

**Incidencia de Inóculo y Variables Climáticas como Herramientas en la Toma de Decisiones del Manejo del Tizón de Fuego [*Erwinia amylovora* (Burill) Winslow *et al.*] Durante la Floración del Manzano [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. *domestica* (Borkh.) Mansf.]**

***Inoculum Incidence and Climatic Variables as Tools to Make Decisions of Fire blight [*Erwinia amylovora* (Burill) Winslow *et al.*] Management During Apple Tree [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] Bloom Period***

**Manuel Rafael Ramírez-Legarreta, Juan Luis Jacobo-Cuéllar, Mario René Ávila-Marioni, Rafael Ángel Parra-Quezada, María Guadalupe Zacatenco-González** INIFAP, Campo Experimental Sierra de Chihuahua, Hidalgo 1213, Zona Centro, Cuauhtémoc, Chihuahua, México CP 31500; y **Alejandro Romo-Chacón**, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Av. Río Conchos s/n, Parque Industrial Cuauhtémoc, Cuauhtémoc, Chihuahua, México CP 31570. Correspondencia: legarreta.manuel@inifap.gob.mx

(Recibido: Junio 12, 2009 Aceptado: Noviembre 8, 2009)

Ramírez-Legarreta, M.R., Jacobo-Cuéllar, J.L., Ávila-Marioni, M.R., Parra-Quizada, R.A., Zacatenco-González, M.G. y Romo-Chacón, A. 2009. Incidencia de Inóculo y Variables Climáticas como Herramientas en la Toma de Decisiones del Manejo del Tizón de Fuego [*Erwinia amylovora* (Burill) Winslow *et al.*] Durante la Floración del Manzano [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. *domestica* (Borkh.) Mansf.]. Revista Mexicana de Fitopatología 27:123-133.

**Resumen.** En los años 2006 y 2007 se determinó la presencia de *Erwinia amylovora* (*Ea*) en muestreos de 180 flores elegidas al azar en cuatro bloques de 60 árboles cada uno durante la floración del manzano cv. Golden Delicious, en la localidad de Cuauhtémoc, Chihuahua. Cada bloque representó diferente toma de decisiones para el uso de antibióticos: variables de clima, presencia de *Ea* en estigmas, variables de clima+*Ea* en estigmas y testigo. En 2008 se validaron los resultados en seis huertos del cv. Golden Delicious de la localidad de Canatlán, Durango, México. Los resultados obtenidos indicaron que en 2006 y 2007 *Ea* se detectó en el 90% de los muestreos realizados, determinándose que el manejo de *Ea* basado sólo en la presencia de la bacteria, derivó en aplicaciones innecesarias de antibióticos. Se registró un número similar de racimos florales dañados en parcelas aplicadas con antibióticos y no aplicadas. En 2008 la presencia de *Ea* fue detectada en el 100% de los huertos y muestreos realizados en Canatlán, Durango. La decisión de la aplicación de antibióticos se

**Abstract.** The presence of *Erwinia amylovora* (*Ea*) was determined in 2006 and 2007 in 180 samplings of flowers chosen at random in Cuauhtémoc, Chihuahua, Mexico from four 60 tree blocks, being each and every single one of them chosen during cv. Golden Delicious apple tree flowering. Each block represented a different decision to make, with regards to the use of antibiotics: climate variables, *Ea* presence in stigmas, climate + *Ea* variables in stigma and witness. Results obtained from six cv. Golden Delicious orchards located in Canatlan, Durango, Mexico, were validated in 2008. It was indicated by these results that in both 2006 and 2007, *Ea* was detected in 90% of the samplings, determining that *Ea* management based on bacteria presence, derived in unnecessary antibiotic application, thus. The *Ea* presence was detected in 2008 on 100% of the orchards and samplings performed in Canatlán, Durango, Mexico. The decision concerning antibiotics application was made upon climate variables, obtaining similar damage levels to the levels registered in Chihuahua, Mexico. Consequently, it was confirmed that the *Ea* presence was consistent in apple production systems on the Northern and Central region of Mexico, which epidemics rely more on climatic conditions and handling provided by the producer than on the inoculums availability.

Additional key words: Sprays, antibiotics, prediction.

realizó con base en variables de clima, obteniendo niveles de daño similares a los registrados en Chihuahua. Se confirmó que la presencia de *Ea*, fue consistente en los sistemas de producción de manzana del norte centro de México, y cuyas epidemias dependen más de las condiciones climáticas y del manejo del productor, que del inóculo disponible.

Palabras clave adicionales: Aspersiones, antibióticos, predicción.

## INTRODUCCIÓN

El tizón de fuego en manzano [*Malus sylvestris* (L.) Mill. Var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] es una enfermedad cuyos síntomas son derivados del ataque de la bacteria denominada *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krunwiede, Roger y Smith. Es la enfermedad bacteriana más devastadora del manzano y del peral (Krtizman *et al.*, 2003), el patógeno causa daño en flores, brotes, ramas, frutos y raíces y se conoce en América del Norte desde hace 200 años (Van der Zwet y Keil, 1979). El proceso epidémico se inicia con el inóculo sobre los estigmas de las flores, movido al nectario mediante la acción de la lluvia (Lindow y Suslow, 2003); sin embargo, la presencia de la bacteria en el estigma de la flor es epífita y no garantiza la infección (Pussey, 1996; Thomson, 1986). El manejo de las epidemias de tizón de fuego se realiza impidiendo las infecciones en las flores (Johnson *et al.*, 2004; Spinelli *et al.*, 2007). En el caso particular de México, específicamente en la región manzanera de Chihuahua, la bacteria se identificó bioquímicamente en 1974 por personal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) y su importancia económica inició a partir de 1990. Durante esta época se estimó que el 10% de los árboles plantados en la región presentaba algún daño ocasionado por la bacteria (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). Tanto en países desarrollados como en México, se reconoce el incremento del riesgo de ataques de tizón de fuego en manzano sin embargo, los factores que inciden en ambos casos presentan amplias diferencias. En los Estados Unidos de América (EUA), se señalan cuatro factores importantes en el incremento de la importancia del tizón de fuego: a) incremento en densidades de población, b) los nuevos portainjertos (M 9 y M 26) son altamente susceptibles al tizón de fuego, c) alta susceptibilidad de las nuevas variedades (Gala, Fuji y Braeburn) que tienen gran demanda en el mercado, y d) los sistemas de formación de los árboles en altas densidades de plantación tienen un mínimo de estructura vegetativa, originando que la muerte de una rama sea equivalente a la pérdida del 25% de la masa total del árbol (Norelli *et al.*, 2003; Dewdney y Aldwinckle, 2008). En la región manzanera de Chihuahua donde el uso de estos portainjertos y variedades, es todavía muy reducido (el 85% de las plantaciones están sobre portainjerto franco y de semilla), las causas que han incrementado el riesgo de daño por tizón de fuego son: a) la ocurrencia de inviernos benignos que repercuten en la reducida acumulación de frío en el manzano, b) períodos prolongados e irregulares con flores abiertas, c) falta de recursos de una gran parte de los productores de manzano, que no pueden subsanar este problema debido a que el uso de rompedores de dormancia incrementa los costos de

