

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**Susceptibilidad al mildiu de variedades de vid PIWI a
campo bajo diferentes manejos fitosanitarios y en
laboratorio en condiciones controladas**

por

**Silvia GÓMEZ OJEDA
Dahiana MOREIRA MARENALES**

**Trabajo final de grado
presentado como uno de los
requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2023**

Trabajo final de grado aprobado por:

Director/a: _____

Ing. Agr. Dr. Maximiliano Dini

Dra. Agr. Diana Valle López

Ing. Agr. Dra. Sandra Alaniz Ferro

Tribunal:

Dra. Agr. Diana Valle López

Ing. Agr. Dra. Sandra Alaniz Ferro

Ing. Agr. Dr. Gerardo Echeverría

Fecha: 26 de Junio de 2023

Estudiantes: _____

Dahiana Elizabeth Moreira Marenales

Silvia Evangelina Gómez Ojeda

AGRADECIMIENTOS

Habiendo llegado a esta instancia final de la carrera nos gustaría plantear un agradecimiento a:

- Ing. Agr. Maximiliano Dini y Dr. Agr. Diana Valle, por su paciente acompañamiento y orientación durante todo el trabajo, además de permitirnos llevar a cabo el mismo dentro del campo experimental INIA Las Brujas.
- Dra. Ing. Agr. Sandra Alaniz, quien aportó su conocimiento durante nuestra formación y en este trabajo.
- Laboratoristas y personal de campo de la estación INIA Las Brujas que apoyaron y colaboraron durante el proceso.
- A nuestros familiares, amigos y compañeros de estudio por su apoyo y solidaridad durante todos los años de carrera.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	7
SUMMARY.....	8
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	9
1.1. HIPÓTESIS.....	10
1.2. OBJETIVO GENERAL.....	10
1.2.1 <u>Objetivos específicos</u>	10
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	11
2.1. LA VITICULTURA EN URUGUAY.....	11
2.2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE LA VID.....	12
2.3. MILDIU DE LA VID.....	13
2.3.1. <u>Mildiu de la vid en Uruguay</u>	15
2.4. MANEJO INTEGRADO DEL MILDIU.....	15
2.4.1. <u>Manejo cultural</u>	16
2.4.2. <u>Control químico</u>	16
2.4.3. <u>Resistencia genética</u>	17
2.4.3.1. Retrocruzamiento.....	18
2.4.3.2. Marcadores moleculares (SSR).....	18
2.4.3.3. Resistencia a <i>Plasmopara viticola</i> (genes <i>Rpv</i>).....	18
2.4.3.4. Interacción mildiu - variedad PIWI.....	22
2.4.3.5. Variedades PIWI en estudio en INIA Las Brujas, Uruguay.....	22
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	25
3.1 EVALUACIÓN DEL MILDIU DE LA VID EN VARIEDADES PIWI A CAMPO.....	25
3.1.1. <u>Ubicación temporal y espacial</u>	25
3.1.2. <u>Material vegetal</u>	27
3.1.3. <u>Diseño experimental</u>	29
3.1.4. <u>Variables evaluadas</u>	30
3.2. ENSAYO DE LABORATORIO.....	31
3.2.1. <u>Material vegetal</u>	31
3.2.2. Preparación del inóculo y desarrollo del ensayo.....	31
3.2.2.1. Aumento del inóculo.....	31
3.2.2.2. Ensayo en placas.....	34

3.2.3. Diseño experimental del ensayo de laboratorio	34
3.2.4. <u>Evaluación</u>	34
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	36
4.1. ENSAYO A CAMPO.....	36
4.1.1. Susceptibilidad al mildiu en variedades PIWI bajo un manejo integrado con bajo uso de fungicidas para control del mildiu.....	36
4.1.2. Susceptibilidad al mildiu de la vid en variedades PIWI bajo un manejo integrado con aplicación de fungicidas para su control	38
4.2. ENSAYO EN LABORATORIO, HOJA DESPRENDIDA.....	40
5. <u>CONCLUSIONES</u>	43
6. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	44

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla No.	Página
Tabla No. 1. Lista de loci Rpv en estudio	21
Tabla No. 2. Características generales de las variedades PIWI que se encuentran en estudio en la estación experimental del INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay	23
Tabla No. 3. Registro de aplicaciones de fitosanitarios para el control del mildiu de la vid en los cuadros C3 y C4	29
Figura No.	Página
Figura No. 1. Ciclo patológico del mildiu de la vid producido por <i>Plasmopara viticola</i>	14
Figura No. 2. Diagrama del manejo integrado del mildiu en el cultivo de la vid. .	15
Figura No. 3. Observación visual de niveles de resistencia para uno y múltiples loci	19
Figura No. 4. Ubicación del ensayo a campo Estación Experimental Wilson Ferreira Aldunate sede de INIA Las Brujas, Rincón del Colorado, Canelones. .	25
Figura No. 5. Humedad relativa diaria media (%) y temperatura diaria media (°C) para INIA Las Brujas, Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay, zafra 2021-2022	26
Figura No. 6. Precipitaciones (mm) para INIA Las Brujas, Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay, zafra 2021-2022.	27
Figura No. 7. Distribución de las variedades dentro de los cuadros C3 y C4.	28
Figura No. 8. Escala de severidad de mildiu utilizada como referencia para la evaluación de la enfermedad a campo.	30
Figura No. 9. Protocolo de inoculación utilizado	33
Figura No. 10. Incidencia del mildiu sobre variedades PIWI evaluada en el cuadro que presenta un manejo integrado con bajo uso de fungicidas dirigidos al control del mildiu de la vid (C3)	36
Figura No. 11. Severidad del mildiu de la vid sobre variedades PIWI evaluada en el cuadro que presenta un manejo integrado con bajo uso de fungicidas dirigidos al control del mildiu de la vid (C3)	38
Figura No. 12. Incidencia del mildiu sobre variedades PIWI bajo manejo integrado con aplicación de fungicidas (C4)	39
Figura No. 13. Severidad del mildiu de la vid sobre variedades PIWI en cuadro con manejo integrado y con aplicación de fungicida para el control del mildiu de la vid (C4)	40
Figura No. 14. Severidad del mildiu en variedades PIWI evaluadas en hojas desprendidas en placas de petri.	41

RESUMEN

El mildiu de la vid (*Plasmopara viticola*) es una de las principales enfermedades fúngicas que ataca a este cultivo, principalmente en regiones con ocurrencia de precipitaciones durante la estación de crecimiento. El manejo de esta enfermedad requiere realizar numerosas aplicaciones de productos químicos, generando aumento de costos además del consecuente impacto ambiental. En las últimas décadas se han creado variedades de vid resistentes a enfermedades fúngicas conocidas como PIWI. Estas se caracterizan por mantener un alto porcentaje del genoma de *Vitis vinifera*, preservando los genes mayores de resistencia provenientes de vides americanas o asiáticas, manteniendo la aptitud enológica. El objetivo de este estudio fue evaluar la susceptibilidad de 8 variedades PIWI al mildiu de la vid en las condiciones de producción de Uruguay y bajo diferentes manejos. Las variedades evaluadas fueron cinco de uva blanca (Fleurtai, Soreli, Sauvignon Kretos, Sauvignon Nepis y Sauvignon Rytos) y tres de uva tinta (Cabernet Volos, Julius y UD 72-096), todas provenientes del Vivai Cooperativi Rauscedo, Udine, Italia. Este grupo de variedades, en su mayoría, con resistencia monogénica a *P. viticola* contienen los loci de resistencia *Rpv* 3 o *Rpv* 12. Solamente una de ellas presenta los dos loci en su genoma (Soreli). Los manejos fueron tres: dos en condiciones de campo, el primero con manejo integrado (C4) y el otro con uso reducido de fungicidas para el control de mildiu de la vid (C3); el tercero en condiciones de laboratorio sobre hoja desprendida. Los ensayos se realizaron en la Estación Experimental de INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay y las evaluaciones fueron realizadas durante la zafra 2021-2022. El diseño experimental en condiciones a campo fue de cuatro bloques completamente al azar (DBCA) y parcelas de seis plantas como unidad experimental. Se evaluó la incidencia y la severidad del mildiu de la vid de un pámpano de vigor medio, seleccionado al azar sobre las cuatro plantas centrales, en las hojas 5, 10, 15 y 20 contando desde el ápice. Para la severidad se utilizó una escala con seis categorías (0 a 5), en la cual 0 representó a una hoja sin síntomas, y 5 representó más del 75% del limbo de la hoja afectado por la enfermedad. Las variedades Cabernet Volos, Fleurtai, Julius, Sauvignon Kretos y Soreli resultaron ser las variedades PIWI que presentaron una menor severidad cuando se realizó un bajo uso de fungicidas para el control de esta enfermedad, todas portadoras del locus *Rpv* 12. En cambio, para el manejo con aplicación de fungicidas para el control del mildiu la severidad se mantuvo controlada en un rango bajo en todas las variedades. En condiciones de laboratorio el diseño experimental fue un diseño completamente al azar (DCA) con 40 placas como unidades experimentales, donde se evaluó la severidad como porcentaje de gotas infectadas. En este ensayo se observó que la severidad no superó el 50% en ninguna de las variedades, comprobando la resistencia conferida por el gen *Rpv*. La incorporación de variedades resistentes PIWI con un menor uso de productos fitosanitarios como parte del manejo integrado, permitiría mejorar la sustentabilidad ambiental y reducir los costos de producción manteniendo la calidad enológica.

Palabras Clave: resistencia, incidencia, severidad, *Plasmopara viticola*

SUMMARY

Downy mildew (*Plasmopara viticola*) is one of the most common fungal diseases that affect vine production, particularly in areas that get precipitation throughout the growing season. The management of this disease requires the use of several chemicals, resulting in higher expenses as well as an adverse environmental impact. Grape varieties known as PIWI have arisen in recent decades that are resistant to fungi-caused illnesses. These stand out due to their high *Vitis vinifera* genome content, preservation of the bigger resistance genes from American or Asian vines and oenological quality. The aim of this study was to evaluate the sensitivity of 8 PIWI cultivars to the downy mildew under various management and production situations in Uruguay. Five white grape varieties (Fleurtai, Soreli, Sauvignon Kretos, Sauvignon Nepis, and Sauvignon Rytos) and three black grape types (Cabernet Volos, Julius, and UD 72-096) were tested. All of the evaluated grape varieties came from the Vivai Cooperativi Rauscedo, Udine, Italy. Only one of the varieties in this group, which mostly possesses monogenic resistance to *P. viticola*, carries both resistance loci *Rpv* 3 and *Rpv* 12. (Soreli). There were three managements: two under field conditions, the first with integrated management (C4) and the other with reduced use of fungicides to control downy mildew (C3); the third under laboratory conditions on detached leaf. The evaluations were completed during 2021–2022, and the investigations were carried out at the Experimental Station INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay. Four totally random blocks (DBCA) with six-story plots served as the experimental unit in the field experiment. The incidence and severity of downy mildew of a medium vigor shoot were evaluated on four central plants, on the 5, 10, 15, and 20 leaves, counting from the shoot top. For severity, a six-category scale (0 to 5) was employed, with 0 representing no symptoms and 5 representing more than 75% of the leaf with symptoms. The PIWI cultivars Cabernet Volos, Fleurtai, Julius, Sauvignon Kretos, and Soreli all bore the locus *Rpv* 12 and showed a lesser severity when fungicides were used sparingly to control this disease. In contrast, when the integrated management were applied, severity was kept to a minimum in all the varieties. Under laboratory conditions, the experimental design was a totally randomized design (DCA) using 40 Petri dishes as experimental units, with severity measured as a percentage of infected droplets. The severity in this study never exceeded 50% in any of the varieties, confirming the resistance conferred by the *Rpv* gene. As part of integrated management, the introduction of resistant PIWI varieties with less usage of phytosanitary treatments brings enhanced environmental sustainability and lower production costs while retaining oenological quality.

Keywords: resistance, incidence, severity, *Plasmopara viticola*

1. INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis* spp.) es uno de los cultivos domesticados más antiguos del mundo, muy apreciada desde nuestros antepasados no solo por la obtención de fruta y del tan alabado vino, sino también por la importancia mercantil que permitía (trueque). Este cultivo ingresó a Uruguay gracias a Pascual Harriague y Francisco Vidiella próximo al año 1870 (Baptista, 2007).

Es un cultivo susceptible a enfermedades criptógamas, tales como la podredumbre gris causada por *Botrytis cinerea* y el mildiu de la vid causado por *Plasmopara viticola* (Boso et al., 2009). Estas enfermedades implican realizar numerosos controles culturales y químicos durante la temporada lo que genera aumento de costos por excesivo uso de fitosanitarios y su consecuente impacto ambiental, y mayor requerimiento de mano de obra en el manejo. Sobre estas limitantes es que se ha trabajado a nivel mundial para generar variedades de vid resistentes a éstos y otros patógenos, como es el caso de las variedades resistentes a enfermedades fúngicas conocidas como "PIWI" término que proviene del alemán "pilzwiderstandsfähig". Éstas se caracterizan por mantener un 85% o más del genoma de la especie *Vitis vinifera*, además de los genes de resistencia específica de vides americanas o asiáticas pudiéndose catalogar como variedades viníferas (Casanova et al., 2019).

Considerando que las variedades PIWI tienen diferente resistencia a mildiu dependiendo de su material genético, en este trabajo se procuró conocer el comportamiento de estas variedades en nuestro país frente al mildiu de la vid, considerada como una de las principales enfermedades provocadas por hongos que ataca el cultivo de la vid en el Uruguay, junto con la antracnosis (*Elsinoe ampelina*), la escoriosis (*Phomopsis viticola*), el oídio (*Uncinula necator*) y la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) (Bailetto Díaz, 2022; Moizo Beretta et al., 2001).

El presente trabajo busca responder a este objetivo analizando el comportamiento de diferentes variedades PIWI frente a la enfermedad causada por *P. viticola*. Para atender este objetivo, en primer lugar, se evaluó la incidencia y severidad de los hospederos con bajo uso de fitosanitario para el control del mildiu de la vid, con el fin de determinar la capacidad de respuesta de las plantas. En segundo lugar, se evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad en las mismas variedades PIWI, con la salvedad que las mismas fueron manejadas con aplicaciones de fitosanitarios durante la temporada. En tercer y último lugar, se evaluó la susceptibilidad al mildiu de hojas de las variedades PIWI en condiciones controladas *in vitro*.

De esta forma el presente trabajo busca aportar información relevante sobre el comportamiento de estas variedades frente a la infección por *P. viticola* y a su vez el comportamiento de estas insertadas en un esquema de manejo integrado del cultivo.

1.1. HIPÓTESIS

Las variedades PIWI presentan resistencia frente a la enfermedad de mildiu (*Plasmopara viticola*).

La resistencia es diferencial entre variedades PIWI según la presencia de los genes de resistencia *Rpv*.

1.2. OBJETIVO GENERAL

Conocer la susceptibilidad de diferentes variedades PIWI al mildiu de la vid causado por *Plasmopara viticola* en las condiciones de producción de Uruguay y bajo diferentes manejos.

