected between mid-May and October, 2016. Data is shown by site: Austin Cary Forest (AC), Goethe State Forest (GF), and Lake Butler (LB).

<https://doi.org/10.3390/f9100586>



# Get ready for the regional airborne disease surveillance network

BioScout utilises automated microscopy and machine learning to capture, identify and measure fluctuations in airborne fungal spores moving through a microclimate. We're partnering with the GRDC to deploy devices across the three key wheat belts in order to deliver a world-first insight into fungal disease.



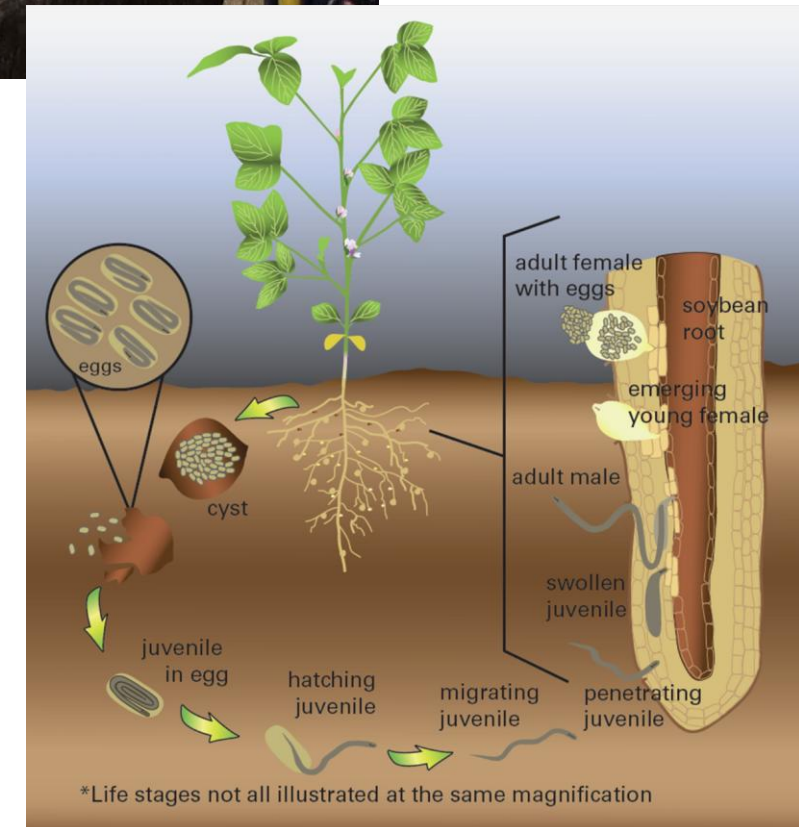
- Modificación usando una librería de imágenes y Machine Learning para clasificación (identificación) y conteo de esporas.
- <https://www.bioscout.com.au/posts/how-bioscout-works>





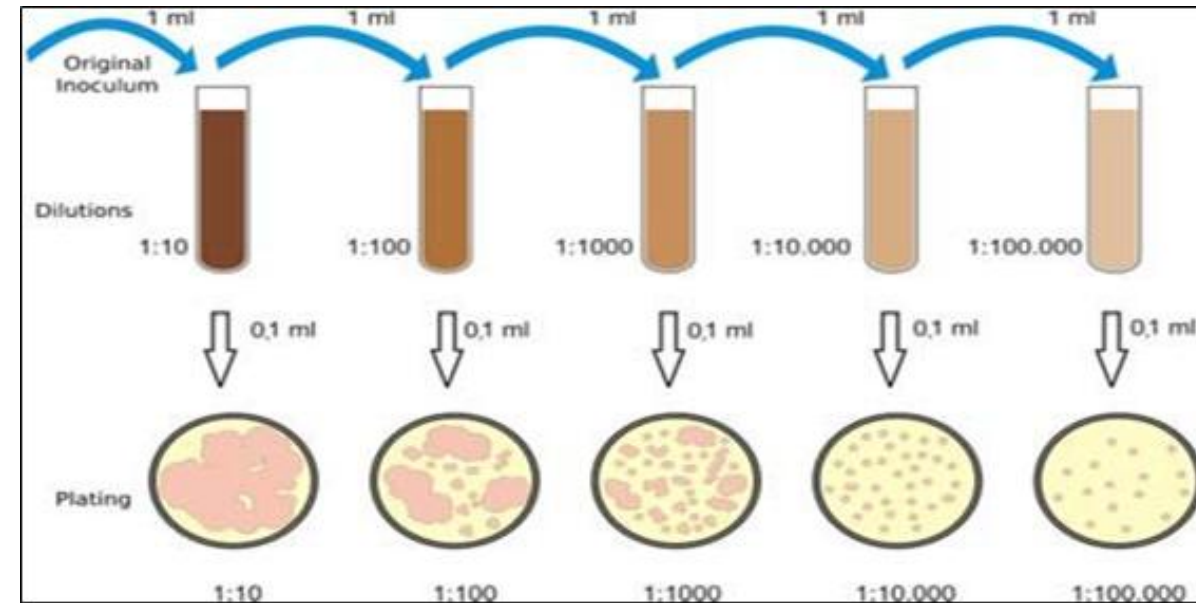
# Conteo directo

- Útil cuando el patógeno produce estructuras macroscópicas
  - Esclerocios
  - Quistes
  - Uso de cribas para facilitar la extracción a partir de muestras de suelo



# Medios selectivos

- Muy utilizados en combinación con diluciones seriadas de suelo.
- Medios con modificaciones en
  - pH
  - Nutrientes
  - Antibióticos
  - fungicidas



# Bioensayos

- En algunos casos hay patógenos en cantidades muy bajas pero con potencial infectivo muy alto.
- Igualmente, cuando existen formas especiales, razas o variedades del patógeno que dificultan su conteo.
- Los bioensayos son confiables para el muestreo de algunos nemátodos.



# *Radopholus similis* en banano

- Supervivencia y diseminación:
  - Se ha demostrado que *R. similis* no sobrevive en el suelo más de 6 meses en la ausencia de raíces o piezas de cormos vivos de un hospedero
  - Re infesta campos y se disemina por materiales contaminados
  - Mediante plantas trampa es posible estimar la cantidad de nemátodos en el suelo