## INTRODUCTION

The fire blight on apple tree [*Malus sylvestris* (L.) Mill. Var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] is a disease which symptoms are derived from bacteria *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krunwiede, Roger and Smith. It is apple and pear tree most devastating disease (Krtizman *et al.*, 2003); damage in flower, buds, branches fruit and roots is caused by this pathogen, having been known in North America for over 200 years (Van der Zwet and Keil, 1979). The epidemic process becomes initiated by the inoculum over the flowers stigma, which is moved to the nectar by rain action (Lindow and Suslow, 2003); however, the bacteria presence on flower stigma is epiphyte and does not guarantee infection (Pussey, 1996; Thomson, 1986). The fire blight epidemics management is performed by means of keeping infections from the flowers (Johnson *et al.*, 2004; Spinelli *et al.*, 2007). Concerning the very particular case of Mexico, specifically the apple tree region of Chihuahua, the bacteria was biochemically identified in 1974 by the staff members from the Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), having its economical relevance identified in 1990. It was estimated during this period that 10% of the planted trees in this region presented some kind of damage derived from this bacteria (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). Although the risk increase of fire blight attack to apple trees has been recognized in developed countries, as well as in Mexico, the consistent factors in both cases are remarkably different. The four relevant factors that are pointed out in the United States of America (USA) with regards to the increasing fire blight disease importance are: a) an increase in population density, b) the new rootstocks, c) the most demanded new varieties in the market with a high level of susceptibility (Gala, Fuji and Braeburn) and d) the formation systems of the trees at high density plantations present a minimal vegetative structure, making the death of a branch equal to a 25% loss of the tree total mass (Norelli *et al.*, 2003; Dewdney and Aldwinckle, 2008). The causes that have increased the risk of damage induced by fire blight in the apple tree region of Chihuahua, where the use of rootstocks and varieties is still very low (85% plantations are over seedling rootstocks) are: a) the benign winter occurrence which have repercussions in the reduced chill units accumulation in apple tree, b) long and irregular periods with open flowers, c) a lack of resources from a great deal of apple tree producers, who are not able to solve this particular issue due to the fact that the dormancy breakers represent an increase on production cost, and d) the irrigation utilization during the flowering stage as a common practice (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). The economical loss derived from this pathogen went up to 300 million pesos in the 1999 epidemic in Chihuahua (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003) and to 42 million dollars in the state of Michigan in 2000 (Norelli *et al.*, 2003; Biggs *et al.*, 2008). The conventional management scheme by apple tree producers in Mexico and other countries is the antibiotic sprays, based on infection prediction by means of a climate variable analysis during the bloom stage (Shtinberg *et al.*, 2003). Nonetheless, the inoculum incidence utilization in susceptible flowers to develop epidemic disease (Thomson and Gouk, 2003; Gouk

producción, y d) el uso del riego durante floración como práctica común (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). Las pérdidas ocasionadas por este patógeno ascendieron a 300 millones de pesos durante la epidemia de 1999 en Chihuahua (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003) y a 42 millones de dólares en el estado de Michigan durante el año 2000 (Norelli *et al.*, 2003; Biggs *et al.*, 2008). El esquema de manejo convencional por productores de manzana en México y otros países, es la aspersión de antibióticos basada en el pronóstico de la infección con un análisis de variables de clima durante el estadio de floración (Shtinberg *et al.*, 2003). Sin embargo, el empleo de la incidencia del inóculo en flores susceptibles de desarrollar la epidemia de la enfermedad (Thomson y Gouk, 2003; Gouk y Thomson, 2006) es un método reciente que se utiliza en regiones productoras de manzano de EUA (Thomson y Ockey, 2003). Los objetivos de este trabajo fueron relacionar la incidencia de la bacteria en flores abiertas con el desarrollo de la infección, determinar la efectividad de la toma de decisiones para su manejo con el empleo de la incidencia de inóculo y variables de clima, y validar los resultados en otra región productora de manzano del norte de México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Sitios de estudio.** El trabajo se desarrolló durante los ciclos 2006 y 2007 en el municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua ubicado a 28°25' LN y 106°51' LO, altitud de 2010 msnm, con clima semiseco templado, precipitación pluvial promedio de 478 mm y temperatura media anual de 14.2°C (Medina-García *et al.*, 2006). En 2008 se validaron los resultados en seis huertos de Canatlán, Durango, México, ubicados a 24°C 31' LN y 104°C 47' LO, altitud de 2000 m, con clima semiseco templado, precipitación pluvial de 535.8 mm y temperatura media anual de 15.8°C (Medina-García *et al.*, 2005).

**Parcela experimental en el 2006-2007.** En un huerto plantado con el cultivar Golden Delicious injertado sobre portainjerto MM106, a una densidad de plantación de 1000 árboles (4 X 2.5 m) por hectárea y 10 años de edad, se seleccionaron cuatro bloques de 60 árboles cada uno. Cada bloque correspondió a los tratamientos: 1) Toma de decisiones mediante monitoreo de variables de clima, 2) toma de decisiones mediante incidencia de *Erwinia amylovora* en flores abiertas, 3) toma de decisiones conjuntando los dos criterios anteriores y 4) testigo. En toda el área experimental se evitó el riego durante el período de floración para propiciar el desarrollo de la epidemia bajo condiciones naturales (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003).

**Parcelas de validación en el 2008.** En seis huertos de la localidad de Canatlán, Durango, México, seleccionados aleatoriamente, se muestreó en 10 árboles centrales de una hectárea, el mismo número de flores (180) evaluado en Chihuahua dentro de los bloques de árboles, repitiendo el esquema de impresión de estigmas sobre medio de cultivo CCT y el mismo período de incubación. La hectárea monitoreada se conservó en ausencia de riego durante todo el período de floración para evitar humedad adicional a la proporcionada por la lluvia (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). El daño se evaluó en los mismos árboles utilizados para el

and Thomson, 2006), is a recent method used in apple tree regions in the USA (Thomson and Ockey, 2003). The present study is aimed to find the relation between bacteria incidence in open flowers and infection development, to determine the most effective decisions to be made for their management in inoculums incidence and climate variables, as well as validating the results from a different apple tree producer region in Northern Mexico.

## MATERIALS AND METHODS

**Study sites.** The study hereby was performed during the 2006 and 2007 cycles in Cuauhtémoc, Chihuahua, Mexico, located at 28°25' LN and 106°51' LO, 2010 m altitude, with a semi-dry temperate climate, with a 478 mm average pluvial precipitation and an annual average temperature of 14.2°C (Medina-García *et al.*, 2006). In 2008, the results were validated in six orchards of Canatlan, Durango, Mexico, located at 24°C 31' LN and 104°C 47' LO, 2000 m altitude, with a semi-dry temperate climate, a 535.8 mm pluvial precipitation and a 15.8°C annual average temperature (Medina-García *et al.*, 2005).

**Experimental plot in 2006 and 2007.** A selection of four blocks 60 trees each was performed in an orchard planted with a Golden Delicious cultivar over an MM106 rootstock, in a plantation density of 1000 ten years old trees (4 X 2.5 m) per ha. Each block belonged to the treatments: 1) Decisions being made by means of climate variables monitoring; 2) decisions being made by *Ea* incidence in open flowers; 3) decisions being made by putting together both of the criteria previously mentioned; 4) control. Irrigation was prevented all over the experimental area during the bloom period, looking forward to induce epidemic development under natural conditions (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003).

**Plots validation in 2008.** The same amount of flowers (180) evaluated in Chihuahua inside the tree blocks was sampled in 10 central trees selected at random from six orchards located in Canatlán, Durango, Mexico, repeating the stigma impression scheme over the CCT medium, as well as the same incubation period. The monitored hectare was kept under irrigation absence during the bloom period completely, in order to prevent additional humidity to the humidity provided by the rain (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). Damage was evaluated on the same trees utilized for flower sampling.

**Climatic variables monitoring in 2006 and 2007.** The climatic variables under evaluation on a daily basis through the entire apple tree flowering period were: Maximal and minimal temperature, relative humidity and pluvial precipitation (Steiner y Lightner, 1996). The first three were measured throughout a Dikson THDX<sup>MR</sup> brand hydrothermograph on a weekly basis; the fourth was measured with a Taylor 2715 brand pluviometer, located at the centre of the experimental plot.

**Climatic monitoring in 2008.** The six orchards randomly selected were 20-30 years old, with a Golden Delicious cultivar and a 400 trees per ha average plantation density; both maximal and minimal temperatures were registered on a daily basis at 10 am, taking into consideration the minimal



muestreo de flores.