1.2.1 Objetivos específicos

- a. Evaluar la susceptibilidad de variedades PIWI al mildiu de la vid en un viñedo bajo un manejo de producción integrada, que se mantiene con bajo uso de fungicida orientado al control de la enfermedad.
- b. Evaluar la susceptibilidad de variedades PIWI al mildiu de la vid en un viñedo, bajo un manejo de producción integrada (con aplicación de fungicidas).
- c. Evaluación de la susceptibilidad de las variedades PIWI al mildiu de la vid en condiciones controladas *in vitro*.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LA VITICULTURA EN URUGUAY

La vid pertenece a la familia de las vitaceae y se produce en casi 90 países en todo el mundo con la finalidad de obtener vino, jugo o uvas frescas de mesa o secas. Se trata de arbustos leñosos que trepan por medio de zarcillos opuestos a las hojas, característica que da nombre a la familia Vitaceae (del latín “viere” = unir). Plantas de hojas simples, zarcillos simples o bifurcados, flores actinomorfas, hermafroditas o unisexuales, pétalos de flores fusionados formando una caliptra, bayas blandas y carnosas son características morfológicas de esta especie (Keller, 2007; Laboratorio de Botánica, 2021).

Los registros indican que fueron familias de inmigrantes provenientes de la zona del mediterráneo, quienes trajeron consigo a nuestra región el vino y gran parte del conocimiento referente a él. Es así como el francés Pascual Harriague y el catalán Francisco Vidiella establecen los dos primeros viñedos comerciales del país alrededor del año 1870. Ese primer viñedo de Harriague se localizó en San Antonio Chico (departamento de Salto) y fue en el sur del país (Colón, Montevideo) donde Vidiella localizó el suyo. Allí no le llevó más de una década adaptar una primera variedad a nuestras condiciones climáticas. Desde ese entonces es que la viticultura en el Uruguay ha evolucionado de una manera tan favorable hasta alcanzar la situación que hoy se conoce, sin dejar de lado, por supuesto, que también ha sufrido altibajos en el correr del tiempo. Un ejemplo de esto fue la implicancia de la filoxera como insecto plaga a partir del año 1898 sobre el gran cambio que se vivió en el modelo productivo del país, donde se produjo una reconversión de viñedos pasando a implementar plantas sobre portainjertos de vides americanas que son resistentes a esta plaga (Baptista, 2007).

Considerando el Programa de Registro de Viñedos del Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI, 2021), 5966 hectáreas corresponden a la superficie total cultivada en Uruguay, comprendiendo 1183 viñedos vigentes de los cuales un muy alto porcentaje (91,5%) se ubican al sur de nuestro país. El tamaño de estos predominante se registra en el rango de superficie de entre 0 y 5 hectáreas, comprendiendo el 71,9% de los registrados. Para registros de ese mismo año, son las variedades Tannat (“Harriague”) y Moscatel de Hamburgo quienes encabezan la lista de variedades por orden de superficie, seguidas de Merlot, Ugni Blanc y Cabernet Sauvignon.

El rendimiento productivo de este cultivo es afectado por varios factores bióticos y abióticos. Las pérdidas productivas causadas por factores bióticos como plagas y enfermedades pueden ser muy significativas, pudiendo llegar fácilmente a un 50-75% de daño, o ser incluso totales si las condiciones ambientales son predisponentes como es el caso del mildiu de la vid (Agrios, 2007; Observatorio vitivinícola argentino, 2016). Para mitigar estas pérdidas se requieren aplicaciones de productos de síntesis para su control, siendo que esta estrategia productiva no es la más recomendada teniendo como meta una producción vitícola nacional sustentable.

Fomentar una viticultura respetuosa del medio ambiente forma parte de la viticultura sostenible, para esto se deben minimizar los riesgos en los trabajadores y familias del predio, considerando medidas culturales que disminuyan el impacto sobre el medio ambiente, reducir la utilización de productos de síntesis y fertilizantes químicos (Bodegas del Uruguay, 2022).

2.2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE LA VID

Existen muchas enfermedades asociadas al material vegetal que podrían ser transmisibles a través de la práctica del injerto, de ahí la importancia de procurar siempre un buen manejo sanitario durante la propagación de plantas. Considerando que la propagación se hace de forma vegetativa sería muy probable un aumento multiplicativo también de esas enfermedades si el manejo sanitario no fuese el correcto (Duran & Martelli, 1992).

Otro problema que recae tanto sobre plantas nuevas como adultas es el de las enfermedades fúngicas de la madera, son enfermedades que afectan progresivamente a la planta, a veces de maneras imperceptibles hasta la muerte, por presentar los síntomas de forma interna, afectando principalmente los haces vasculares (puntos necróticos, áreas oscuras, descomposiciones secas, etc.). Estas enfermedades son conocidas vulgarmente como yesca, eutipiosis, pie negro, enfermedad de Petri, entre otras, y es muy frecuente encontrarlas en conjunto sobre una misma planta aumentando la complejidad del problema y de la búsqueda de soluciones, si las comparamos con otras enfermedades que presentan cada una un agente causal definido (Armengol, 2017; Luke et al., 2014) y donde en algunos casos podemos visualizar las estructuras de fructificación del patógeno para su correcta identificación.

Según Del Moral de la Vega (2017) la primera enfermedad en ser problemática en gran parte de los viñedos alrededor del mundo fue el oídio (*Uncinula necator*), referenciado por primera vez en Estados Unidos en el año 1834. Luego, en 1878 se detecta en Francia el mildiu, enfermedad que dos años más tarde ya había invadido todas las vides europeas, pasando a ser la principal y más problemática enfermedad del cultivo de la vid en zonas húmedas y lluviosas.

En Uruguay la primera enfermedad registrada para la vid fue el oídio, publicada en la revista de la Asociación Rural del Uruguay (ARU) y fue tema de interés junto con la filoxera para los productores vitícolas hasta poco más del año 1880 cuando comienzan a tomar relevancia otras enfermedades como por ejemplo el mildiu de la vid y la antracnosis (*Elsinoe ampelina*) (Polakof, 2011).

Además de las nombradas anteriormente, en nuestro país pasan a tomar relevancia otras enfermedades como lo son excoriosis (*Phomopsis viticola*) y la Botritis o podredumbre gris (*Botrytis cinerea*). Este último es un hongo muy polífago de gran importancia en muchas especies cultivadas por la gran afección que produce, principalmente sobre especies fructíferas, pero es sobre la vid que causa las pérdidas económicas más importantes generando una afectación sobre las bayas que conllevan a una pérdida de calidad enológica (Marini, 2019). Las restantes enfermedades fúngicas son perjudiciales sobre los rendimientos

productivos, pero por afectar preferentemente el follaje y sarmientos del cultivo, siendo los racimos afectados en menor medida.

En nuestro país, se reporta también la presencia de algunos virus, como es el caso de GLRV (Grapevine Leaf Roll Virus), y el GFLV (Grapevine Fanleaf Virus), entre otros. Estos disminuyen el rendimiento de las plantas y la calidad de la fruta obtenida. Para estos virus se procura, desde el año 1993, que todas las plantas de vid vendidas posean un certificado de sanidad. Ya sea para las plantas importadas, como para todos los viveros nacionales registrados, en procura de que las plantas que lleguen a ser comercializadas se encuentren libres de ellos (Moizo Beretta et al., 2001).

2.3. MILDIU DE LA VID

El agente causal del mildiu de la vid es *P. viticola*, un Oomycete que afecta las hojas y las inflorescencias y posteriormente las bayas. Los síntomas iniciales consisten en manchas de borde irregular y de aspecto aceitoso en el haz en correspondencia con una esporulación blanca en el envés, adquiriendo luego forma de mosaico. En ataques intensos se produce desecamiento parcial o total de la hoja, pudiendo llegar a una defoliación prematura. Las inflorescencias afectadas toman forma con una doble curvatura en forma de "S", oscureciendo el raquis para acabar cubriéndose de una esporulación blanquecina. En bayas recién cuajadas ocurre lo mismo, pero si superan el tamaño de guisante no presentan los anteriores síntomas, sino que se arrugan y desecan, de todas formas, existe una pérdida parcial o total del racimo según la severidad del ataque (Hidalgo, 2002).

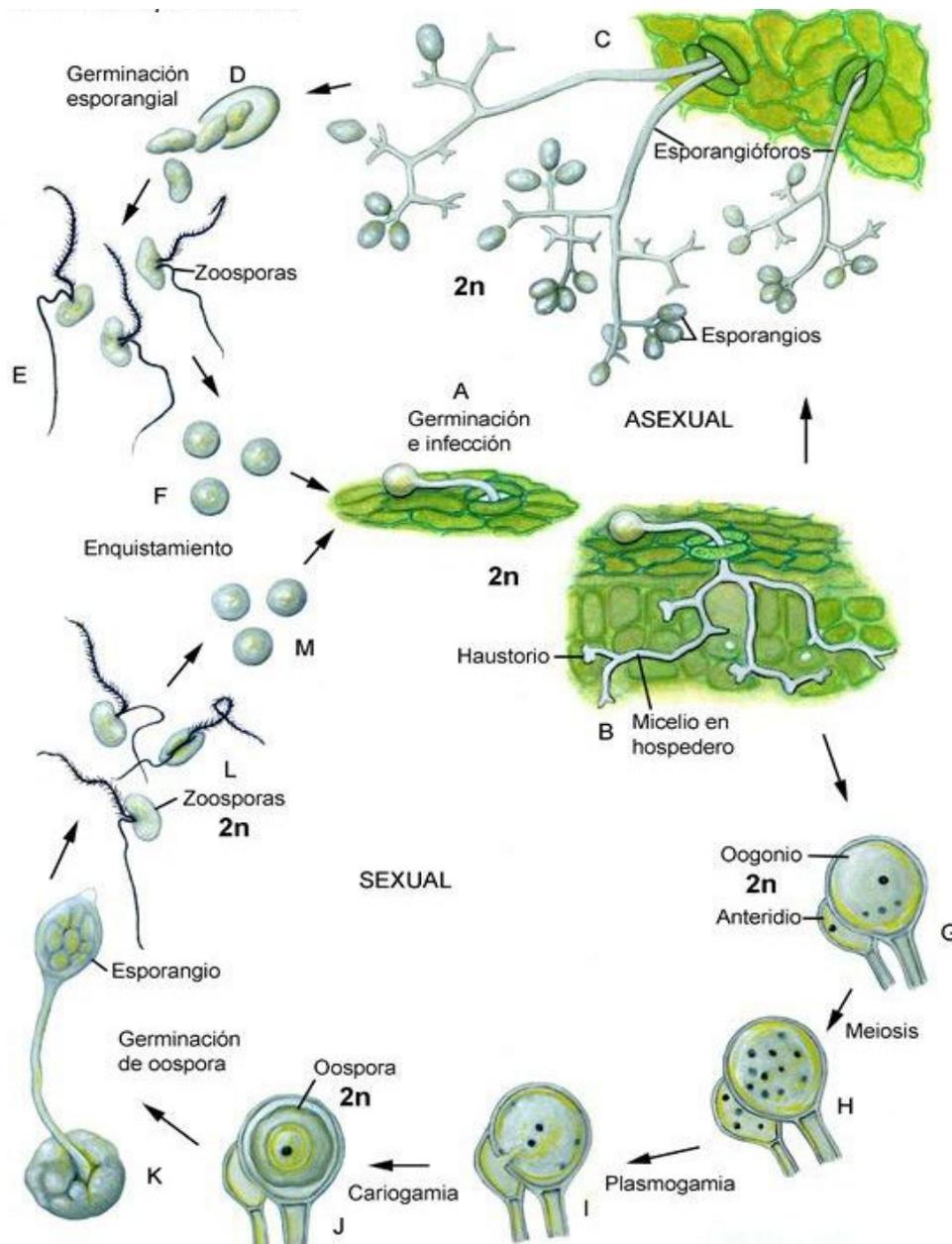
Para que sea posible el desarrollo de la enfermedad, el patógeno *P. viticola* deben coincidir en tiempo y espacio con un huésped susceptible y unas condiciones ambientales predisponentes, conformando el triángulo de la enfermedad (patógeno, huésped y ambiente). *Plasmopara viticola* es un patógeno específico de vid, por lo que requiere de la presencia de su huésped, que debe ser un cultivar susceptible (*V. vinifera*) y además presentar tejidos susceptibles principalmente brotes jóvenes de aproximadamente 10 cm durante el período vegetativo (primavera - verano). Las condiciones microclimáticas del lugar del cultivo son el tercer factor determinante, estas deben comprender una temperatura que supere los 12° C, que mantenga una alta humedad y además que comprenda eventos de precipitaciones durante ese período (necesidad de agua libre) (Agris, 2007).

Esta enfermedad sobrevive como oosporas (forma sexual del hongo) invernantes producidas en las hojas caídas al suelo preferentemente junto a las nevaduras. En primavera con temperaturas superiores a 12° C, alta humedad y uno o dos días de lluvia de al menos 10 mm, las oosporas germinan sobre la tierra o sobre los órganos de las vides generando esporangios que son arrastradas por el viento o salpicadas por las gotas de lluvia. Ese esporangio o sus zoosporas llegan a las hojas húmedas más cercanas al suelo iniciando la infección primaria. Penetran a las hojas a través de los estomas del envés y el micelio se expande en los espacios intercelulares, alimentándose por medio de haustorios. Este

micelio en la cavidad subestomática forma una almohadilla micelial de la que surgen esporangióforos que emergerán a través de los estomas, luego producen numerosos esporangios que pueden ser llevados por el viento o la lluvia a plantas cercanas germinando muy rápidamente y producen muchas zoosporas que dan lugar a las infecciones secundarias. Entre la aparición de la infección y los nuevos esporangios habrá un período de entre 5 y 18 días dependiendo de la temperatura, humedad y susceptibilidad de las variedades. En otoño cuando la temperatura descende el hongo forma oosporas invernantes sobre las hojas viejas infectadas, cayendo al suelo para volver a iniciar un nuevo ciclo en la primavera siguiente (Figura N°1) (Agrios, 2007; Ulloa & Hanlin, 2006).

Figura 1

*Ciclo patológico del mildiu de la vid producido por *Plasmopara viticola**



Nota. Tomado de Ulloa y Hanlin (2006).

2.3.1. Mildiu de la vid en Uruguay

Según Beretta Curi et al. (2014) el sector vitivinícola uruguayo ha estado en una batalla con esta y otras enfermedades durante décadas. Esto se ve reflejado ya desde el año 1888, donde la ARU realizó un cuestionario a productores vitícolas de los cuales el 4% afirmó la presencia de mildiu en sus cultivos (Sanz Bonino, 2016).

Aunque también puede afectar en verano y otoño, es en primavera cuando causa los mayores daños, pudiendo provocar grandes pérdidas, y viéndose favorecida con lluvias, rocíos y neblinas fuertes. Estas pérdidas económicas están determinadas por los componentes del rendimiento que son el número de yemas por hectárea, el porcentaje de brotación, la fertilidad de yemas, la tasa de cuajado, el número de brotes por planta y el peso promedio de las bayas (Battistella, 2009; Matocq, 2004), componentes que directa o indirectamente pueden ser afectados por el mildiu de la vid. Por lo anteriormente mencionado, sumado a que el daño de esta enfermedad suele darse preferentemente en hojas y racimos jóvenes, es que se ha encontrado a lo largo de la historia la necesidad de plantear alternativas en el control y manejo de los cultivos en procura de disminuir su incidencia y severidad.