**Monitoreo de variables climáticas en el 2006-2007.** Las variables climáticas evaluadas diariamente durante todo el período de floración del manzano fueron: Temperatura máxima, temperatura mínima, humedad relativa y precipitación pluvial (Steiner y Lightner, 1996). Las tres primeras se midieron con un higrómetro marca Dikson THDX<sup>MR</sup> semanal; la cuarta con un pluviómetro marca Taylor 2715, colocado en una caseta meteorológica que se ubicó en el centro de la parcela experimental.

**Monitoreo climático en el 2008.** Los seis huertos del estado de Durango seleccionados aleatoriamente, oscilaron de 20-30 años de edad, con el cultivar Golden Delicious y densidad promedio de plantación de 400 árboles por hectárea; se registraron las temperaturas máximas y mínimas en forma diaria a las 10:00 am, considerando la mínima del día de la lectura y la máxima ocurrida el día anterior. Esto posibilita hacer la recomendación de manejo el mismo día por la mañana. El registro se llevó a cabo mediante el uso de termómetros de máximas y mínimas y pluviómetros marca Taylor.

**Monitoreo de incidencia de *E. amylovora* en estigmas florales en el 2006, 2007 y 2008.** En cada bloque de 60 árboles en Cuauhtémoc, Chihuahua, y dentro de una hectárea de los huertos de validación en Canatlán, Durango, se muestrearon al azar 180 flores de apariencia sana, turgentes y de 1-2 días de apertura. A cada flor se le eliminaron los pétalos, dejando al descubierto los estigmas de la misma. Cada juego de estigmas de flores individuales fue impreso en un campo de cajas Petri provista con el medio de cultivo CCT, donde el crecimiento bacteriano muestra una especie de cráteres en la superficie cuando se observa bajo el microscopio con un objetivo de incremento de 10X (Ishimaru y Klos, 1984), las cajas Petri se marcaron con nueve campos en la parte inferior. El total de cajas Petri utilizadas fue de 20 por bloque/hectárea por muestreo. Las cajas petri con impresión de estigmas se incubaron a 29°C. A las 24-48 h se identificaron de manera visual aquellas colonias con formación típica de paraje lunar, lo cual caracteriza a crecimientos de *E. amylovora* en este medio de cultivo (Ockey y Thomson, 2006). Los muestreos se realizaron dos veces por semana durante el período comprendido entre el 10 y 90% de floración (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2008). Las fechas correspondientes a estos eventos fueron del 8 de abril al 8 de mayo en 2006 y del 27 de marzo al 26 de abril durante 2007. En los huertos de validación el estado de Durango, el período de muestreo comprendió entre el 2 de abril y el 8 de mayo de 2008. Posteriormente se definieron porcentajes de incidencia por fecha de muestreo.

**Índice de riesgo de infección mediante variables de clima.** Las variables de clima, capturadas de manera diaria se introdujeron al modelo MARYBLYT<sup>TM</sup> 4.3 (Steiner y Lightner, 1996) para el cálculo de riesgo durante todo el período de floración en los huertos de Chihuahua y Durango. Los modelos de manejo más conocidos requirieron de temperatura, presencia de lluvia y por ciento flores abiertas (Billing, 1980; Steiner y Lightner, 1996; Thomson *et al.*, 1982).

temperature from the day of the reading and the maximal temperature of the previous day, providing an ability to make the management recommendation by the morning of the same day. The register was performed by maximal and minimal thermometers and Taylor brand pluviometers.

***Ea* Incidence monitoring in flower stigmas in 2006, 2007 and 2008.** A random selection of 180 flowers of a healthy appearance, turgid and with 1-2 days of aperture were sampled from each 60 trees block in Cuauhtemoc, Chihuahua, Mexico, and within a hectare of the orchards validated in Canatlan, Durango, Mexico. Petals were eliminated from each flower, leaving their stigma uncovered. Each stigma set from individual flowers was printed on a field of Petri dishes provided with the same CCT medium, where the bacterial reveals some kind of craters on the surface when observed under a microscope with a 10X increase objective (Ishimaru and Klos, 1984); the Petri dishes were marked with 9 fields in the lower section. The total number of Petri dishes utilized was 20 per block/hectare by sampling. The Petri dishes with stigma impression were incubated at 29°C. Those colonies with a typical moon like formation became visually identified after 24-48 h, characterizing *Ea* growth in this culture medium (Ockey and Thomson, 2006). Samplings were performed twice a week during the period that comprehended 10 to 90% of the flowering process (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2008). The corresponding dates to these particular events took place from April 8<sup>th</sup> to May 8<sup>th</sup> 2006 and from March 27<sup>th</sup> to April 26<sup>th</sup> 2007. The sampling period in the validation orchards from the state of Durango was between April 2<sup>nd</sup> and May 8<sup>th</sup> 2008. Incidence percentages were defined by date of sampling.

**Infection risk index by climate variables.** Climate variables, captured on daily basis, were inserted in a MARYBLYT<sup>TM</sup> 4.3 model (Steiner and Lightner, 1996), aiming to perform a risk calculation during the entire flowering period in the orchards from Chihuahua and Durango. The most recognized management models required temperature, rainfall presence and open flowers (Billing, 1980; Steiner and Lightner, 1996; Thomson *et al.*, 1982).

**Decisions made in 2006 and 2007.** The use of antibiotics was applied when the flowers percentage revealing a bacteria presence had been equal or over 5% twice consecutively, and the average daily temperature exceeded 15.6°C in both samplings for the treatment where the bacteria presence on the stigma was the criteria to spray. Sprays were programmed for the treatment that considered climatic variables when the MARYBLYT<sup>TM</sup> (MB) model indicated an infection risk. Concerning the treatment where the decision to spray had been made upon putting both of the criteria previously mentioned together, antibiotic sprays were programmed when the bacteria presence exceeding percentage on the flowers had been over 5%, the average daily temperature exceeded the 15.6°C and a risk infection had been indicated by the MARYBLYT<sup>TM</sup> (MB) model. Streptomycin sulfate in 9 g of i.a. ha<sup>-1</sup> dosages, plus 1.2 g of i.a. ha<sup>-1</sup> Oxytetracycline was the antibiotic utilized in all the treatments. The control remained free of antibiotics application during the entire flowering stage.

**Decisions made in 2008.** Antibiotic sprays were programmed

**Toma de decisiones en el 2006-2007.** En el tratamiento donde la presencia de la bacteria en los estigmas fueron el criterio para asperjar, se aplicaron antibióticos cuando el porcentaje de flores con presencia de la bacteria fue igual o superior al 5% en dos ocasiones consecutivas, y la temperatura media diaria excedió de 15.6°C en ambos muestreos. Para el tratamiento que consideró variables climáticas, se programaron aplicaciones cuando el modelo MARYBLYT™ (MB) indicó riesgo de infección. El tratamiento donde la decisión de asperjar se realizó conjuntando los dos criterios anteriores, se programaron aspersiones de antibióticos cuando se tuvo un porcentaje superior al 5% de flores con la presencia de la bacteria, el promedio de temperatura diaria excedió los 15.6°C y el modelo MARYBLYT™ (MB) indicó riesgo de infección. El antibiótico utilizado en todos los tratamientos fue Sulfato de Estreptomina a dosis de 9 g de i.a. ha<sup>-1</sup> más 1.2 g de i.a. ha<sup>-1</sup> de Oxytetraciclina. El testigo permaneció sin aplicación de antibióticos durante toda la floración.

**Toma de decisiones en el 2008.** En las seis parcelas de validación evaluadas en la localidad de Canatlán, Durango, se programaron aplicaciones de antibióticos cuando el modelo MB indicó infección.

**Evaluación de daño.** Se registró el número de racimos de flores dañadas por el tizón de fuego a los 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 días después de la caída de los pétalos.

**Impacto ambiental, costos y análisis estadístico.** Se evaluó el coeficiente de impacto ambiental generado por la aplicación de antibióticos en cada tratamiento de los ciclos 2006-2007 (Ramírez-Legarreta y Jacobo-Cuéllar, 2002; Ramírez-Legarreta *et al.*, 2004), el cual se determina en campo de la siguiente forma: Impacto ambiental =  $EIQ * i.a. * dosis * frecuencia$ , donde; EIQ = coeficiente de impacto ambiental obtenido de tablas (Kovach *et al.*, 1992); i.a.= ingrediente activo del producto formulado; dosis = cantidad de producto comercial aplicado en campo y frecuencia = número de aplicaciones. Finalmente se realizó un análisis de rentabilidad mediante presupuestos parciales de cada uno de los tratamientos de los ciclos 2006 y 2007 (Perrin *et al.*, 1979). La comparación de la ocurrencia potencial de bacterias en las flores entre tratamientos se realizó mediante Tukey (P 0.05) y entre años con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para evaluación de dos muestras independientes (Sprent y Smeeton, 2001). La ocurrencia del porcentaje de flores con *Ea* se acumuló a través del tiempo, la fluctuación se exploró con modelos no lineales. El modelo no lineal fue una modificación del de Weibull (Pennypaker *et al.*, 1980), que es flexible a los parámetros  $Y=1-\exp(-días/b)^c$ ; donde Y= proporción de flores con bacterias; días= número de días a partir del primero de abril; b= estimador de la tasa de acumulación de la proporción de flores con bacterias en su forma inversa (1/b); c= parámetro de forma de la curva. Se seleccionaron los modelos que mejor ajustaron a la variable con base en el coeficiente de determinación, bondad de ajuste entre valores observados y estimados con la prueba Kolmogorov-Smirnov y coeficiente de variación (Sprent y Smeeton, 2001).

when an infection indication was made by the MB model on the six evaluated validation plots from the city of Canatlan, Durango, Mexico.

**Damage evaluation.** The amount of damaged flower racemes by the firelight disease was registered 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 days after the flower petals had fallen off the apple tree.

**Environmental impact, costs and statistical analysis.** The environmental impact quotient generated by the antibiotics sprays in each of the 2006 and 2007 cycles, was evaluated (Ramírez-Legarreta and Jacobo-Cuéllar, 2002; Ramírez-Legarreta *et al.*, 2004), being determined on the field as follows:  $EIQ * i.a. * dosage * frequency$ , where EIQ = Environmental Impact Quotient obtained from tables (Kovach *et al.*, 1992); a.i.= active ingredient; dosage = amount of the commercial product applied on the field, and frequency = amount of sprays. Finally, a profitability analysis by means of partial budgeting of each one of the treatments performed in the 2006 and 2007 cycles (Perrin *et al.*, 1979) was carried out. The comparison of bacterial potential occurrence in the flowers among treatments was performed by Tukey (P 0.05), and among years with the Mann-Whitney none parametric test for the evaluation of two independent samples (Sprent and Smeeton, 2001). The occurrence percentage of *Ea* inoculated flowers became accumulated throughout time; the fluctuation was explored with none lineal models. The none lineal model was a modification of the Weibull (Pennypaker *et al.*, 1980), which is flexible to the parameters  $Y=1-\exp(-days/b)^c$ ; where Y = proportion of bacteria inoculated flowers; days = days after the 1<sup>st</sup> of April; b = proportion accumulation rate appraiser of flowers bacteria inoculated in its inverse form (1/b); c) form of the curve parameter. The models selection was performed by selecting the variable most suitable models based on the determination coefficient, adaptation kindness among observed and estimated values with the Kolmogorov-Smirnov test and variation coefficient (Sprent and Smeeton, 2001).

## RESULTS AND DISCUSSION

**Cycles 2006-2007.** The *Ea* presence on flowers stigmas in 2006 was just lower to the 5% threshold on April 29<sup>th</sup> (Fig. 1). The daily average temperature was over the bacteria development threshold (15.6°C) on 21 out of the 29 days that cv. Golden Delicious flowering last; meanwhile, the HR (irrigation less during the entire flowering period) was lower than 51%. The stigma percentage in 2007 inoculated by *Ea* revealed a rather drastic decrease, the daily average temperature was over the 15.6°C threshold in 10 out of 29 flowering days and the maximal HR registered was 54% (Fig. 1). The low bacteria level detected in 2007 may have been due to a reduction of the daily average temperature, turning into a colder environment for flowering and a lower bees and dispersers insects mobility (Johnson *et al.*, 1993; Thomson *et al.*, 1992); or else, to the winter pruning by the active cankers elimination where the bacteria hibernates and propitiating initial inoculum (Johnson *et al.*, 2004). As indicated by the infection risk behavior generated by MB, it presented a low

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Ciclos 2006-2007.** Durante el 2006, la presencia de *Ea* en los estigmas de las flores sólo fue inferior al umbral de 5% el día 29 de abril (Figura 1). La temperatura media diaria estuvo sobre el umbral de desarrollo de la bacteria (15.6°C) en 21 de los 29 días que duró la floración del cv. Golden Delicious, mientras que la HR (sin riego durante todo el período de floración) fue menor a 51%. Durante el 2007, el porcentaje de estigmas inoculados por *Ea* descendió drásticamente, la temperatura media diaria superó el umbral de 15.6°C en 10 de los 29 días que duró la floración y la HR máxima registrada fue de 54% (Figura 1). La detección baja de la bacteria durante el 2007 pudo deberse a la reducción de la temperatura media diaria, volviendo más frío el ambiente durante la floración y por ende la baja movilidad de abejas e insectos dispersores (Johnson *et al.*, 1993; Thomson *et al.*, 1992), o bien, a la poda invernal por la eliminación de cánceres activos donde inverna la bacteria y que propician el inóculo inicial que se moviliza a las flores (Johnson *et al.*, 2004). El comportamiento del riesgo

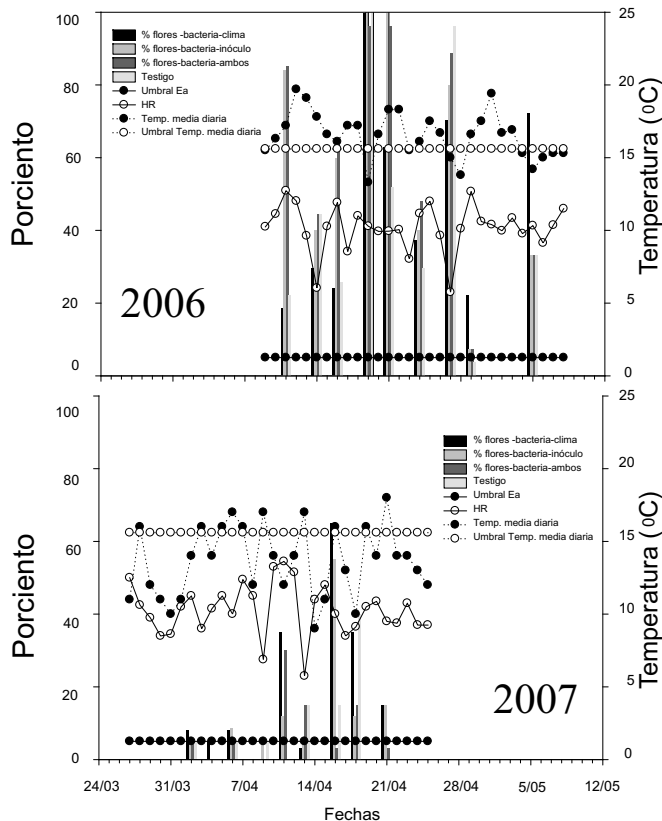


Fig. 1. Porcentaje de flores de manzano con inóculo de *Erwinia amylovora* (*Ea*) en cuatro tratamientos, umbrales de acción y temperatura para *Ea*, humedad relativa y temperatura media diaria durante la floración del manzano (*Malus sylvestris* var. *domestica*) cv. Golden Delicious, Cuauhtémoc, Chihuahua, México. 2006-2007.