2.4. MANEJO INTEGRADO DEL MILDIU

La vid europea (*V. vinifera* L.) es altamente susceptible a numerosas enfermedades de origen fúngicas obligando a recurrir al uso de enormes cantidades de productos fitosanitarios, que implican grandes costos económicos y medioambientales y en muchos casos generan resistencia rápidamente. Partiendo de esta problemática es que se considera apropiado plantear un uso integrado de las estrategias de manejo resumidas en la Figura N°2, involucrando varias alternativas a usarse en forma conjunta, evitando las implicancias del uso excesivo del manejo químico.

Figura 2

Diagrama del manejo integrado del mildiu en el cultivo de la vid



2.4.1. Manejo cultural

Teniendo en cuenta que esta enfermedad se ve muy favorecida por la alta humedad, pasa a ser fundamental iniciar un manejo desde incluso antes de la implantación del cultivo, donde la elección de suelo con buen drenaje, la densidad de plantación y la orientación de las hileras son decisiones claves para mantener una buena aireación. La elección del sistema de conducción y el mantenimiento con un nivel balanceado de área foliar también formarán parte de ese manejo cultural. A modo de disminuir el nivel de inóculo dentro del cultivo se procura mantener el mismo libre de restos de poda y hojas secas que servirían como reservorio para el patógeno. Es recomendable realizar podas de verano buscando reducir brotaciones posteriores a envero (Dirección General de Servicios Agrícolas [DGSA], 2022) y realizar monitoreos del cultivo para poder detectar de forma temprana la presencia de focos de la enfermedad.

2.4.2. Control químico

Por la facilidad y velocidad de dispersión y reproducción del patógeno, sigue siendo el control químico la estrategia más utilizada hasta el momento para el combate de la enfermedad.

En 1882, para controlar la enfermedad se utilizaba cal y caldo bordelés, entre otros (Sanz Bonino, 2016). Actualmente los principios activos utilizados para el control según la norma para la producción integrada de uva para vino son: metiram, mancozeb, oxiclورو de cobre, óxido cuproso, hidróxido de cobre, sulfato de cobre, estrobirulinas, fosetil aluminio, folpet, cymoxanil, captan, caldo bordelés, dithianon, dimetomorf, polisulfuro de calcio y ametoctradin (DGSA, 2022).

El uso del caldo bordelés fue descubierto por productores de vid de la región de Burdeos, Francia, quienes solían mezclar sulfato cúprico con cal hidratada con intenciones de disminuir los robos de racimos de las vides cercanas a caminos. Fue así como detectaron que eran esas vides más sanas que las demás, razón que llevó a identificar los efectos que este producto presentaba sobre patógenos como los hongos, bacterias y ácaros. En la actualidad este producto es usado principalmente para el control de hongos, tizones y mildius, y en el caso de árboles frutales de hoja caduca es aplicado en el estado fenológico de yema hinchada, sin hojas como aplicación de cabecera (invernal) de la zafra vegetativa (DGSA, 2022; Triadani, 2019).

Metiram y mancozeb, ambos son fungicidas de contacto correspondientes al grupo químico de los ditiocarbamatos y su aplicación se recomienda no más allá de alcanzar las bayas el “tamaño de arveja”. Tanto oxiclورو de cobre, óxido cuproso, hidróxido de cobre y sulfato de cobre son productos cúpricos, inorgánicos y de contacto, con la recomendación de ser aplicados a partir de cuajado y son permitidos además de la producción integrada en sistemas de producción orgánica. El uso de estrobilurinas se ve limitado a realizarse no más de una aplicación por temporada, debido a la alta probabilidad de generar resistencia por parte del patógeno a este fungicida y es utilizado tanto como de uso preventivo como curativo. Folpet y captan ambos son ftalamidas de contacto con acción fúngica preventiva (y curativo en el caso de captan) al igual

que el cymoxanil, aunque este último corresponde al grupo químico de fungicidas cianoacetamidaoximas (DGSA, 2022; V. Gepp, comunicación personal, 2020)

La incorporación de resistencia genética como parte de las medidas de manejo podría complementarse con un menor número de aplicaciones de fitosanitarios al utilizado tradicionalmente, porque permite que la incidencia de la enfermedad se mantenga en niveles controlados que no afectan el retorno económico del cultivo. Esto contribuye a la disminución de la posibilidad de que las cepas del patógeno evolucionen “sorteando” la resistencia genética, comúnmente llamado “quiebre de resistencia”, es decir, se favorece por requerir un reducido uso de fungicidas, pero no se debe retirar totalmente su uso. Según Wingerter et al. (2022) en cultivares españoles presentando alto riesgo de enfermedad (condiciones favorables), con alta capacidad de resistencia pudo lograrse una reducción de un 75% de aplicaciones, comparado a cultivares tradicionales.

2.4.3. Resistencia genética

Una de las estrategias más prometedoras consiste en un manejo preventivo basado en el desarrollo de variedades de vid resistentes a enfermedades fúngicas. El mejoramiento genético a través de retrocruzamientos de *V. vinifera* y selección asistida con marcadores moleculares (SAMM) ha permitido el desarrollo de variedades resistentes a varias enfermedades fúngicas, como por ejemplo a *U. necator* con los genes *Ren* y *Run* (*Ren* 1 a *Ren* 10, *Run* 1 y 2) y *P. viticola* con los genes *Rpv* (*Rpv* 1 a *Rpv* 20). Con genes de resistencia y un porcentaje significativo de *V. vinifera* mayor al 85% en su pool de genes se obtuvieron las denominadas variedades PIWI del alemán “pilzwiderstandsfähig”. Estas pueden ser utilizadas para la elaboración de vino siempre que estén previamente inscritas en el registro de variedades del país pertinente (Casanova et al., 2019; Topfer & Hausmann, 2021).

La obtención de variedades PIWI se inició a través de un método de hibridación, sin transformación genética, donde se utilizó como uno de los progenitores al portador del gen de resistencia a una variedad asiática o americana del género *Vitis*, por ejemplo *V. riparia* y *V. rupestris* que han coevolucionado con el patógeno (Bove & Rossi, 2020). Luego, a través de una serie de retrocruzamientos con *V. vinifera*, se logra recuperar el genoma de *V. vinifera* en un alto porcentaje, con la presencia de uno o más genes de resistencia incorporados (introgresión). Para realizar las hibridaciones o retrocruzamientos, de forma muy resumida, se implementa la emasculación en el genitor femenino, se colecta y acondiciona polen del genitor masculino, se realiza la polinización manual. Luego cuando la uva este madura, se cosecha y la semilla obtenida por reproducción sexual dará un nuevo genotipo que a través del uso de marcadores moleculares se detectará de forma precoz si ha incorporado en su genoma esa resistencia. Finalmente se pasa a la etapa de evaluación agronómica y más tarde enológica (Interreg Sudo, & Vinover, 2017).

2.4.3.1. Retrocruzamiento

Consiste en incorporar uno o más alelos de interés a una variedad ya adaptada carente de él. Este proceso parte de una hibridación interespecífica entre la variedad de interés que actuará como progenitor recurrente (*V. vinifera*) y la especie dadora del gen con alelos dominantes (silvestre) considerado como progenitor donante, en este caso vides asiáticas o americanas como: *V. rupestris*, *Vitis riparia*, *V. labrusca*, *V. amurensis*, entre otras. A partir de marcadores moleculares (SMM) se detecta en la población F1 obtenida, las plantas que adquirieron el o los alelos de resistencia y estas se vuelven a cruzar con el progenitor recurrente (*V. vinifera*). Este proceso de SMM y cruzamiento con el progenitor recurrente se repite varias veces de modo que los individuos alcancen el menor porcentaje posible de genes del progenitor donante. El producto de los primeros ciclos de retrocruzamiento serán plantas con alelos de interés heterocigotas, por lo que se requerirá de autofecundaciones sucesivas acompañadas de selección fenotípica para recuperar las buenas características agronómicas y enológicas en el caso de la vid (Poehlman, 2005).

2.4.3.2. Marcadores moleculares (SSR)

Una de las técnicas en la que se usan marcadores moleculares se basa en el uso del genotipado de fragmentos cortos de ADN, repeticiones de secuencia simple (SSR, por sus siglas en inglés “simple sequence repeat”) o microsatélites. Como el ADN se encuentra en todas las células vegetales, el análisis genético se puede realizar independientemente del desarrollo o salud de la planta, acortando los tiempos de estudio. Estos marcadores se pueden asignar a determinadas características mediante el análisis de QTL (“quantitative trait loci” o locus de rasgos cuantitativos) con información de marcadores genéticos. De no hacer uso de este método solo se podría lograr la selección por fenotipado, con calificaciones visuales (es resistente o no es resistente). Esta técnica también permite la selección de plantas con loci de resistencia combinados para crear una resistencia más sostenible (piramidación de genes de resistencia) (Müllner, 2021; Schwander et al., 2012).

2.4.3.3. Resistencia a *Plasmopara viticola* (genes *Rpv*).

La promoción de variedades resistentes a hongos como “PIWI” comenzó a darse en el año 1999 por parte del Dr. Pierre Baseler y otros fundadores del grupo de trabajo internacional. Los estudios y pruebas de obtención de variedades con estos genes además de ser complejos, conllevan muchos años para ser aceptados como *V. vinifera*, por lo que se ven involucrados principalmente institutos de investigación públicos, institutos de mejoramiento y universidades de varias partes del mundo. También algunos mejoradores privados han logrado el éxito con ellas y el mejoramiento hoy en día se lleva a cabo en prácticamente todos los países vitivinícolas (PIWI International, s.f.).

Tal como se ha mencionado, los 20 genes *Rpv* que permiten obtener resistencia en *V. vinifera* fueron detectados en variedades silvestres. Estos genes pueden presentar un efecto aditivo piramidal, esto quiere decir que en variedades donde se presente más de un gen la resistencia es mayor (Schwander et al.,

2012). Esto último se debe a que las variedades en que se logró mantener mayor número de genes *Rpv* tienen menor posibilidad de que cepas del patógeno logren saltar esa resistencia. En la Figura N°3, se muestra un trabajo, donde con el uso de tres genes *Rpv* (*Rpv* 1, *Rpv* 3 y *Rpv* 12) se logra una resistencia cada vez mayor a medida que estos genes se van acumulando en el genoma de un individuo (Sturm, 2021).

Figura 3

Observación visual de niveles de resistencia para uno y múltiples loci



Nota. Adaptado de Sturm (2021).

Para realizar el mejoramiento de variedades resistentes a *P. viticola* los genes más usados han sido *Rpv* 1, *Rpv* 3, *Rpv* 10 y *Rpv* 12. En general los genes que codifican para proteínas con motivos NRL (Sitio de unión a Nucleótidos y Repeticiones ricas en Leucinas) tienen un rol importante en la vía de resistencia, actuando como receptores de efectores específicos de la cepa del patógeno que desencadenan la respuesta de la planta huésped tras la interacción (Müllner & Zyprian, 2022).

La resistencia al mildiu de la vid conferida por el locus *Rpv* 1, originario de *Muscadinia rotundifolia* (especie emparentada con el género *Vitis* y que se logran cruzar por técnicas convencionales) está mediada por un único gen de resistencia designado por MRPVR1 (*Muscadinia rotundifolia Rpv* 1), se encontró que tras la activación de *Rpv* 1 en presencia del mildiu de la vid éste se comporta como un regulador positivo de la expresión génica para mediar en la resistencia a este patógeno (Qu et al., 2021).

El locus *Rpv* 12 ha sido estudiado en estado de heterocigosis y homocigosis, en este último caso se ha comprobado que existe un mayor efecto de resistencia al mildiu de la vid, esto posibilita el mejoramiento genético en vid para asegurar la herencia de la resistencia sin la necesidad de utilizar marcadores moleculares. Este gen da una respuesta de hipersensibilidad entre 24 y 48 horas posteriores a la inoculación suprimiendo la esporulación, con una defensa similar al tipo y velocidad de defensa aplicada por *Rpv* 3, pero más significativa (Müllner & Zyprian, 2022).

Rpv 3, que procede de especies silvestres americanas de *Vitis*, fue hallado por primera vez en la variedad Regent y ha sido el más estudiado por dar señal de ser muy compatible con muchos de los genes de resistencia, favoreciendo el efecto piramidal en los programas de mejoramiento. Numerosos estudios europeos confirman la capacidad de aislados de *P. viticola* de saltar la resistencia medida por el locus *Rpv* 3, quien actúa frente al patógeno induciendo la biosíntesis de estilbenos tóxicos para los hongos, reduciendo el desarrollo del patógeno (Eisenmann et al., 2019).

El locus *Rpv* 10 se introdujo inicialmente a partir de *V. amurensis* (especie asiática) y se localiza en el cromosoma 9. Este locus proporciona una excelente fuente para generar nuevos cultivares con piramidación de genes por presentar una muy buena resistencia frente al mildiu de la vid y es quien hasta el momento aparenta un aporte individual de mayor resistencia respecto a los demás locus estudiados. La combinación de *Rpv* 3 y *Rpv* 10 puede ser detectada a través de marcadores moleculares en estados tempranos de plántulas, práctica favorable para procurar la piramidación aditiva de la resistencia que evita la adaptación del patógeno y quiebre de resistencia (Eisenmann et al., 2019; Schwander et al., 2012; Zanghelini et al., 2019).

El buen mecanismo de resistencia dado por la aditividad del gen *Rpv* 1 y el gen *Rpv* 3 puede deberse a que ambos genes son diferentes y complementarios por haber coevolucionado con el patógeno de formas independientes (Zanghelini et al., 2019).

Se considera que la señalización temprana que conduce a la resistencia a *P. viticola* mediada por *Rpv* 10 puede ser más o menos eficiente según si el genotipo se encuentra en homocigosis o si se encuentra junto a *Rpv* 3, ambos en heterocigosis. En el caso del genotipo portador de *Rpv* 10 / *Rpv* 3 se modulan más genes en total que en el homocigoto *Rpv* 10 / *Rpv* 10, esto puede proporcionar respuestas reguladoras específicas de loci asociados a *Rpv* 3 (Fröbel et al., 2019).

En la Tabla N°1 se resumen los 20 loci *Rpv* informados hasta el momento, genitores que originaron el cruzamiento donde fueron detectados por primera vez, en que cromosomas están ubicados y el genotipo de origen de cada loci *Rpv* (Topfer & Hausmann, 2021).

Tabla 1
Lista de loci Rpv en estudio

Loci	Genitor 1	Genitor 2	Cromosoma	Genotipo de origen	de
Rpv 1	Syrah	28-8-78	12	28-8-78	
Rpv 2	Cabernet Sauvignon	8624	18	8624	
Rpv 3	Regent	Lemberger	18	Regent	
Rpv 4	Regent	Lemberger	4	Regent	
Rpv 5	Cabernet Sauvignon	Gloire de Montpellier	9	Gloire de Montpellier	de
Rpv 6	Cabernet Sauvignon	Gloire de Montpellier	12	—	
Rpv 7	Chardonnay	Bianca	7	Bianca	
Rpv 8	<i>V. amurensis</i>	<i>V. amurensis</i>	14	<i>V. amurensis</i>	
Rpv 9	Moscato Bianco	<i>V. riparia</i>	7	Wr63	
Rpv 10	Gf.Ga-52-42	Solaris	9	Solaris	
Rpv 11	Regent	Lemberger	5	Regent	
Rpv 12	99-1-48	Pinot Noir	14	99-1-48	
Rpv 13	Moscato Bianco	<i>V. riparia</i>	12	Wr63	
Rpv 14	Gf.V3125	Börner	5	Börner	
Rpv 15	<i>V. piasezkii</i>	F2-35	18	<i>V. piasezkii</i>	
Rpv 16	-	-	-	-	
Rpv 17	<i>V. rupestris</i> B38	Horizon	11	Horizon	
Rpv 18	<i>V. rupestris</i> B38	Horizon	14	<i>V. rupestris</i> B38	
Rpv 19	Horizon	<i>V. cinerea</i> B9	6	Horizon	
Rpv 20	Horizon	<i>V. cinerea</i> B9	7	Horizon	

Nota. Tomado de Topfer y Hausmann (2021).

2.4.3.4. Interacción mildiu - variedad PIWI

Las plantas han generado mecanismos de defensa complejos y sofisticados con el fin de hacer frente a la amenaza de plagas y enfermedades. Estos mecanismos de defensa generan inmunidad a la planta, se conocen como PAMPs (por sus siglas en inglés “pathogen-associated molecular patterns”, patrones moleculares asociados a patógenos) que se activan al entrar en contacto con el patógeno, por ejemplo, componentes de la pared celular fúngica o pueden ser moléculas propias mediante el reconocimiento. Al detectar los PAMPs se desencadena la PTI (Primera capa de defensa inmunitaria). Además, tienen otras estrategias como barreras, pared celular fuerte, una capa de cera prominente, pilosidad densa o toxina antimicrobiana en la vacuola de la célula atacada. Sin embargo, hay patógenos que han evolucionado hasta liberar efectores para superar las PTI. A medida que avanza la carrera evolutiva entre el huésped y el patógeno, las plantas desarrollan genes R de resistencia que codifican receptores para reconocer y unirse a esos efectores del patógeno, desencadenando una cascada de reacciones de defensa denominada ETI por sus siglas en inglés “Inmunidad Desencadenada por Efectores” (Qu et al., 2021).

La interacción entre el efector del patógeno y el receptor R del huésped resulta en una interacción incompatible generando que la infección se detenga o se reduzca fuertemente (Qu et al., 2021).

El mecanismo de resistencia al mildiu consiste primariamente en la detención de la infección, que se presume sea causada por la actividad antimicrobiana del grupo de compuestos de estilbenoides, la inducción de los genes PAL (Fenilalanina Amoniacio Liasa) y STS (Estilbenos Sintetasa). Esto se produce inclusive en genotipos susceptibles (que no portan *Rpv*), pero a niveles insuficientes como para detener la infección. Es de este modo que la resistencia y la susceptibilidad es de naturaleza cuantitativa, ya que un mayor número de estilbenoides genera una defensa más eficaz capaz de detener al patógeno (Fröbel et al., 2019).

El trans-resveratrol es un estilbenoide que actúa como fitoalexina por estar relacionado al inicio temprano de la muerte celular programada (MCP) como mecanismo de defensa frente a *P. viticola*, presente en las variedades PIWI con presencia del gen de resistencia *Rpv*. En las variedades en que la MCP se alcanza en menos horas post inoculación se ha detectado un mayor nivel de trans-resveratrol, siendo este nivel registrado en orden decreciente según presencia de loci *Rpv* 12 > *Rpv* 10 > *Rpv* 3, resultando esto en diferentes grados de resistencia natural al mildiu de la vid (Wingert et al., 2021).

2.4.3.5. Variedades PIWI en estudio en INIA Las Brujas, Uruguay.

En este momento hay ocho variedades PIWI en estudio en nuestro país, cuyas principales características se encuentran resumidas en la Tabla N°2. Estas presentan los loci *Rpv* 12 (proveniente de *V. amurensis*) y *Rpv* 3 (proveniente de la variedad Regent), provienen del vivero Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR, 2022a, 2022b, 2022c, 2022d, 2022e, 2022f, 2022g), empresa viverística y de mejoramiento genético de vid localizado en Udine, Italia con el cual INIA mantiene un acuerdo de evaluación en las condiciones de cultivo de Uruguay.

Tabla 2

Características generales de las variedades PIWI que se encuentran en estudio en la estación experimental del INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay

Identificación	Color de baya	Gen <i>Rpv</i>	Resistencia según VCR	Parentales
Fleurtaí	Blanca	<i>Rpv</i> 12	Excelente	Tocani Fliurano × 20-3 UD34113
Soreli	Blanca	<i>Rpv</i> 3 y <i>Rpv</i> 12	Excelente	Tocani Fliurano × 20-3 UD34113
Sauvignon Kretos	Blanca	<i>Rpv</i> 12	Buena	Sauvignon blanc × 20-3 UD76-026
Sauvignon Nepis	Blanca	<i>Rpv</i> 3	Buena	Sauvignon blanc × Bianca UD55-098
Sauvignon Rytos	Blanca	<i>Rpv</i> 3	Buena	Sauvignon blanc × Bianca UD55-100
Cabernet Volos	Tinta	<i>Rpv</i> 12	Buena	Cabernet Sauvignon × 20-3 UD32-078
Julius	Tinta	<i>Rpv</i> 12	Buena	Regent × 20-3 UD36-030
UD72-096	Tinta	<i>Rpv</i> 3	-	-

Nota. Adaptado de VCR (2022a, 2022b, 2022c, 2022d, 2022e, 2022f, 2022g) y M. Dini (comunicación personal, 2022).

Estas ocho variedades poseen los loci *Rpv* 3 y *Rpv* 12. Fleurtaí, Sauvignon Kretos, Cabernet Volos y Julius son las variedades en estudio que presentan en su genoma el locus *Rpv* 12, mientras que Sauvignon Nepis, Sauvignon Rytos y la selección UD 72-096 presentan el locus *Rpv* 3. Por último, Soreli presenta en su genoma los dos loci *Rpv* 3 y *Rpv* 12 (VCR, 2022a, 2022b, 2022c, 2022d, 2022e, 2022f, 2022g).

Si bien ambos locus muestran claramente la resistencia, es el *Rpv* 12 quien se destaca por ser más significativa la limitación frente a la esporulación del patógeno presentando una respuesta de hipersensibilidad (HR) (Müllner, 2021).

Fleurtaí es una variedad de uva blanca obtenida por el cruzamiento de la variedad Tocai Friulano y la selección 20-3 (código UD. 34-111), se adapta a variadas formas de cultivo, aunque la poda guyot es la que se adapta mejor y el vivero que la certifica la caracteriza por tener una excelente resistencia al mildiu de la vid al presentar el locus *Rpv* 12. Además, presenta excelente resistencia a oídio (*Ren* 3) y una susceptibilidad reducida a podredumbre gris y antracnosis. (VCR, 2022b).

Soreli también es una variedad de uva blanca y se adapta a todos los sistemas de producción y poda por presentar alta fertilidad basal. Presenta los loci *Rpv* 3 y *Rpv* 12 que le otorgan excelente resistencia al mildiu y buena resistencia al oídio. Fue obtenida por el cruzamiento entre Tocai Friulano y la selección 20-3 (código UD. 34-113). Obtuvo una medalla de plata en el Internacional PIWI Wine Award de Alemania, 2017. (VCR, 2022g).

Ese mismo año y en ese mismo evento, Sauvignon Kretos también obtuvo una medalla de plata. Esta variedad se obtuvo del cruzamiento entre Sauvignon y la selección 20-3 (código UD. 76.026), es de uva blanca y presenta el locus *Rpv* 12 que le otorga buena resistencia al mildiu de la vid. (VCR, 2022d).

La otra variedad de uva blanca es Sauvignon Nepis, que presenta el gen *Rpv* 3 con buena resistencia a mildiu de la vid y a oídio (*Ren* 3), fue obtenida cruzando las variedades Sauvignon blanc y Bianca (código UD. 55-098). Fue premiada con una medalla de plata en el Internacional PIWI Wine Award del año 2018, Alemania. (VCR, 2022e).

Del cruce entre Sauvignon blanc y Bianca (cod. UD. 55-100) se obtuvo otra de las variedades en estudio, la Sauvignon Rytos. Esta variedad de uva blanca, quien tiene buena resistencia al mildiu de la vid, presenta el locus *Rpv* 3, y muestra buena resistencia al oídio con el locus *Ren* 3. Esta variedad requiere de poda en verde que limite su desarrollo vegetativo, su último premio fue en el Internacional PIWI Wine Award de 2018 en Alemania donde obtuvo la medalla de oro. (VCR, 2022f).

Cabernet Volos es una variedad de uva tinta que se obtuvo del cruzamiento entre Cabernet Sauvignon y la selección 20-3 (código: UD 32-078), de buena resistencia al mildiu de la vid por presentar el locus *Rpv* 12, aunque susceptible a podredumbre gris y tolerante a la podredumbre ácida. También obtuvo su medalla de plata en el Internacional PIWI Wine Award en Alemania en 2020, y una segunda medalla de plata fue obtenida en el Black Sea Region Wines & Spirits Contest en Moldavia. (VCR, 2022a).

Julius también es una variedad de uva tinta que se adapta mejor a sistemas de cultivo expandidos y podas largas, obtenida del cruzamiento entre la variedad Regent y la selección 20-3 (código: UD 36-030). Presenta buena resistencia al mildiu de la vid por presentar el locus *Rpv* 12, y buena resistencia a oídio con el locus *Ren* 3. (VCR, 2022c).

El genotipo identificado como UD 72-096 es una selección del programa de mejoramiento del VCR, que no cuenta con muchas características registradas, llegó a Uruguay a nivel experimental y es una uva tinta que adquiere resistencia a mildiu de la vid por presentar el locus *Rpv* 3. (M. Dini, comunicación personal, 2022).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

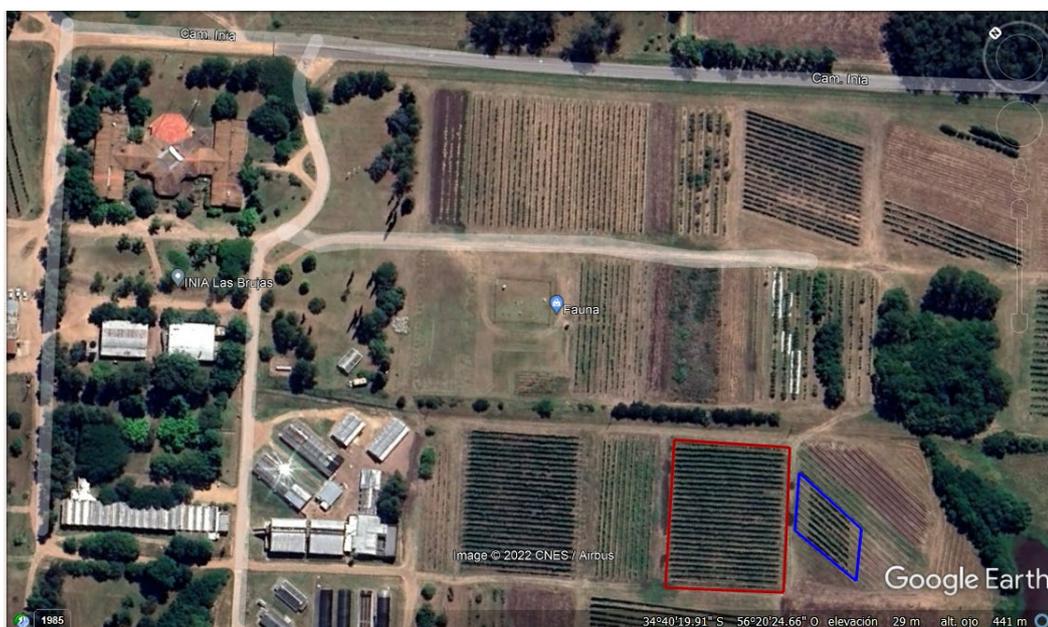
3.1 EVALUACIÓN DEL MILDIU DE LA VID EN VARIEDADES PIWI A CAMPO

3.1.1. Ubicación temporal y espacial

El trabajo fue conducido durante la temporada 2021-2022 en viñedos de la Estación Experimental Wilson Ferreira Aldunate, sede de INIA Las Brujas, en Rincón del Colorado, departamento de Canelones (Ruta 48, Km 10), latitud 34°40'S, longitud 56°20'O, altitud promedio 26 metros sobre el nivel del mar (Figura N°4).

Figura 4

Ubicación del ensayo a campo Estación Experimental Wilson Ferreira Aldunate sede de INIA Las Brujas, Rincón del Colorado, Canelones



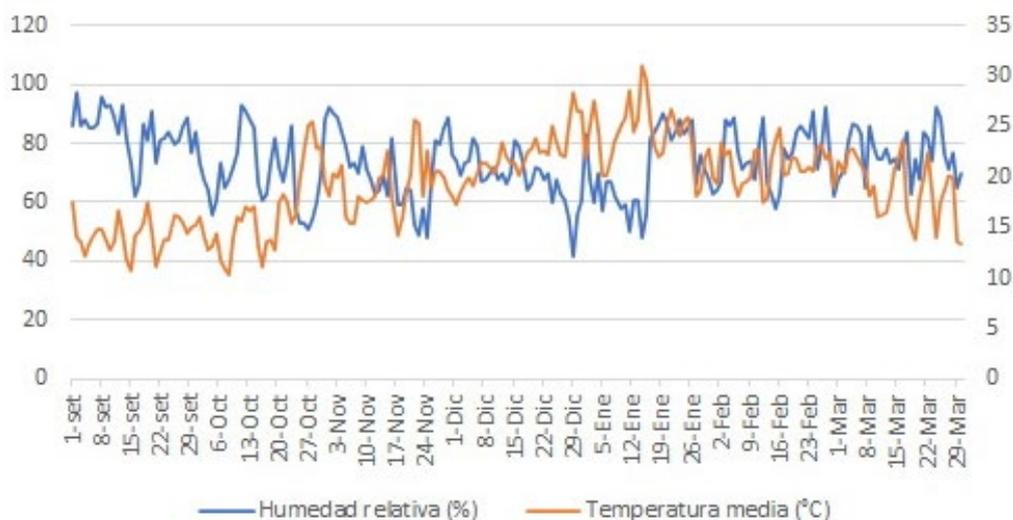
Nota. Ambos cuadros señalados en color con manejo integrado, el azul con bajo uso de fungicida para el control del mildiu de la vid (C3) y el cuadro rojo con aplicación de fungicidas para el control del mildiu (C4). Adaptado de Google Earth (2023).

El país presenta un régimen isohigro, con una precipitación media anual de 1200 mm en esta región, donde la temperatura media anual es de 17°C y la humedad relativa media anual es de 74% (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria [INIA], s.f.). Durante los meses de otoño y primavera la humedad relativa y la temperatura alcanzan niveles suficientemente elevados para generar condiciones propicias para el desarrollo del mildiu. Estos dos factores climáticos son los que mayor influencia tienen sobre el ciclo de esta enfermedad (V. Gepp, comunicación personal, 2020).

La evaluación se realizó en marzo durante el período vegetativo de la zafra 2022. Las condiciones climáticas registradas por la estación agroclimática de INIA Las Brujas (Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay) fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad. Las mismas se observan en la Figura N°6 donde los eventos de precipitaciones (mm diarios) ocurridos superan los requeridos para que se dé la ocurrencia de mildiu de la vid (germinación y su posterior dispersión), al igual que la alta humedad relativa y la temperatura que también superó los 12°C requeridos observables en Figura N°5 (Agrios, 2007; Ulloa & Hanlin, 2006).