Fig. 1. Apple flowers percentage with *Erwinia amylovora* (*Ea*) inoculum in four treatments, action and temperature threshold for *Ea*, relative humidity and average daily temperature during the bloom period of apple (*Malus sylvestris* var. *domestica*) cv. Golden delicious, Cuauhtémoc, Chihuahua, Mexico. 2006-2007.

risk values for two days in 2006, twelve with average risk, 15 with high risk levels and zero days with the necessary requirements for the infection to take place, basically because of an absence of pluvial precipitation during this period. In the 2007 flowering process, seven days were accounted for low risk levels, 16 with average risk, six with high risk and zero with infection (Fig. 2). This result is a direct derived of temperature decrease during flowering phase in this last cycle, since temperature is a bacterium multiplying regulator and *Ea* dispersion from flower to flower by means of its effect on insect mobility (Johnson *et al.*, 2004).

**Antibiotics sprays.** In 2006, the detection system for *Ea* programmed three aspersions on April 15<sup>th</sup>, 25<sup>th</sup>, and 30<sup>th</sup>; the MB model did not recommend antibiotics sprays and the combination of both, determined by MB infection risk, did not determined sprays either. The cost of aspersions regarding the treatment where they were performed was \$1526.00 pesos per ha, an EIQ of 6.73 units and one damaged flower cluster every ten trees (Table 1). A spray was performed on April 10<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> 2007, with the *Ea* detection system on stigmas; once again the rest of the treatments remained without sprays. The sprays cost was \$1024.00 pesos per ha, with an environmental impact quotient of 4.48 units with no damaged clusters in ten evaluated trees (Table 1). As indicated by the results, in a semi-arid region such as the apple growing area from the state of Chihuahua, *Ewinia amylovora* is a common pathogen in its epiphyte state (Pussey, 1996); nevertheless, it does not necessarily produce consistent epidemics under natural conditions. Some countries have even considered that the presence of antagonists may cause a similar situation (Kearns and Hale, 1995), although they are only based on the presence of known antagonist bacterium, which inactivate *Ea* growth over stigma surface (Anderson *et al.*, 2004; El-Masry *et al.*, 1997). Whenever this type of bacteria has been utilized in the Chihuahua apple region and the conditions have been favorable for infection, the damage turns over five percentage points where Streptomycin Sulfate and Oxytetracycline have been spray (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003); similar results have been reported by other studies (Sundin *et al.*, 2009). Based on the method of flower stigma presence, the experimental results allow to draw attention to the fact that bacteria handling leads to an unnecessary use of antibiotics, the possibility of resistance generation, which is beginning to turn rather frequent (Breth, 2008; Bogs *et al.*, 2004; Kleitman *et al.*, 2005; McManus *et al.*, 2002; Spinelli *et al.*, 2004; Spinelli *et al.*, 2007). Despite the MB model does not condition handling actions to bacteria presence (it is assumed by the model that the inoculum is always there, a situation which was not consistent in both cycles), it actually programmed the lack of action properly during the two evaluation cycles, as well as the action when the infection was defined in previous cycles (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). Due to the fact that the rain is the most important factor for *Ea* to descend to the flower nectary and have the infection produced, the low pluvial precipitation occurrence in Northern Mexico, particularly in Chihuahua, during apple tree blooming, the disease becomes more likely suitable to be controlled. It has been estimated a 5.3 mm average rainfall for



de infección generado por el MB, indicó que en el 2006 se presentaron dos días con riesgo bajo, 12 con riesgo medio, 15 con riesgo alto y cero días con los requisitos necesarios para que la infección se llevara a cabo, básicamente debido a la ausencia de precipitación pluvial durante este período. Para la floración del año 2007 se contabilizaron siete días con riesgo bajo, 16 con riesgo medio, seis con riesgo alto y cero días con infección (Figura 2). Este resultado es un derivado directo del descenso de la temperatura durante el estadio de floración en este último ciclo, ya que la temperatura es el regulador de la multiplicación de la bacteria y de la dispersión de flor a flor de *Ea* mediante su efecto sobre la movilidad de los insectos (Johnson *et al.*, 2004).

**Aplicación de antibióticos.** En el ciclo 2006, el sistema de detección de *Ea* programó tres aspersiones los días 15, 25 y 30 de abril; el modelo MB no recomendó aspersiones de antibióticos y la combinación de ambos determinada por el registro de infección del MB tampoco determinó aspersiones. El costo de las aspersiones, en el tratamiento donde se realizaron fue de \$1526.00 pesos por hectárea, propiciando un coeficiente de impacto ambiental de 6.73 unidades y un racimo floral dañado en cada 10 árboles (Cuadro 1). En 2007, con el sistema de detección de *Ea* en estigmas se asperjó los días 10 y 17 de abril, nuevamente los otros tratamientos quedaron sin aspersiones. El costo de las aspersiones fue de \$1024.00 pesos por hectárea, con un coeficiente de impacto ambiental de 4.48 unidades sin racimos dañados por cada 10 árboles evaluados (Cuadro 1). Los resultados obtenidos indican que en una región semiárida, como la zona productora de manzana del estado de Chihuahua, *Ewinia amylovora* es un patógeno común en su estado epífita (Pussey, 1996); sin embargo, no necesariamente produce epidemias

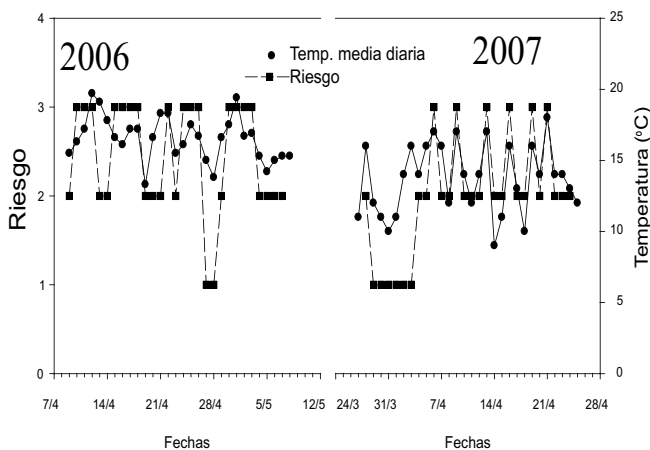


Fig. 2. Riesgo de Infección definido por el modelo MARYBLTY y temperaturas medias diarias durante el estadio de floración de manzano (*Malus sylvestris* var. *domestica*) cv. Golden Delicious. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. 2006-2007. (1=bajo; 2=medio; 3=alto; 4=infección).

Fig. 2. Infection risk defined by the model MARYBLTY and average daily temperatures during the bloom period of apple (*Malus sylvestris* var. *domestica*) cv. Golden Delicious. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. 2006-2007. (1= low; 2= middle; 3=high; 4=infection).