Figura 5

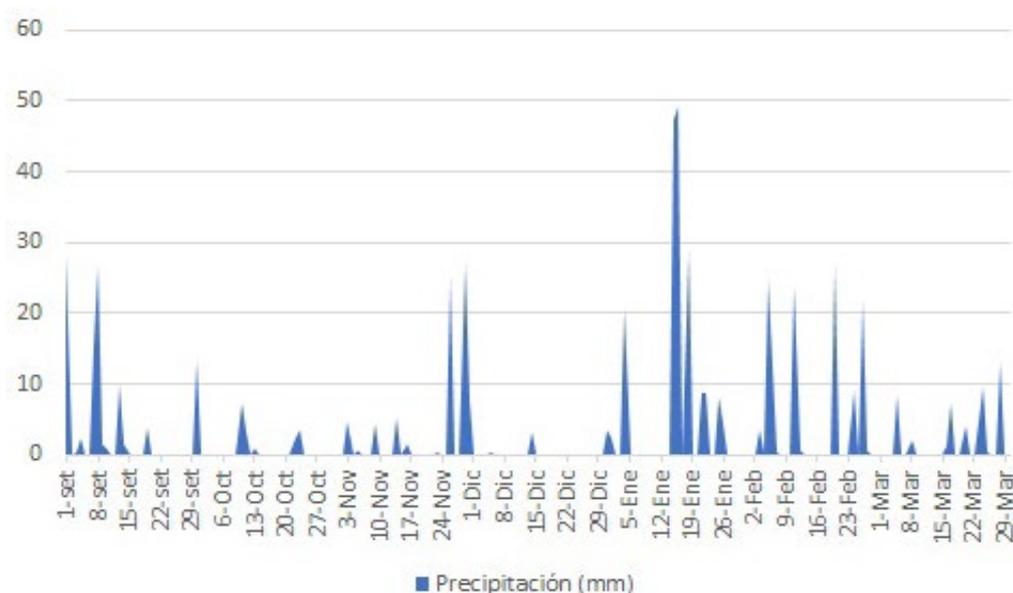
Humedad relativa diaria media (%) y temperatura diaria media (°C) para INIA Las Brujas, Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay, zafra 2021-2022



Nota. Adaptado de INIA (s.f.). Los datos se seleccionaron desde el banco datos agroclimático, para la estación INIA Las Brujas, datos diarios de cada mes desde el 1ro de setiembre de 2021 al 30 de marzo de 2022. Las variables seleccionadas fueron Humedad Relativa Media % y Temperatura media °C (24hs).

Figura 6

Precipitaciones (mm) para INIA Las Brujas, Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay, zafra 2021-2022



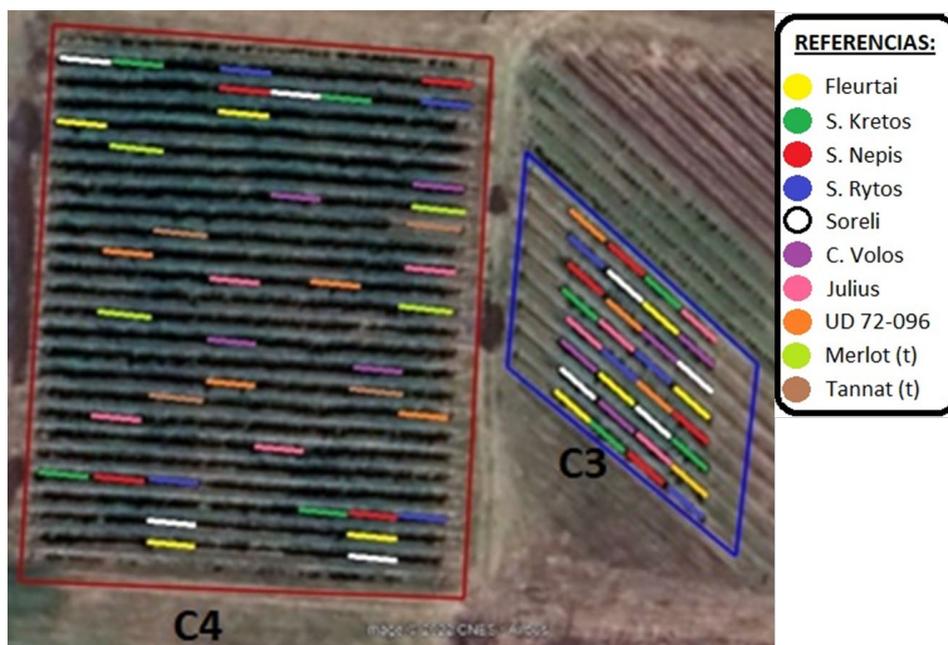
Nota. Adaptado de INIA (s.f.). Los datos se seleccionaron desde el banco datos agroclimático, para la estación INIA Las Brujas, datos diarios de cada mes desde el 1ro de setiembre de 2021 al 30 de marzo de 2022. La variable seleccionada fue Precipitación Efectiva mm.

3.1.2. Material vegetal

El material vegetal que se utilizó en este estudio está instalado en los cuadros identificados como C3 y C4 como se observa en la (Figura N°7), estos dos viñedos fueron implantados en el año 2018 con un marco de plantación de 1 x 2,5 metros entre plantas y filas respectivamente, y mantienen un sistema de conducción en espaldera alta (VCP) con poda Guyot unilateral. Las plantas de ambos cuadros están injertadas sobre el portainjerto SO4. Los dos cuadros se manejan de forma diferencial en lo que respecta a las aplicaciones de fungicidas para el control del mildiu de la vid.

Figura 7

Distribución de las variedades dentro de los cuadros C3 y C4



Nota. En cada cuadro se ubican las cuatro parcelas de cada variedad (Repeticiones). Adaptado de Google Earth (2023).

El viñedo localizado en el cuadro C4 se encuentra instalado con variedades PIWI y otras variedades que no presentan resistencia al mildiu de la vid, variedades europeas (*V. viniferas*) tradicionales y no tradicionales. En el presente estudio se utilizaron las variedades europeas Tannat y Merlot como testigos, variedades susceptibles sin la presencia de genes *Rpv* de resistencia al mildiu de la vid (VCR, 2022a, 2022b, 2022c, 2022d, 2022e, 2022f, 2022g). Este viñedo presenta un manejo integrado, similar a un cultivo comercial, siguiendo lo establecido en las normas de producción integrada para la producción de uva para vinificación. El viñedo instalado en el cuadro C3 contiene solamente variedades PIWI (con presencia de genes *Rpv*), presentando un manejo con bajo uso de fungicidas para control del mildiu de la vid, siendo estos productos básicamente Fanavid, Folpet y Fosfito de potasio, siguiendo una estrategia preventiva según los pronósticos climáticos (Tabla N°3). De igual modo se realizan manejos culturales preventivos que logren controlar el vigor para reducir brotaciones posteriores al envero, cumpliendo con lo establecido con las normas de producción integrada de uva de vino.

Las plantas PIWI instaladas en estos viñedos fueron importadas desde Italia y certificadas por el vivero VCR, además de sus respectivos controles por parte del Instituto Nacional de Semillas (INASE) y Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA-MGAP).

Tabla 3

Registro de aplicaciones de fitosanitarios para el control del mildiu de la vid en los cuadros C3 y C4

Fecha	Producto	Dosis	Cuadro C4	Cuadro C3
27/9/2021	Folpet + Azufre	400 gr + 400 gr	X	
9/10/2021	Folpet + Azufre	400 gr + 400 gr	X	X
22/10/2021	Folpet + Azufre	400 gr + 300 gr	X	
1/11/2021	Folpet + Azufre + Fosfito de potasio	400 gr + 200 gr + 300 cc	X	
8/11/2021	Folpet + Fosfito de potasio	350 gr + 300 cc	X	
12/11/2021	Fosfito de potasio + Azufre	250 cc + 200 gr	X	
23/11/2021	Folpet + Azufre	350 gr + 200 gr	X	
30/11/2021	Folpet + Fosfito de potasio + Azufre	350 gr + 250 cc + 200 gr	X	X
28/12/2021	Fanavid	250 gr	X	
18/1/2022	Fanavid	250 gr	X	
3/2/2022	Fanavid	300 gr	X	
16/3/2022	Fanavid	250 gr	X	X

3.1.3. Diseño experimental

El diseño experimental del ensayo instalado en el cuadro C4 (manejo integrado con aplicación de fungicida para el control del mildiu de la vid) es un diseño de bloques completamente al azar (DBCA). Cada variedad se encuentra distribuida en cuatro bloques (repeticiones), con parcelas de seis plantas cada una. Además de las ocho variedades PIWI, en este ensayo se incluyen las variedades Tannat y Merlot como controles testigos (Figura N°7).

El diseño experimental del ensayo instalado en el cuadro C3 (manejo integrado con bajo uso de fungicidas dirigido al control del mildiu de la vid) también es un DBCA. En este caso están presentes las mismas ocho variedades PIWI, distribuidas en cuatro bloques (repeticiones), con parcelas de seis plantas cada una (Figura N°7).

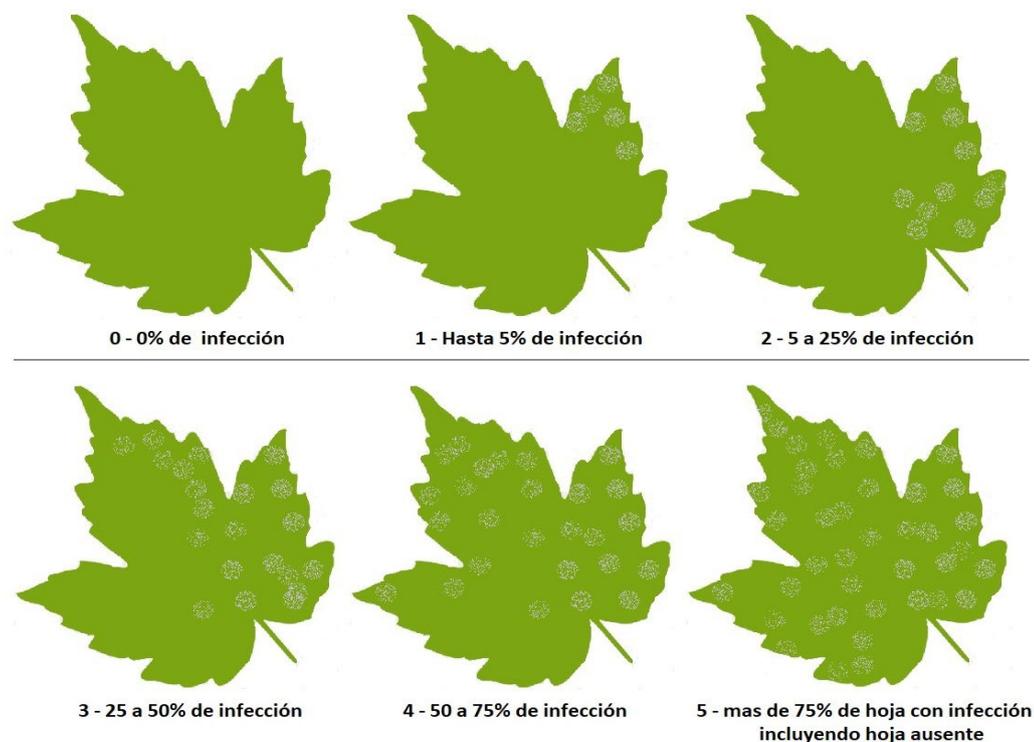
3.1.4. Variables evaluadas

En ambos cuadros, las variables analizadas fueron incidencia (presencia o ausencia) y severidad de *P. viticola* en hojas de las diferentes variedades. Las evaluaciones se efectuaron en las cuatro plantas centrales de cada parcela, evitando así las plantas de borde. Para ello en cada planta se procedió a seleccionar al azar un pámpano, registrando incidencia y severidad de mildiu de la vid en las hojas 5, 10, 15 y 20 contando desde el ápice. Para evaluar la severidad se ajustó una escala con 6 categorías (de 0 a 5) detalladas en la figura N°8. En la misma se puede apreciar que la categoría 0 representa una hoja sin síntoma y la 5 el mayor nivel de severidad (mayor a 75% del limbo de la hoja afectado por la enfermedad).

La recolección de datos se llevó a cabo durante la primera semana del mes de marzo posterior a la cosecha, concretamente entre los días 2 y 4 de ese mes, por lo que fue necesario un lapso de 3 días para cubrir toda la superficie a evaluar.

Figura 8

Escala de severidad de mildiu utilizada como referencia para la evaluación de la enfermedad a campo



3.2. ENSAYO DE LABORATORIO

Según Schwander et al. (2012), los procedimientos en ensayos de inoculación de hojas desprendidas o discos foliares son un método bien establecido para obtener datos fiables sobre la resistencia foliar del mildiu de la vid, por lo cual fue este método el optado para el presente trabajo.

3.2.1. Material vegetal

Este ensayo de laboratorio comprende cuatro orígenes de los materiales vegetales utilizados: 1- hojas infectadas con mildiu de cultivos de vid de la zona, tomados como inóculo inicial; 2- hojas sin síntomas de enfermedades ni daños mecánicos, tomadas de invernáculo (Tannat y Merlot) sin tratamientos fitosanitarios; 3- hojas sin síntomas de enfermedades ni daños mecánicos tomadas del cuadro C3 de variedades PIWI con bajo uso de fungicidas; y 4- hojas de las variedades Tannat y Merlot sin síntomas de enfermedades ni daños mecánicos, tomadas desde el cuadro C4 con aplicación de fungicidas para utilizar como testigos.

El análisis de severidad fue realizado en base al inóculo del mildiu de la vid traído desde el campo de variados cultivos localizados en zonas linderas a la estación experimental del INIA Las Brujas, departamento de Canelones. Este inóculo proveniente de diferentes variedades y cultivos de vid fue mezclado y utilizado como un inóculo compuesto. De esta forma, se procuró mitigar la variabilidad conferida por diferentes cepas del patógeno, ya que no era el objetivo del estudio.

La inoculación inicial y la multiplicación del inóculo se realizó sobre hojas de las variedades Tannat y Merlot extraídas de plantas situadas en un invernáculo (sin tratamientos fitosanitarios) del mismo instituto, con el fin de aumentar el volumen del inóculo.

Del cuadro C3, que se maneja de forma integrada con bajo uso de fungicidas para el control del mildiu de la vid, se recolectaron y rotularon hojas de cada variedad PIWI para ser llevadas al laboratorio. Mientras que las hojas de las variedades Tannat y Merlot (testigos), se extrajeron del cuadro C4 con manejo integrado y con aplicaciones de fungicida para el control del mildiu de la vid, debidamente rotuladas para posteriormente ser usadas en laboratorio.

3.2.2. Preparación del inóculo y desarrollo del ensayo

3.2.2.1. Aumento del inóculo

El inóculo inicial (hojas infectadas con mildiu de la vid) se recolectó una semana previa al inicio del trabajo en el laboratorio y se mantuvo en cámara húmeda hasta el momento de su uso. Consistió en guardar las hojas infectadas dentro de un recipiente sellado (cajas plásticas transparentes), con trozos de algodón embebidos en agua para mantener una humedad relativa alta. Este recipiente se mantuvo en una habitación con $22\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y un fotoperíodo controlado de 14:10 (L:O).