March and a 6.2 mm for April during the 1961-2003 period (Medina-García *et al.*, 2006), amounts indicating a rather few days for infection possibilities, and becoming even lower during rainfall days and an average daily temperature lower than 15.6°C. The highest efficiency characteristic of the MB model comes from its ability to determine only the beginning of the infective process under rain presence. Facing its absence, it is only required to prevent irrigation during apple tree flowering (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). The highest risk of damage derived from fire blight disease by raining conditions in Golden Delicious cultivar was 16 % from all the flowers, taking into consideration that the flowers that support the bacterium growth are 1 to 4 days old (Thomson and Gouk, 2003), and that this cultivar opens the flowers at a rhythm of 4% a day (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2008). Regarding the Red Delicious cultivar, the potential damage becomes increased to 24% because the flower

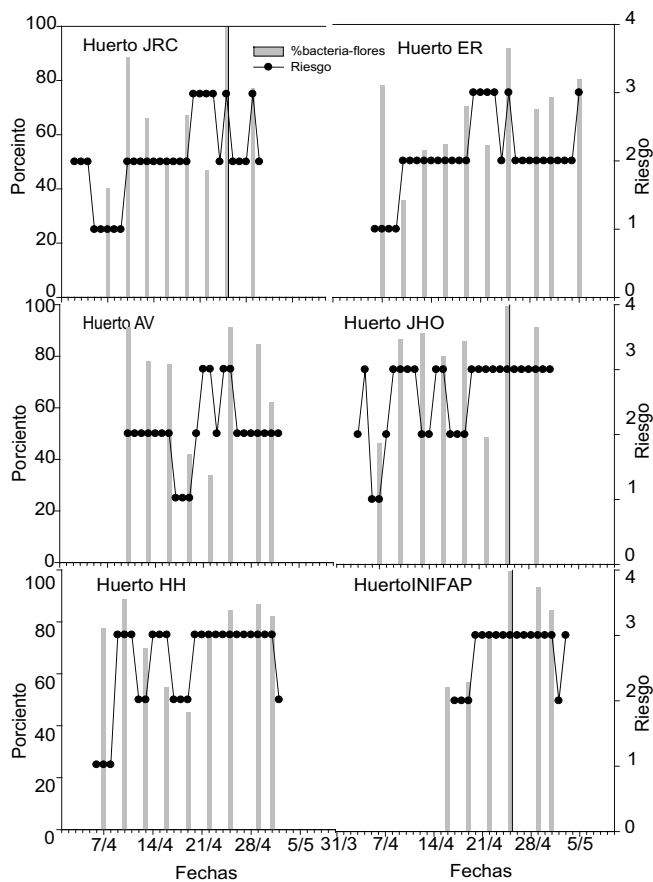


Fig. 3. Porcentaje de flores de manzano con inóculo de *Erwinia amylovora* (*Ea*) en seis huertos de manzano (*Malus sylvestris* var. *domestica*) cv Golden Delicious y riesgo de infección durante el estadio de floración. Canatlán, Durango, México. 2008. (1=bajo; 2=medio; 3=alto; 4=infección).

Fig. 3. Apple flowers percentage with *Erwinia amylovora* (*Ea*) inoculum and infection risks during the bloom period in six apple orchards (*Malus sylvestris* var. *domestica*) cv. Golden Delicious. Canatlan, Durango, Mexico. 2008. (1= low; 2= middle; 3= high; 4= infection).

Cuadro 1. Número de aplicaciones de antibióticos, costo de las mismas, coeficiente de impacto ambiental (CIA) y daño registrado en cuatro tratamientos para el manejo del tizón de fuego (*Erwinia amylovora*) en manzano (*Malus sylvestris* var. *domestica*). Cuauhtémoc, Chihuahua. 2006-2007.

Table 1. Antibiotics sprays, their cost, Environmental Impact Quotient (EIQ) and registered damage in four treatments for fire blight (*Erwinia amylovora*) management in apple tree (*Malus sylvestris* var. *domestica*). Cuauhtémoc, Chihuahua. 2006-2007.

Tratamiento	Aspersiones		Costo (\$/ha <sup>-1</sup> )		CIA		Daño (racimos dañados)	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
<i>Ea</i> en estigmas	3	2	1526	1024	6.73	4.48	1	0
Variables de clima	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Ea</i> estigmas+clima	0	0	0	0	0	0	1	0
Testigo	0	0	0	0	0	0	3	0

necesariamente produce epidemias constantes bajo condiciones naturales. En ciertos países se ha considerado que la presencia de antagonistas pueden provocar una situación similar (Kearns y Hale, 1995), aunque solamente basados en la presencia de bacterias antagonistas conocidas, las cuales inactivan el crecimiento de *Ea* sobre la superficie de los estigmas (Anderson *et al.*, 2004; El-Masry *et al.*, 1997). En la región manzanera de Chihuahua, cuando se ha utilizado este tipo de bacterias y las condiciones son favorables para la infección, el daño es superior en cinco puntos porcentuales a donde se ha aplicado Sulfato de Estreptomocina y Oxitetraciclina (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003), otros estudios indicaron respuestas similares (Sundín *et al.*, 2009). Los resultados experimentales permiten señalar que el manejo de la bacteria, fundamentado en el método de presencia sobre los estigmas de la flor, lleva a un excesivo e innecesario uso de antibióticos, adicionando al gasto la posibilidad de generar resistencia y la cual es cada vez más frecuente (Breth, 2008; Bogs *et al.*, 2004; Kleitman *et al.*, 2005; McManus *et al.*, 2002; Spinelli *et al.*, 2004; Spinelli *et al.*, 2007). Aunque el modelo MB, no condiciona las acciones de manejo a la presencia de la bacteria (el modelo asume que el inóculo siempre existe, situación que coincidió en ambos ciclos), programó la no acción de manera adecuada durante estos dos ciclos de evaluación, así como la acción cuando se definió la infección en ciclos anteriores (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). Debido a que la lluvia es el factor de mayor importancia para que *Ea* descienda al nectario de la flor y se produzca la infección, la baja ocurrencia de precipitación pluvial en el norte de México, particularmente de Chihuahua, durante la floración del manzano, facilita el manejo de la enfermedad. En el período 1961-2003 se ha estimado un promedio de lluvias de 5.3 mm para el mes de marzo y de 6.2 mm para abril (Medina-García *et al.*, 2006), cantidades que indican pocos días con posibilidades de infección, reduciéndose éstas en aquellos días con lluvia y temperatura media diaria inferior a los 15.6°C. La mayor eficiencia del modelo MB, parte de que solamente determina el inicio del proceso infectivo bajo la presencia de lluvia. Ante la

opening rhythm is 6% a day (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2008).

**Validation in 2008.** High *Ea* presence percentages were registered by the results derived from the validation performed in Canatlan, Durango, Mexico (Fig. 3). Similar to Chihuahua, the bacteria presence was confirmed in all the orchards, with the possibility of *Ea* being a common component of apple production systems in Northern Mexico. The lowest percentage revealed of naturally inoculated flowers was 35.5%, provided that the highest was 100%. Different risk behaviors in each one of the orchards can be appreciated in Figure 3. A pest integrated management proposal with regards to be carried on per production unit is the philosophy to the fire blight management; or else, if the production unit is too big, making it by fractions (Poe, 1981). The frequent *Ea* occurrence in both Chihuahua and Durango orchards, allows to point out that inoculums presence is more likely to take place than its absence, making the use of the MB model possible, since the consistent inoculums presence is considered by it (Kritzman *et al.*, 2003). The days with the highest risk ranged from 4 to 18, while the medium risk revealed a variation of 4 to 20 days, having a low risk from 0 to 4. It was detected an average of high risk being of 10.6 days, medium risk 11.6 and only 2.6 with low risk. The average of high risk days in Chihuahua was 10.5, medium risk was 14 and low risk was 4.5; these differences could have been due to daily average temperatures differences from each region, especially concerning the medium and low risk days. Once again, same as in Chihuahua, the flowers clusters damage ranged between 0 and 1 in the sample trees per orchard having no antibiotic sprays performed at all. Results obtained from the Chihuahua apple region can be applied in Canatlan, Durango, as indicated by the evaluations performed.

**Statistic comparison among years.** The results permitted to point out that the flower bacteria occurrence percentage was statistically different for the years 2006, 2007 and 2008 (Table 2). The accumulated proportion of *Ea* inoculated flowers was related in a none lineal form with the number of days beginning on April 1<sup>st</sup>, significantly describing itself with the Weibull modified model (Table 3). The highest increase rate of *Ea* infected flowers was detected for Canatlan, with 0.0348 units in 2008, while in Cuauhtémoc the rates revealed were 0.0169 for 2007 and 0.0277 for 2006; the differences were significant.

## CONCLUSIONS

The determination of *Ea* presence over Apple tree flower stigmas may be important from a diagnostic point of view; however, its utilization as an aid for the decisions to make may cause unnecessary antibiotic sprays, leading *Ea* populations towards a premature resistance. It was allowed by the disease management based on climate variables during the three years of study to make the right decisions in order to reach insignificant damage levels. The management scheme by means of climate variables must come together with the irrigation absence during the bloom stage, or it shall lose effectiveness otherwise. Relative humidity presence lower than 54% did not generate relevant infections without rain.

## LITERATURACITADA

Anderson, L.M., Stockwell, V.O., and Loper, J.E. 2004. An



Cuadro 2. Valor en por ciento de la mediana de flores de manzano (*Malus sylvestris* var. *domestica*) con *Erwinia amylovora* las localidades de Cuauhtémoc, Chihuahua (2006 y 2007) y Canatlán, Durango (2008), México.

Table 2. Percentage of apple tree (*Malus sylvestris* var. *domestica*) flower median with *Erwinia amylovora* in Cuauhtemec, Chihuahua (2006 and 2007) and Canatlan, Durango (2008), Mexico.

Año	Mediana
2006	46.25 a
2007	5.00 b
2008	77.00 c

Valores con misma letra son estadísticamente iguales con 95% de confianza.

ausencia de ésta, sólo se tiene que evitar el riego durante la floración del manzano (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2003). El riesgo máximo de daño por tizón de fuego por evento de lluvia en el cultivar Golden Delicious fue del 16% del total de las flores, considerando que las flores que soportan el crecimiento bacteriano son aquellas que tienen una edad de 1 a 4 días (Thomson y Gouk, 2003), y que este cultivar abre las flores a un ritmo del 4% por día (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2008). En el cultivar Red Delicious el daño potencial se eleva al 24%, ya que el ritmo de apertura floral es el 6% por día (Ramírez-Legarreta *et al.*, 2008).

**Validación en el 2008.** Los resultados de la validación realizada en Canatlán, Durango registraron porcentajes de presencia de *Ea* más elevados (Figura 3). Similar a lo obtenido en Chihuahua, en todos los huertos fue corroborada la presencia de la bacteria, resaltando la posibilidad de que *Ea* sea un componente común de los sistemas de producción de manzana del norte de México. El porcentaje más bajo de flores inoculadas de forma natural encontrado fue de 35.5%, en tanto que el más alto fue de 100%. La Figura 3 permite observar diferentes comportamientos del riesgo en cada uno de los huertos. La propuesta operativa del manejo integrado del tizón de fuego, mantiene la filosofía del manejo integrado de plagas en cuanto a que debe de efectuarse por unidad de producción, o bien, si está es demasiado grande, por fracciones de la misma (Poe, 1981). La ocurrencia frecuente de *Ea* en huertos de Chihuahua y Durango, permite señalar que es más probable la presencia del inóculo que su ausencia, posibilitando el uso del modelo MB dado que éste considera la presencia constante de inóculo (Kritzman *et al.*, 2003). Los días con riesgo alto fluctuaron entre 4 y 18, en tanto que los de riesgo medio tuvieron una variación de 4 a 20, y los de bajo riesgo de 0 a 4. En promedio, se detectó que los días con riesgo alto fue de 10.6 días, 11.6 días con riesgo medio y solamente 2.6 días con riesgo bajo. El promedio de los días con riesgo alto en Chihuahua fue de 10.5, 14 con riesgo medio y 4.5 en riesgo bajo; estas diferencias pudieron ser ocasionadas por las diferencias en las temperaturas medias diarias ocurridas en cada región, sobre todo en lo que respecta a los días con riesgo bajo y medio. Nuevamente como sucedió en Chihuahua, el daño de racimos florales osciló entre 0 y 1 en los árboles muestreados por huerto y no se realizó aspersión alguna de antibióticos. Las evaluaciones

Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* inactivates antibiotics of *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology* 94: 1228-1234.

- Biggs, A.R., Turecheck, W.W., and Woldwald, T.R. 2008. Analysis of fire blight shoot infection epidemics on apple. *Plant Diseases* 92:1349-1356.
- Billing, E. 1980. Fire blight (*Erwinia amylovora*) and weather: A comparison of warming systems. *Annals of Applied Biology*. 95: 365-377.
- Bogs, J., Richter, K., Kim, W.-S., Jock, S., and Geider, K. 2004. Alternative methods to describe virulence of *Erwinia amylovora* and host plant resistance against fire blight. *Plant Pathology* 53:80-89.
- Breth, D.I. 2008. Managing fire blight in new Apple plantings. *New York Fruit Quarterly* 16:9-11.
- Dewdney, M.M., and Aldwinckle, H.S. 2008. Blossom blight epidemiology. *New York Fruit Quarterly* 16:17-21.
- El-Masry, M.H., Brown, T.A., Epton, H.A.S., and Sigeo, C. 1997. Transfer from *Erwinia herbicola* to *Escherichia coli* of a plasmid associated with biocontrol of fire blight. *Plant Pathology* 46:865-870.
- Gouk, S.C., and Thomson, S.V. 2006. Influence of the rain on the transient populations of *Erwinia amylovora* on leaf surfaces. *Acta Horticulturae (ISHS)* 704:113-120.
- Ishimaru, C., and Klos, E.J. 1984. A new medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiology studies. *Phytopathology* 74:1342-1345.
- Johnson, K.B., Stockwell, V.O., McLaughlin, M.J., Sugar, D., Loper, J.E., and Roberts, R.G. 1993. Effect of bacterial antagonists on establishment of honey bee-dispersed *Erwinia amylovora* in pear blossoms and on fire blight control. *Phytopathology* 83:995-1002.
- Johnson, K.B., Stockwell, V.O., and Sawyer, T.L. 2004. Adaptation of fire blight forecasting to optimize the use of biological controls. *Plant Disease* 88:41-48.
- Kearns, L.P. and Hale, C.N. 1995. Incidence of bacteria inhibitory to *Erwinia amylovora* from blossoms in New Zealand apple orchards. *Plant Pathology* 44:918-924.
- Kleitman, F., Shtienberg, D., Blashinsky, D., Oppenheim, D., Ziberstein, M., Dror, O., and Manulis, S. 2005. *Erwinia amylovora* populations resistant to oxilinic acid in Israel: prevalence, persistence and fitness. *Plant Pathology* 54:108-115.
- Kovach, J., Peztdolt, C., Degni, J., and Tette, J. 1992. A method to measure the environmental impact of pesticides. *New York's Food and Life Sciences. Bulletin No. 139.* Cornell University, Ithaca, New York, USA. 8 p.
- Kritzman, G., Shwartz, H., Marcus, R., Manulis, S., Kleitman, F., Oppenheim, D., Zilberstaine, M., and Shtienberg, D. 2003. Testing a rapid diagnostic medium for *Erwinia amylovora* and development of a procedure for sampling blossoms in pear orchards. *Phytopathology* 93:931-940.
- Lindow, S.E., and Suslow, T.V. 2003. Temporal dynamics of the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* Strain A506 in flowers in inoculated pear trees. *Phytopathology* 93:727-737.
- McManus, P.S., Stockwell, V.O., Sundin, G.W., and Jones, A. 2002. Antibiotic use in plant agriculture. *Annual Review of*

Cuadro 3. Parámetros del modelo modificado de Weibull y bondad de ajuste para la descripción del porcentaje de flores de manzano (*Malus sylvestris* var. *domestica*) con *Ea* acumuladas a través del tiempo y en diferentes años y localidades. Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

Table 3. Weibull modified model parameters and adjustment kindness for the description of apple tree flower percentage (*Malus sylvestris* var. *domestica*) with accumulated *Ea* throughout time and in different years and locations. Cuauhtémoc, Chihuahua, Mexico.