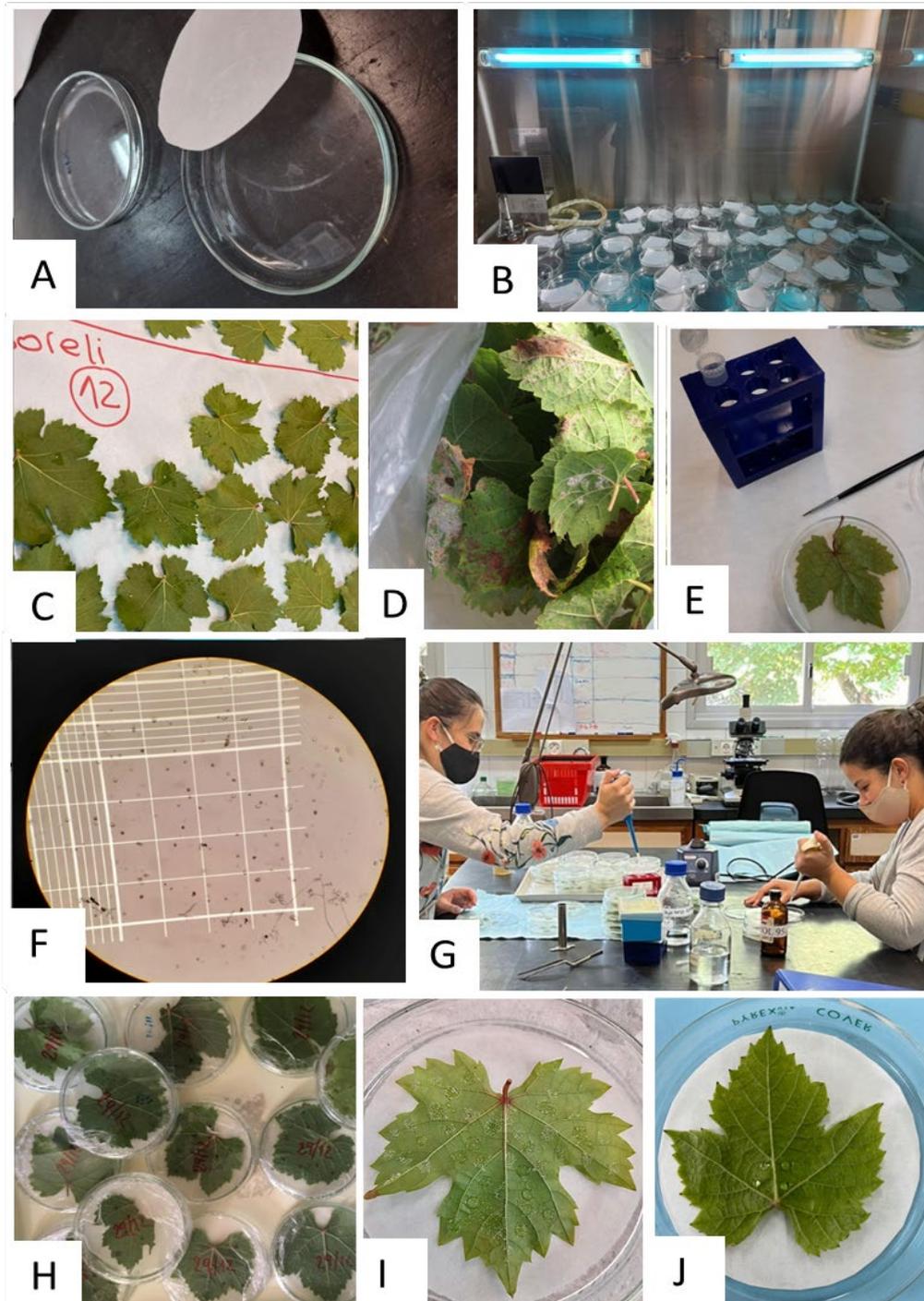
Para realizar el aumento del inóculo se optó por seguir el protocolo propuesto y descrito por Bove et al. (2019), que se repitió semanalmente hasta alcanzar una concentración de $5,0 \times 10^5$ esporangios por mL en una suspensión de inóculo, considerado suficiente para realizar este tipo de ensayos.

En la Figura N°9 se ilustra parte del protocolo de inoculación. Se realizaron recortes de papel filtro de un tamaño circular de manera que cubra la base de las placas de Petri (Figura N°9A). Se colocaron dentro de la cámara de flujo laminar y se mantuvieron bajo UV durante 30 minutos (Figura N°9B) para su esterilización. Las hojas destinadas a ser inoculadas, fueron desinfectadas superficialmente, mediante inmersión en una solución de agua e hipoclorito al 2%, agitadas durante 1 minuto, posteriormente recibieron cuatro enjuagues con agua corriente. Luego se extendieron sobre papel para su secado (Figura N°9C).

Para la preparación del inóculo, se tomaron hojas infectadas de la cámara húmeda (Figura N°9D) y con la ayuda de un pincel el área infectada se raspó y los esporangios recogidos se colocaron dentro de un tubo Eppendorf (Figura N°9E) conteniendo 5mL de agua destilada estéril. Al final de la recolección, se agitó la solución en un vórtex por dos minutos. Seguidamente y con la ayuda de una cámara de Neubauer, se contaron los esporangios en la solución para estimar la concentración del inóculo con la que se trabajó (Figura N°9F).

Posteriormente, en la misma cámara de flujo laminar se humedeció con agua destilada el disco de papel filtro ubicado dentro de las placas de Petri y se colocó una hoja de vid desinfectada y seca con el envés hacia arriba. Inmediatamente, se depositaron con micropipeta varias gotitas de inóculo sobre el envés de la hoja para el aumento de inóculo (Figura N°9G). Por último, las placas de petri se sellaron con film (Figura N°9H), se rotularon con fecha y se incubaron a $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (14:10 L:O). Luego de siete días, se repitió todo el proceso para lograr el volumen de inóculo necesario para la instalación del ensayo, (Figura N°9I).

Figura 9
Protocolo de inoculación utilizado



Nota. A) Placa de Petri y disco de papel de filtro; B) Esterilización de placas en cámara de flujo laminar con luz UV; C) Secado de hojas desinfectadas, previo a ser inoculadas; D) Cámara húmeda realizada con material vegetal infectado, recolectado desde cultivos de vid de la zona; E) Recolección de inóculo con pincel, en tubos Eppendorf; F) Conteo de esporangios en cámara de Neubauer, bajo microscopio (20x); G) Inoculación de hojas sobre placa de Petri; H) Incubación a $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (14:10 L:O); I) Hoja de vid inoculada en varios puntos para aumento de inóculo; J) Hoja inoculada con cuatro gotas de inóculo a una distancia de 1cm entre ellas (ensayo).

3.2.2.2. Ensayo en placas

Cuando el volumen de inóculo fue suficiente, se procedió a la inoculación de los diez tratamientos que consistieron en las ocho variedades PIWI, más Tannat y Merlot como testigos. Para la inoculación se siguió el mismo procedimiento que para el enriquecimiento del inóculo, solo que en cada hoja se aplicaron cuatro gotas distanciadas un centímetro entre sí con un volumen de 10µL cada una (Figura N°9J). La concentración específica de inóculo utilizada en este trabajo fue de $5,34 \times 10^5$ esporangios por mL.

3.2.3. Diseño experimental del ensayo de laboratorio

El ensayo realizado en el laboratorio presentó un diseño completamente al azar (DCA). Todas las variedades (las ocho variedades PIWI y las variedades testigos Tannat y Merlot) fueron consideradas como tratamientos. Cada placa de Petri conteniendo una hoja inoculada con cuatro gotas de la suspensión de esporangios, correspondió a una repetición (cuatro por tratamiento) totalizando 40 placas.

3.2.4. Evaluación

Las evaluaciones se realizaron a los siete días de la inoculación, contabilizando el número de gotas con síntomas de *P. viticola* y se calculó el porcentaje de gotas infectadas de la siguiente manera: 0% cuando ninguna gota de las cuatro presentó síntomas; 25% una gota infectada; 50% dos gotas infectadas; 75% tres gotas infectadas; y 100% de severidad cuando las cuatro resultaron infectadas.

Si bien este experimento se repitió tres veces durante los meses de febrero y marzo se muestran los resultados de una de las inoculaciones (10 de marzo de 2022), donde las placas de Petri se mantuvieron en condiciones óptimas de humedad durante los siete días de incubación (momento de evaluación: 17 de marzo de 2022).

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el software estadístico R Studio.

Para los ensayos realizados a campo, en ambos cuadros (con bajo uso y con aplicación de fungicidas para el control del mildiu de la vid), las variables a analizar fueron incidencia y severidad.

La severidad se expresó en porcentaje de hojas afectadas transformando los datos desde la escala ordinal (Figura N°8) de severidad utilizada, y descrita anteriormente, mediante ajuste del punto medio ("midpoint") para representar la severidad real como lo sugerido por Chiang et al. (2020).

La incidencia se calculó como el número de plantas enfermas sobre el total de plantas para cada variedad expresándolas como proporción de plantas con síntomas respecto a las plantas sanas. Debido a la naturaleza de los datos (proporciones) y luego de ser analizados el cumplimiento de los supuestos estadísticos de normalidad y homogeneidad de la varianza se optó por aplicar un Modelo Lineal Generalizado. Debido a la sobredispersión de los datos se optó por utilizar la familia de distribución Quasibinomial. En ambos casos se analizaron las comparaciones múltiples mediante una prueba *post-hoc* de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$ (95% de confianza).

En el caso del ensayo realizado en el laboratorio, se analizó la severidad del mildiu de la vid por cada placa aplicando nuevamente los Modelos Lineales Generalizados con familia de distribución Quasibinomial debido a la sobredispersión de los datos. En esta ocasión se aplicó un análisis *post-hoc* de Fisher para la comparación entre tratamientos, con un nivel de significancia de $p < 0.05$ (95% de confianza).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

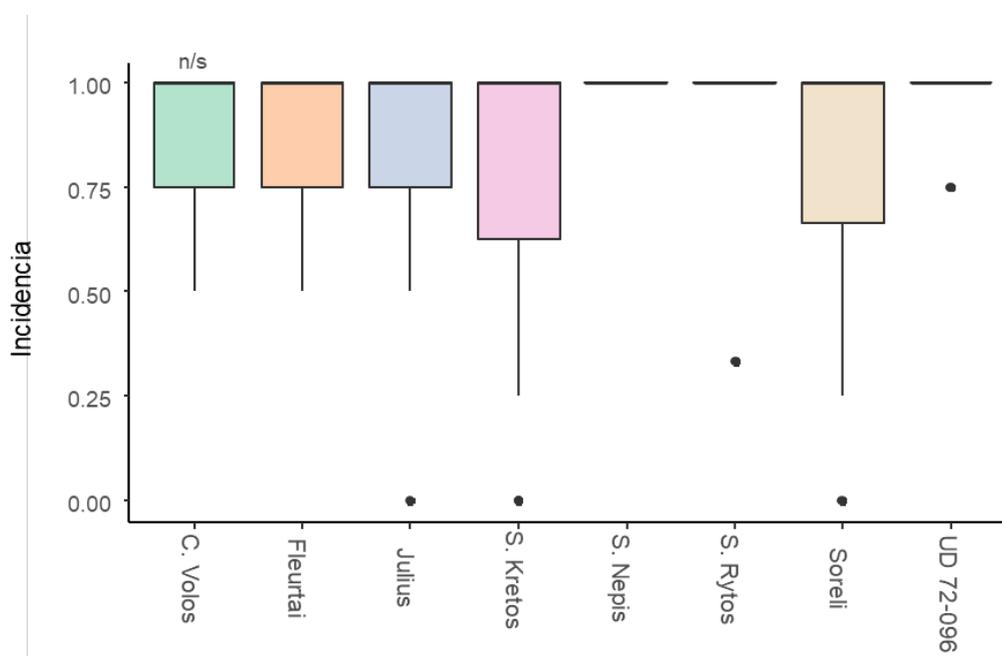
4.1. ENSAYO A CAMPO

4.1.1. Susceptibilidad al mildiu en variedades PIWI bajo un manejo integrado con bajo uso de fungicidas para control del mildiu

En la evaluación de la incidencia al mildiu de la vid en las variedades PIWI bajo un manejo integrado con bajo uso de fungicidas para el control de la enfermedad, no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las ocho variedades PIWI evaluadas (Figura N°10).

Figura 10

Incidencia del mildiu sobre variedades PIWI evaluada en el cuadro que presenta un manejo integrado con bajo uso de fungicidas dirigidos al control del mildiu de la vid (C3)



Nota. n/s significa que no hay diferencias estadísticamente significativas (GLMquasibinomial, Tukey, $p < 0,05$).

Bajo esta condición de manejo integrado (con bajo uso de fungicidas para el mildiu de la vid), acompañado de las condiciones climáticas favorables que se presentaron durante la zafra del estudio para el desarrollo del mildiu de la vid (Figuras N°5 y N°6), se observó que para todas las variedades PIWI la enfermedad tuvo una alta incidencia, con un 50% de sus hojas evaluadas afectadas. Sauvignon Nepis, Sauvignon Rytos y la selección UD 72-096 fueron las más perjudicadas. En estas tres variedades todos los pámpanos evaluados presentaron al menos una hoja con al menos una mancha de infección de *P. viticola*. Probablemente la diferencia notoria de estas tres últimas con las demás

pueda deberse a que son las únicas variedades que presentan sólo el locus de resistencia *Rpv 3* en su genoma. Por otra parte, sabiendo que la variedad Soreli presenta dos loci de resistencia (*Rpv 3* y *Rpv 12*), los resultados estadísticos no reflejan el efecto aditivo de piramidación que se mencionan en algunos trabajos desarrollados por otros investigadores (VCR, 2022a, 2022b, 2022c, 2022d, 2022e, 2022f, 2022g; Wingerter et al., 2022).

Los resultados obtenidos sobre la incidencia de la enfermedad en el ensayo a campo con manejo integrado con bajo uso de fungicidas para mildiu de la vid dejan reflejado que ninguna de las variedades PIWI es totalmente resistente en las condiciones de cultivo de Uruguay y en zafra con condiciones predisponentes para el desarrollo de la enfermedad. La zafra en la cual se desarrolló este estudio fue de alta presión de inóculo de *P. viticola* y condiciones agroclimáticas favorables para que se diera una alta incidencia del mildiu de la vid (Figuras N°5 y N°6) (V. Gepp, comunicación personal, 2020; INIA, s.f.). Por lo tanto, por más que las variedades presenten uno o más genes de resistencia *Rpv* esperándose una baja susceptibilidad al mildiu de la vid, en esa zafra todas las variedades PIWI sin excepción presentaron una alta incidencia de la enfermedad.

En la evaluación de la severidad se observan diferencias significativas entre las variedades PIWI evaluadas ($p < 0,05$), pudiendo identificar dos grupos en cuanto a la severidad del mildiu de la vid (Figura N°11). Las variedades Sauvignon Nepis, Sauvignon Rytos y la selección UD 72-096 son las que manifestaron mayor susceptibilidad, esto coincidió con las observaciones realizadas a campo al momento de recolectar hojas para inocular, siendo que la alta severidad observada dificultó conseguir material sin síntomas de la enfermedad en estas variedades. Cabe destacar que estos tres genotipos fueron los mismos que presentaron una incidencia igual a 100% y los tres poseen un solo locus de resistencia, en este caso el *Rpv 3*. Este hecho puede ser explicado por la capacidad de *P. viticola* de vencer la resistencia aportada por este locus (Eisenmann et al., 2019), de este modo la resistencia deja de ser persistente (Schwander et al., 2012). Estos antecedentes en conjunto a los resultados obtenidos podrían estar indicando que, en las condiciones ambientales de la temporada, la sola presencia del gen *Rpv 3* no sería suficiente para brindar resistencia a esta enfermedad, considerando lo dicho por Wingerter et al. (2022) "las estrategias de protección de las plantas deben adaptarse tanto a la resistencia genética como a la presión de la enfermedad" (p3).

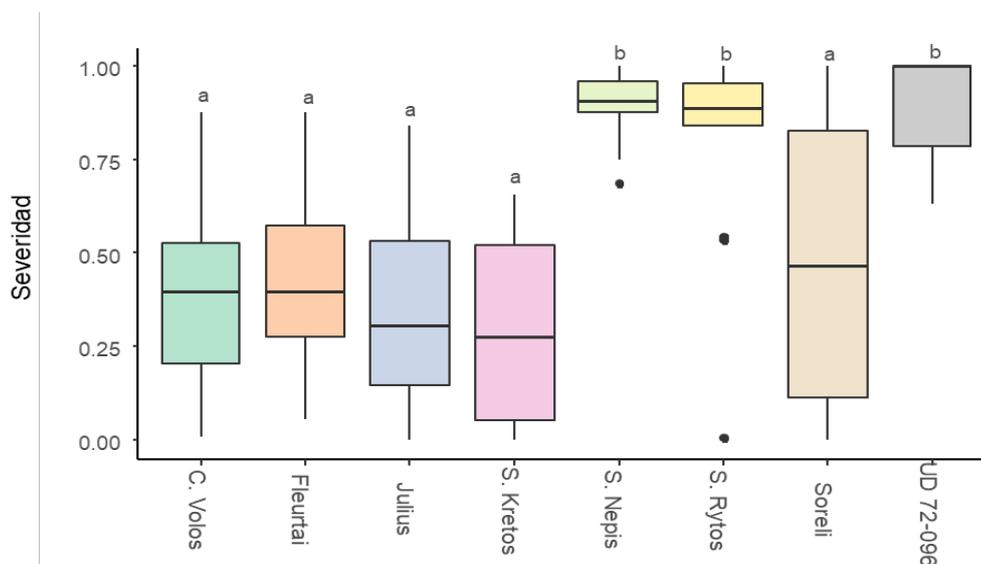
El otro grupo, que se puede identificar como de menor severidad al mildiu, está compuesto por las variedades Sauvignon Kretos, Julius, Fleurtaí, Cabernet Volos y Soreli, las cuales presentan el locus *Rpv 12* de resistencia a *P. viticola*. Esto coincide con lo reportado por Müllner y Zyprian (2022) donde afirma que este locus suele brindar una resistencia más significativa que *Rpv 3*.

La variedad Soreli es la única que posee dos loci piramidados, tanto el locus *Rpv 12* como el *Rpv 3*, por lo que se esperaba que su resistencia al mildiu de la vid fuera superior a las demás por efecto aditivo como lo reportado por Schwander et al. (2012), quien resalta que en variedades donde se presente más de un locus de resistencia la susceptibilidad es menor. Los resultados obtenidos, si bien mostraron que Soreli entró en el grupo de las variedades con menor severidad registrada, no permitieron demostrar que esta variedad se destacase de las demás por su mayor resistencia a la enfermedad. Esto se refleja en lo

mostrado en la Figura N°11, donde la variabilidad de la severidad de Soreli es la más amplia. Esto podría explicarse por el criterio utilizado en la escala de severidad (Figura N°8) y durante la evaluación, cuando se tomó la decisión de atribuir la faltante de hojas a daños por mildiu de la vid atribuyendo de esta forma la mayor categoría de severidad. La realidad es que cabe la posibilidad de que esa ausencia de hojas pudo no deberse a un ataque de mildiu de la vid y si a un daño mecánico u otro factor ambiental causante de la abscisión.

Figura 11

Severidad del mildiu de la vid sobre variedades PIWI evaluada en el cuadro que presenta un manejo integrado con bajo uso de fungicidas dirigidos al control del mildiu de la vid (C3)



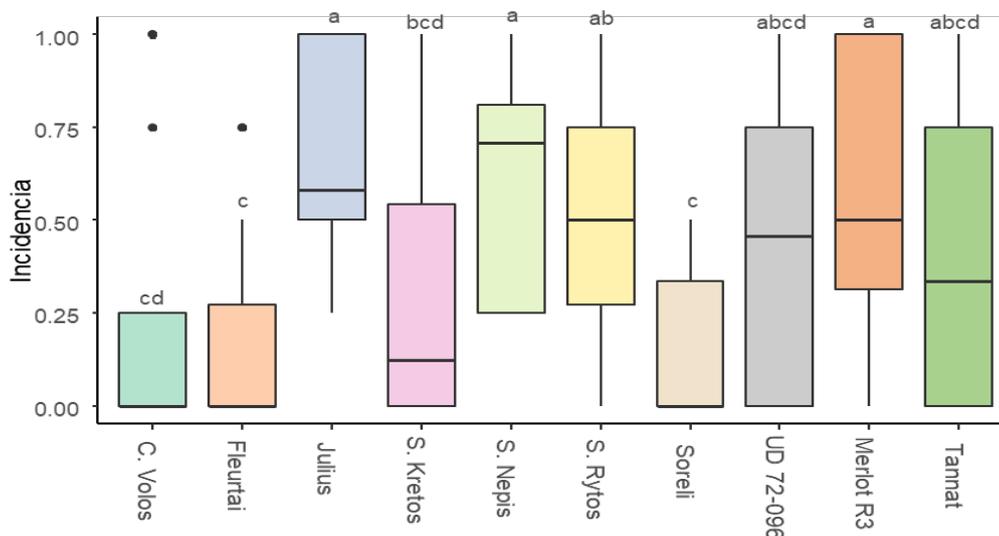
Nota. Letras diferentes presentan diferencias estadísticamente diferentes (GLMbinomial, Tukey, $p < 0,05$).

4.1.2. Susceptibilidad al mildiu de la vid en variedades PIWI bajo un manejo integrado con aplicación de fungicidas para su control

Como se observa en la Figura N°12 no todas las variedades alcanzan una incidencia igual a 1. Incluso las variedades Soreli, Cabernet Volos, Fleurtaí, Sauvignon Kretos y Tannat (testigo) presentaron plantas en las que no se detectó la enfermedad.

Figura 12

Incidencia del mildiu sobre variedades PIWI bajo manejo integrado con aplicación de fungicidas (C4)



Nota. Letras diferentes presentan diferencias estadísticamente diferentes (GLMbinomial con Tukey, $p < 0,05$).

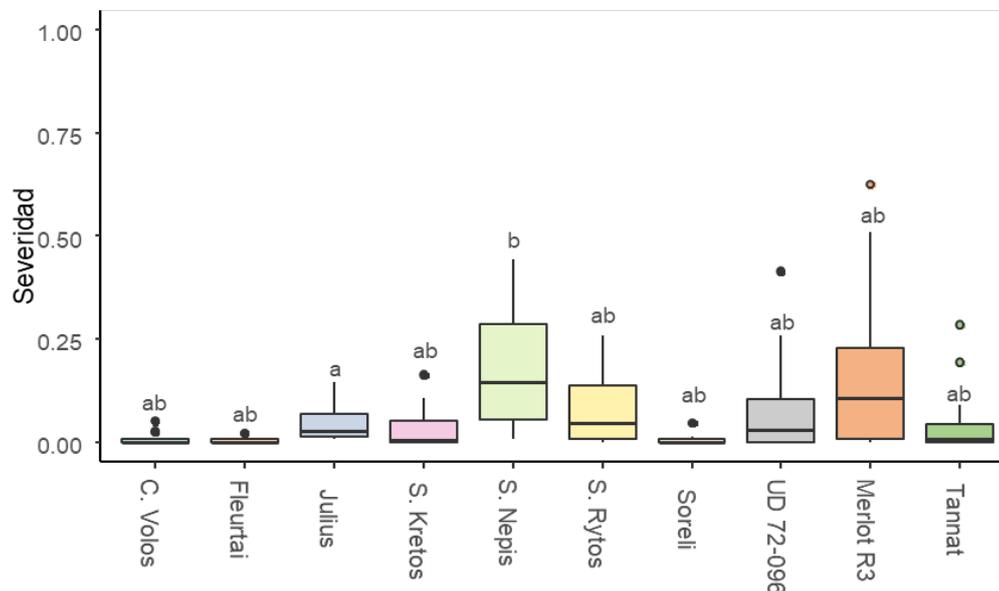
El cuadro bajo manejo integrado con aplicación de fungicida para mildiu de la vid (C4) no mostró una incidencia tan generalizada de la enfermedad como lo observado en el cuadro que no recibió este mismo manejo (C3). El hecho de que algunas variedades se vean más favorecidas que otras con este manejo podría deberse a alguna condición genética, por ejemplo, las cuatro variedades que presentaron plantas sin enfermedad comparten entre ellas la característica de presentar el locus *Rpv 12* de resistencia al mildiu de la vid, apoyando de cierta manera la hipótesis de que la resistencia es diferencial entre variedades PIWI según la presencia de los distintos genes.

No coinciden los resultados de incidencia obtenidos en este ensayo a campo con los de estudios anteriores realizados sobre este mismo material vegetal, donde no se registró presencia de mildiu de la vid durante la zafra 2019 - 2020 (Baietto Díaz, 2022). Considerando que la enfermedad es muy dependiente de las condiciones ambientales durante el período vegetativo, es probable que estas diferencias se deban a la falta de condiciones propicias para que la enfermedad se desarrollara en esa zafra, siendo que no se encontraron registros de problemas graves producidos por mildiu de la vid en esa temporada y localidad, distinto a la temporada en que se realizó el presente trabajo donde las condiciones fueron muy predisponentes para la enfermedad. Algo similar ocurrió en un estudio realizado durante una serie de años (2016-2021), en el cual en algunos años no se registró la enfermedad en las variedades con uno o dos loci de resistencia, por ser muy baja la presión de inóculo en esas temporadas (Wingerter et al., 2022).

Con relación a la severidad, Julius se comportó con una severidad al mildiu de la vid baja, aunque sin presentar diferencias significativas con las restantes variedades, excepto con la variedad Sauvignon Nepis (Figura N°13).

Figura 13

Severidad del mildiu de la vid sobre variedades PIWI en cuadro con manejo integrado y con aplicación de fungicida para el control del mildiu de la vid (C4)



Nota. Letras diferentes presentan diferencias estadísticamente diferentes (GLMbinomial con Tukey, $p < 0,05$).

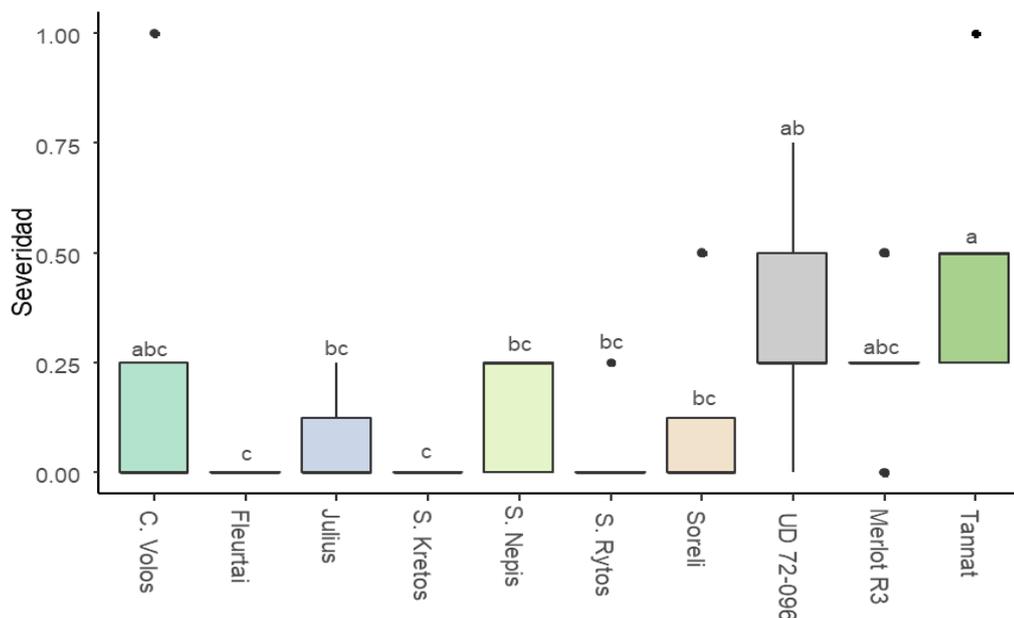
En el cuadro que suele aplicarse fungicida para el control del mildiu, es posible observar que la severidad de la enfermedad en todas las variedades se mantuvo controlada, dentro de un rango comprendido entre 0 y 0,30. Esto puede deberse a la combinación de la resistencia genética de las variedades PIWI con la aplicación del fungicida para mildiu de la vid, asemejándose a los resultados obtenidos por Wingerter et al. (2022) donde variedades resistentes requirieron sólo hasta cuatro aplicaciones de fungicidas para alcanzar niveles de severidad similares a los alcanzados con 14 aplicaciones en cultivares susceptibles. Esto recalca la importancia de las variedades PIWI quienes, al tener una proporción de resistencia adquirida, permiten una reducción significativa del uso de fungicidas, manteniéndose una baja severidad de la enfermedad. Como consecuencia, el impacto ambiental por contaminación, así como los costos operativos y de insumos, bajan sustancialmente (Fröbel et al., 2019).

4.2. ENSAYO EN LABORATORIO, HOJA DESPRENDIDA

El análisis estadístico de la severidad evaluada en hojas desprendidas, detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las variedades. En particular se pudo determinar que la variedad Tannat (testigo) fue la que tuvo mayor severidad comparada con las demás quienes tuvieron un comportamiento intermedio (Figura N°14).

Figura 14

Severidad del mildiu en variedades PIWI evaluadas en hojas desprendidas en placas de petri



Nota. Letras diferentes presentan diferencias estadísticamente diferentes (GLMbinomial con Fisher, $p < 0,05$).

El hecho de que las variedades Tannat y Merlot estuvieran entre las variedades que presentaron los valores de severidad más altos, deja en claro que las condiciones de inoculación fueron aptas para el ensayo, cumpliendo ambas con su rol de variedades testigo.

Si bien los resultados obtenidos no son comparables directamente en plantas infectadas a campo del cuadro C3 y de pruebas en placa en hojas desprendidas, se lograron observar ciertas diferencias que probablemente pudieran deberse a la alta variabilidad de cepas del patógeno que se procuró al mezclar inóculo de varios cultivos de la zona para el ensayo en placa. Existiendo la posibilidad de que en el ensayo a campo (C3) se pueda encontrar un considerable menor número de cepas dispersas en el cuadro, incluso por sectores, datos que no se relevaron en este estudio. Además de que las condiciones en placa, en laboratorio, fueron propicias para el desarrollo de la enfermedad.