Año	Modelo Weibull	Coefficiente de forma de la curva	Tasa de acumulación (1/b)	Coefficiente de variación del ajuste (%)	R <sup>2</sup>	Valor $\alpha$
2006	$Y=1-e^{-t/36.08}^{1.9252}$	1.9252	0.0277162 b	13.41	0.94	0.001
2007	$Y=1-e^{-t/58.86}^{1.9252}$	1.9213	0.0169894 a	14.21	0.98	0.001
2008	$Y=1-e^{-t/28.69}^{1.6705}$	1.6705	0.0348518 c	3.66	0.99	0.001

Valores con misma letra son estadísticamente iguales con 95% de confianza.

realizadas indicaron que los resultados obtenidos en la región manzanera de Chihuahua son aplicables en Canatlán, Durango.

**Comparación estadística entre años.** Los resultados permitieron señalar que el porcentaje de ocurrencia de la bacteria en flores fue estadísticamente diferente para los años 2006, 2007 y 2008 (Cuadro 2). La proporción acumulada de flores con *Ea* se relacionó de forma no lineal con el número de días a partir del primero de abril, describiéndose de manera significativa con el modelo modificado de Weibull (Cuadro 3). La mayor tasa de incremento de flores con *Ea* se detectó para Canatlán, con 0.0348 unidades durante el 2008, mientras que en Cuauhtémoc las tasas fueron de 0.0169 para el 2007 y de 0.0277 para el 2006, las diferencias fueron significativas (Cuadro 3).

## CONCLUSIONES

La determinación de la presencia de *Ea* sobre los estigmas de la flor de manzano puede ser importante desde el punto de vista de diagnóstico, sin embargo su utilización como auxilio en la toma de decisiones puede provocar aspersiones de antibióticos innecesarias y llevar a las poblaciones de *Ea* hacia una resistencia prematura. El manejo de la enfermedad fundamentado en variables de clima, permitió durante los tres años de estudio tomar decisiones adecuadas y obtener niveles de daño insignificantes. El esquema de manejo mediante variables de clima debe de ir acompañado de la ausencia del riego durante floración, de lo contrario pierde su efectividad. La presencia de humedades relativas inferiores al 54% no generaron infecciones importantes en ausencia de lluvia.

Phytopathology 40:443-465.

- Medina-García, G., Díaz-Padilla, G., Berzoza-Martínez, M., Silva-Serna, M.M., Chávez-Silva, A.H. y Baez-González, A.D. 2006. Estadísticas climatológicas básicas del estado de Chihuahua (período 1961-2003). Libro Técnico No. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. México, D.F. 235 p.
- Medina-García, G., Díaz-Padilla, G., López-Hernández, J., Ruiz-Corral, J.A., y Marín-Silva, M. 2005. Estadísticas climatológicas básicas del estado de Durango (período 1961-2003). Libro Técnico No. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. México, D.F. 230 p.
- Norelli, J.L., Jones, A.L., and Aldwinckle, H.S. 2003. Fire blight management in the Twenty-first century: using new technologies that enhance host resistance in apple. *Plant Disease* 87:756-765.
- Ockey, S.C., and Thomson, S.V. 2006. Influence of rain on the transient populations of *Erwinia amylovora* on leaf surfaces. *Acta Horticulturae* (ISHS) 704:113-120
- Pennypacker, S.P., Knoble, H.D., Antle, C.E., and Madden, L.V. 1980. A flexible model for studying plant disease progression. *Phytopathology* 70:232-235.
- Perrin, R.K., Winkelman, D.L., Mascaroli, E.R. y Anerson, I.R. 1979. Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. 2ª impresión. CIMMYT, México, D.F. 545 p.
- Poe, S.L. 1981. An overview of integrated pest management. *HortScience* 16: 501-506.
- Pussey, P.L. 1996. Crab Apple blossom as a model for research on biological control of fire blight. *Phytopathology* 87:1096-1102.
- Ramírez-Legarreta, M.R. y Jacobo-Cuéllar, J.L. 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noroeste de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:168-173.
- Ramírez-Legarreta, M.R., Jacobo-Cuéllar, J.L., Ávila-Marioni, M.R., Gutiérrez-González, R. y Parra-Quezada, R.A. 2003. Toma de decisiones con base a prácticas recomendadas para el manejo del tizón de fuego del manzano en la Sierra de Chihuahua. Folleto Técnico No. 6. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. 43 p.
- Ramírez-Legarreta, M.R., Jacobo-Cuéllar, J.L., Ávila-Marioni, M.R. y Parra-Quezada, R.A. 2004. Eficiencia del uso de plaguicidas en huertos de manzano [*Malus sylvestris* (L.) Mill. Var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] en Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:403-413.
- Ramírez-Legarreta, M.R., Jacobo-Cuéllar, J.L., Gardea-Béjar, A.A. y Parra-Quezada, R.A. 2008. Modelo de desarrollo floral en manzanos [*Malus sylvestris* (L.) Mill. Var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] Red Delicious y Golden Delicious como herramienta de toma de decisiones en el manejo integrado de enfermedades. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26:153-163.
- Shtienberg, D., Shwartz, H., Oppenheim, M., Ziberstaine, M., Herzog, S., Manulis, S., and Kritzman, G. 2003. Evaluation of local and imported fire blight warning systems in Israel.

- Phytopathology 93:356-363.
- Steiner, P.W., and Lightner, G., 1996. MARYBLYT™ 4.3. A predictive program for forecasting fire blight disease in apples and pears. Gempler's Inc. Belleville, WI, USA. 53 p.
- Spinelli, F., Vanneste, J.L., Ciampolini, F., Cresti, M., Rademacher, W., Geider, K., and Costa, G. 2007. Potential and limits of acylcyclohexanoides for the control of blossom blight in apple and pear caused by *Erwinia amylovora*. Plant Pathology 56:702-710.
- Spinelli, F., Vanneste, J.L., Cornish, D., Yu, J., and Costa, G. 2004. Growth-regulating acylcyclohexanoides, trinexapac-ethyl and prohexadione-calcium, decrease blossom blight incidence in pome fruit. Acta Horticulturae (ISHS) 704: 245-248
- Sprent, P., and N. C. Smeeton. 2001. Applied Nonparametric Statistical Methods. 3<sup>rd</sup> edit. Text in Statistical Science. Chapman & Hall. CRC. Boca Raton, Florida, USA. 461 p.
- Sundin, G.W., Werner, N.A., Yoer, K.S., and Aldwinckle, H.S. 2009. Field evaluation of biological control of fire blight in the Eastern United States. Plant Disease 93:386-394
- Thomson, S.V. 1986. The role of the stigma in fire blight infections. Phytopathology 76:476-482.
- Thomson, S.V., and Gouk, S.C. 2003. Influence of age of apple flowers on growth of *Erwinia amylovora* and biological control agents. Plant Disease 87:502-509.
- Thomson, S.V., Hansen, D.R., Flint, K.M., and Vandenberg, J.D. 1992. Dissemination of bacteria antagonistic to *Erwinia amylovora* by honey bees. Plant Disease 76:1052-1056.
- Thomson, S.V., and Ockey, S.C. 2003. Using real time PCR and stigma imprinting to expedite the detection of *Erwinia amylovora* on the stigmas of pear and apple flowers for improved timing of fire blight control. Annual Report 2003. Department of Biology. Utah State University, Logan, Utah, USA 25 p.
- Thomson, S.V., Schroth, M.N., Moller, W.J., and Reil, W.O. 1982. A forecasting model for fire blight of pear. Plant Disease 66: 576-579.
- Van der Zwet, T., and Keil, H.L. 1979. Fire blight. A bacterial disease of rosaceous plants. Unites States Department of Agriculture. Handbook 510. Washington, D.C. USA. 200p.