En las hojas desprendidas la selección UD 72-096 presentó un comportamiento de media a alta severidad frente a la enfermedad, coincidente con una gran faltante de hojas observada a campo en la misma variedad y la elevada severidad registrada en la evaluación (Figura N°11) del cuadro PIWI con bajo uso de fungicida (C3). Por otro lado, Fleurtaï y Sauvignon Kretos fueron las variedades que dieron como resultado una menor severidad en hoja desprendida. En el caso de Sauvignon Kretos, esta variedad también fue la que alcanzó la menor severidad en condiciones de campo con manejo integrado con bajo uso de fungicida para mildiu (Figura N°13), coincidiendo con los resultados obtenidos en placa. Ambas variedades comparten el locus *Rpv 12* que les confiere la posibilidad de desarrollar mecanismos de defensa (MCP) de forma anticipada frente a la presencia del

patógeno, viéndose así limitado el desarrollo del micelio. Esto comprueba la presencia de un efecto genético inclusive brindando las condiciones favorables para el desarrollo del mildiu (VCR, 2022a, 2022b, 2022c, 2022d, 2022e, 2022f, 2022g; Wingerter et al., 2021).

En hoja desprendida, la variedad Soreli presentó una de las severidades más baja registrada, coincidiendo con las observaciones visuales al momento de la toma de datos en las hojas en el campo. Por lo que las diferencias estadísticas podrían estar influenciadas por suponer que la faltante de hojas se debiera exclusivamente a una afección avanzada de la enfermedad. Para futuros ensayos, debería realizarse un seguimiento periódico de la enfermedad (cada 10 o 15 días aproximadamente) para así descartar la ocurrencia de otros factores como daño mecánico, confirmando así que la pérdida de hojas no se deba solamente al avance de la enfermedad, tal como lo planteado por Zanghelini et al. (2019).

5. CONCLUSIONES

Se confirma la hipótesis de que las variedades PIWI presentan resistencia frente a *P. viticola*, aunque el nivel de resistencia es variable entre ellas. De manera general, la resistencia no es total observándose diferentes grados de incidencia y severidad.

Tal como se menciona en la hipótesis, la resistencia diferencial puede explicarse por la presencia de los diferentes genes *Rpv*. En este estudio los loci evaluados fueron *Rpv* 3, *Rpv* 12 y la combinación de ambos, siendo las variedades PIWI portadoras del locus de resistencia al mildiu *Rpv* 12 las que mostraron, en general, la menor severidad. Estas variedades son Cabernet Volos, Fleurtaí, Julius, Sauvignon Kretos y Soreli.

Durante la temporada de los ensayos, hubo una alta presión de inóculo de *P. viticola*, y condiciones de alta humedad y pluviometría. Esto sumado a la exposición de las variedades PIWI al mildiu de la vid bajo manejo integrado con bajo uso de fungicida destinado al control de esta enfermedad, confirma que la temporada bajo análisis fue propicia para el desarrollo de la enfermedad.

Las variedades PIWI que se mantuvieron bajo un manejo integrado con aplicación de fungicida para mildiu, presentaron valores de severidad sustancialmente menores al cuadro que recibió bajo uso de fungicidas para este fin. Esto demuestra que el uso de fungicidas, como parte de las medidas de control, aporta a una respuesta favorable en las variedades PIWI, destacando las variedades Soreli, Cabernet Volos y Fleurtaí como las de menor incidencia de la enfermedad bajo estas condiciones de manejo.

En el ensayo de hoja desprendida en placa se observó que incluso cuando se brindaron las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad, la severidad registrada no superó un 50% en ninguna de las variedades PIWI, lo que afirma que los diferentes genes *Rpv* presentes en estas variedades, le confieren resistencia al mildiu.

El estudio del comportamiento y uso de estas variedades se proyecta como un camino de investigación, evaluación y difusión que cada vez será más necesario, debido a la necesidad de reducir el uso de productos fitosanitarios, evitar aparición de poblaciones resistentes, buscando así mejorar la sustentabilidad ambiental. También es necesario debido a la necesidad de reducir los costos de producción y por la creciente demanda del consumidor de productos provenientes de producciones sustentables.

Para futuros trabajos de investigación se debe tener en cuenta una frecuencia más alta de relevamiento de datos y observaciones a campo de la enfermedad, para de este modo lograr interpretaciones más certeras del comportamiento de las variedades PIWI. También es importante repetir este trabajo en otras temporadas, de modo de poder evaluar a estas variedades en diferentes condiciones ambientales.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. (2007). *Fitopatología* (2ª ed.). Limusa.
- Armengol, J. (2017). Enfermedades fúngicas en la madera de la vid: Una visión general del problema. *Enoviticultura*, (46), 6-15.
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/101801/Art%C3%ADculo%20Enolog%C3%ADa%2046.pdf?sequence=1>
- Baietto Díaz, B. A. (2022). *Comportamiento agronómico de variedades promisorias de Vitis vinifera L. y de variedades "PIWI" resistentes a Mildiu y Oidio, en el sur de Uruguay* [Trabajo final de grado, Universidad de la República]. Colibrí. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/33496>
- Baptista, B. (2007). La temprana vitivinicultura en Uruguay: Surgimiento y consolidación (1870-1930). *América Latina en la Historia Económica*, (29), 101-127.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-22532008000100003
- Battistella, M. (2009). *Análisis de las posibles causas de la disminución global de rendimientos en el ciclo vegetativo 2008 / 2009 en la provincia de San Juan*. INTA.
- Beretta Curi, A., Sanz Bonino, Bonfanti, D., Bentancur Bossio, A., Polakof, A., & Baptista, B. (2014). *Historia de la viña y el vino de Uruguay: El viñedo y la filoxera (1870-1930)*. CSIC; Udelar.
https://www.fhce.edu.uy/images/CEIL/publicaciones/2020/marzo/ALCIDE_S-BERETTA-CURI-libro-GRIMVITIS-tomodos.pdf
- Bodegas del Uruguay (2022, 3 de agosto). *INAVI lanzó el sello de vitivinicultura sostenible*.
https://www.bodegasdeluruguay.com.uy/noticias/leer/inavi_lanzo_el_sello_de_vitivinicultura_sostenible
- Boso, S., Santiago, J. L., Villaverde Alonoso, V., Gago, P., Martínez, M. C., & Rodríguez, E. (2009). Evaluación de la incidencia a enfermedades fúngicas en diferentes clones del cv. Albariño (*Vitis vinifera* L.). *Phytoma España*, (210), 30-34. <https://digital.csic.es/handle/10261/99471>
- Bove, F., Bavaresco, L., Caffi, T., & Rossi, V. (2019). Assessment of resistance components for improved phenotyping of grapevine varieties resistant to downy mildew. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article e1559.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01559>
- Bove, F., & Rossi, V. (2020). Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* enable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. *Nature Research*, 10(585), Article e585.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-57482-0>

- Casanova, J., Ferrer, C., Bernard, A., Elbaile, A., Ayuso, J., Torres, S., Jarne, A., & Martín, P. (2019). Comportamiento de variedades de vid resistentes a enfermedades fúngicas en la comarca del Somontano. En F. J. García Ramos & P. Martín Ramos (Eds.), *X Congreso Ibérico de Agroingeniería* (pp. 517-526). Universidad de Zaragoza.
https://doi.org/10.26754/c_agroing.2019.com.3447
- Chiang, K. S., Liu, H. I., Chen, Y. L., El Jarroudi, M., & Bock, C. H. (2020). Quantitative ordinal scale estimates of plant disease severity: Comparing treatments using a proportional odds model. *Phytopathology*, 110(4), 734-743. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-18-0372-R>
- Del Moral de la Vega, J. (2017). Historia de las plagas y enfermedades de la vid: Mucho más que una cuestión de Sanidad Vegetal. *Phytoma España*, (288), 17-20.
https://www.phytoma.com/images/pdf/2017/288_abril17_encuentro_vid_historia.pdf
- Dirección General de Servicios Agrícolas. (2022). *Anexo I: Normas para la producción integrada de uva de vino*. MGAP.
<https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/Res.%20N%C2%BA%20138-2022%20-%20Poducci%C3%B3n%20Integrada%20de%20Uva%20de%20Vino%20ANEXO%20I.pdf>
- Duran, N., & Martelli, G. (1992). Las enfermedades de la vid transmisibles por injerto: Una puesta al día: 1 Nepovirus. *Phytoma España*, (38), 28-36.
https://redivia.gva.es/bitstream/handle/20.500.11939/7838/1992_Dur%C3%A1n-Vila_Las%20Enfermedades.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Eisenmann, B., Czermel, S., Ziegler, T., Buchholz, G., Kortekamp, A., Trapp, O., Rausch, T., Dry, I., & Bogs, J. (2019). Rpv3-1 mediated resistance to grapevine downy mildew is associated with specific host transcriptional responses and the accumulation of stilbenes. *BMC Plant Biology*, 19(1), Article e343. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1935-3>
- Fröbel, S., Dudenhöffer, J., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2019). Transcriptome analysis of early downy mildew (*Plasmopara viticola*) defense in grapevines carrying the Asian resistance locus *Rpv10*. *Euphytica*, 215(2), Article e28. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2355-z>
- Google Earth. (2023). [Ubicación del predio bajo estudio y los tratamientos. INIA Las Brujas, Ruta 48 Km 10, Rincón del Colorado, Canelones. Mapa] Recuperado el 15 de marzo de 2023, de <https://www.google.com/intl/es/earth/>
- Hidalgo, L. (2002). *Tratado de viticultura general* (3ª ed.). Mundi-Prensa.

- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. (s.f.). *Banco datos agroclimático*. <http://www.inia.uy/gras/Clima/Banco-datos-agroclimatico>
- Instituto Nacional de Vitivinicultura. (2021). *Estadísticas de viñedos 2021: Datos nacionales*.
<https://www.inavi.com.uy/uploads/vinedo/02b47681b115aafaf1cc5aefcacd581496ffe733.pdf>
- Interreg Sudoe, & Vinovert. (2017). *Rapport d'analyse des coûts de production sur les cepages résistants*.
<https://www.vinovert.eu/images/publications/Analyse-couts-cepages-resistants.pdf>
- Keller, M. (2007). *Grapevine anatomy and physiology*. Washington State University.
- Laboratorio de botánica (2021). *Botánica: Guía curso 2021*. Universidad de la República.
http://fagro2.fagro.edu.uy/~bioveg/downloads/botanica_2021.pdf
- Luke, J., Elena, G., Armengol, J., & Legorburu, J. (2014). Las enfermedades de la madera de la vid: Reflexiones sobre un panorama complejo. *Phytoma España*, (260), 18-24.
- Marini, I. (2019). *Evaluación "in vitro" de la sensibilidad a diferentes fungicidas de cepas de Botrytis cinerea obtenidas de uvas Tannat* [Trabajo final de grado]. Universidad de la República.
- Matocq, G. (2004). *Evaluación de diferentes alternativas de control de rendimiento en Vitis vinifera cv. Syrah* [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Cuyo.
- Moizo Beretta, G. de los Á., Piedra Buena Díaz, A., & Tagliani Martínez, J. C. (2001). *Estudio de complejo sanitario X. index-GFLV en un viñedo del Uruguay* [Trabajo final de grado]. Universidad de la República.
- Müllner, S. (2021). *Zytologische und molekulare Studien zum Resistenzlocus Rpv 12 gegen den Falschen Mehltau der Rebe (Plasmopara viticola)* [Disertación doctoral, Instituto Julius Kühn]. Open Agrar.
<https://doi.org/10.5073/20211105-095339>
- Müllner, S., & Zyprian, E. (2022). The effect of homozygosity of locus *Rpv12* on downy mildew resistance of grapevine leaves. *Vitis*, 61(2), 71-76.
<https://doi.org/10.5073/vitis.2022.61.71-76>
- Observatorio vitivinícola argentino. (2016). *Resistencia a peronóspora en vid*.
<https://observatoriova.com/wp-content/uploads/2017/11/Peronospora-de-la-Vid.pdf>

- PIWI International. (s.f.). *Frequently asked questions*. <https://piwi-international.org/en/about-piwi/frequently-asked-questions/>
- Poehlman, J. (2005). *Mejoramiento genético de las cosechas*. Limusa.
- Polakof, A. (2011). Los términos y sus variantes en los inicios de la viticultura uruguaya: El caso de las enfermedades de la vid. *Lengua y Habla*, (15), 109-128. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=511951371003>
- Qu, J., Dry, I., Liu, L., Guo, Z., & Yin, L. (2021). Transcriptional profiling reveals multiple defense responses in downy mildew-resistant transgenic grapevine expressing a TIR-NBS-LRR gene located at the MrRUN1/MrRPV1 locus. *Horticulture Research*, 8, Article e161. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00597-w>
- Sanz Bonino, V. (2016). Aportes de la Asociación Rural del Uruguay a la viticultura en Uruguay (1872-1900). *Mundo Agrario*, 17(34), Artículo e001. <https://www.mundoagrario.unlp.edu.ar/article/view/MAv17n34a01/7236>
- Schwander, F., Eibach, R., Fechter, I., Hausmann, L., Zyprian, E., & Töpfer, R. (2012). *Rpv10*: A new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(1), 163-176. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1695-4>
- Sturm, J. (2021, 10 de febrero). *PIWis: Wieviel Pflanzenschutz ist erforderlich?* [Contribución]. 68° Württembergische Weinbautagung, Weinsberg. https://rp.baden-wuerttemberg.de/fileadmin/RP-Internet/Themenportal/Landwirtschaft_und_Fischerei/Weinbau/Documents/2021_Dr_Sturm_PiWis.pdf
- Topfer, R., & Hausmann, L. (2021). *Table of loci for traits in grapevine relevant for breeding and genetics*. JKI. https://www.vivc.de/docs/dataonbreeding/20220218_Table%20of%20Loci%20for%20Traits%20in%20Grapevine.pdf
- Triadani, C. (2019). *Caldo Bordelés*. INTA. <https://studylib.es/doc/9060927/inta-cartilla-practica-3-caldo-bordeles>
- Ulloa, M., & Hanlin, R. (2006). *Nuevo diccionario ilustrado de micología*. The American Phytopathological Society.
- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022a). *Cabernet Volos*. <https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/cabernet-volos/>
- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022b). *Fleurtai*. <https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/fleurtai/>
- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022c). *Julius*. <https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/julius/>

- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022d). *Sauvignon Kretos*.
<https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/sauvignon-kretos/>
- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022e). *Sauvignon Nepis*.
<https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/sauvignon-nepis/>
- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022f). *Sauvignon Rytos*.
<https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/sauvignon-rytos/>
- Vivai Cooperativi Rauscedo. (2022g). *Soreli*.
<https://www.vivairauscedo.com/es/ficha-producto/soreli/>
- Wingerter, C., Eisenmann, B., Kortekamp, A., & Bogs, J. (2022). Resistance properties of new fungus-resistant grapevine cultivars against *Plasmopara viticola* and the impact of their deployment on fungicide use in viticulture. *BIO Web of Conferences*, 50, Article e02006.
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20225002006>
- Wingerter, C., Eisenmann, B., Weber, P., Dry, I., & Bogs, J. (2021). Grapevine *Rpv3*-, *Rpv10*- and *Rpv12*-mediated defense responses against *Plasmopara viticola* and the impact of their deployment on fungicide use in viticulture. *BMC Plant Biology*, 21(1), Article e470.
<https://doi.org/10.1186/s12870-021-03228-7>
- Zanghelini, J. A., Bogo, A., Dal Vesco, L. L., Gomes, B. R., Mecabô, C. V., Herpich, C. H., & Welter, L. J. (2019). Response of PIWI grapevine cultivars to downy mildew in highland region of southern Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 154(4), 1051-1058.
<https://doi.org/10.1007/s10658-019-01725-y>