Eficacia biológica de cinco fungicidas sistémicos sobre el desarrollo del mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah

Daniel Castrillo Sequeira

Práctica dirigida para optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo con el grado de Licenciado en Agronomía

Universidad de Costa Rica

Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Escuela de Agronomía

2022

Eficacia biológica de cinco fungicidas sistémicos sobre el desarrollo del mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah

Daniel Castrillo Sequeira

Práctica dirigida para optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo con el grado de Licenciado en Agronomía

María del Milagro Granados Montero, Ph.D.	Directora de Práctica dirigida
6. Umara R.	Miembro del tribunal
Gerardina Umaña Rojas, Ph.D. Mauricio Serrano Porras, Ph.D.	Miembro del tribunal
Luis Felipe Arauz Cavallini, Ph.D.	Miembro del tribunal
Luis Gómez Alpízar, Ph.D.	Director de Escuela
Daniel Castrillo Sequeira	Sustentante

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA	
A. Mercado vinícola mundial y nacional	5
B. El mildiú velloso de la uva	6
C. Manejo agronómico	8
D. Datos de la empresa	10
A. Localización del ensayo	14
B. Diseño experimental y establecimiento de tratamientos	14
C. Recolección de variables climáticas	17
D. Cuantificación de la enfermedad	17
1. Incidencia	17
2. Severidad	18
E. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)	19
F. Porcentaje de eficacia de los fungicidas	19
G. Análisis estadístico	20
1. Análisis de variancia (ANDEVA)	20
V. RESULTADOS	23
Cuantificación y curvas de progreso de la enfermedad	23
Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)	28
Contrastes de hipótesis	30
Porcentaje de eficacia	31
VI. DISCUSIÓN	32
VII CONCLUSIONES	40

VIII. RECOMENDACIONES	40
IX. BIBLIOGRAFÍA	42
X. ANEXOS	61

RESUMEN

El mildiú velloso de la uva (Plasmopara viticola (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) representa uno de los problemas fitosanitarios de mayor impacto económico en el mundo, así como la enfermedad más limitante para la producción en la empresa Vinícola Costa Rica KNB Ltda., ubicada en Copey, Santa María de Dota, San José. En esta zona, las condiciones climáticas favorecen el desarrollo de la enfermedad durante todo el ciclo del cultivo. Esto, sumado a la susceptibilidad de algunas variedades en el viñedo, favorece el la intensidad y el progreso de las epidemias, y el combate químico es la estrategia más utilizada. Para determinar la eficacia biológica de cinco formulaciones: cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb, propamocarb HCl + fosetil-Al, dimetomorf + mancozeb, etaboxam, y ciazofamida, se evaluó la incidencia y severidad de mildiú velloso en hojas y racimos de uva variedad Syrah, bajo aplicaciones semanales de los fungicidas. A partir de 16 evaluaciones, se construyeron las curvas de incidencia y severidad para calcular el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), y se determinó el porcentaje de eficacia biológica de cada fungicida. En los tratamientos con ciazofamida, y la mezcla de cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb, se obtuvo la mayor eficacia, con 56,08 y 52,91 %, respectivamente, y fueron los más efectivos para reducir la incidencia y severidad en las hojas. En los racimos, todos los tratamientos, a excepción de la mezcla de propamocarb HCl + fosetil-Al, lograron reducir la incidencia. El tratamiento con propamocarb HCl + fosetil-Al no fue efectivo para retrasar el progreso de la enfermedad, y presentó la menor eficacia, con un 8,22 %. Las condiciones climáticas propicias y la susceptibilidad varietal permiten la prevalencia de P. viticola en todo momento, de manera que la presión de inóculo en la plantación es alta. Estas circunstancias generan que el efecto de las aplicaciones curativas sea insuficiente, por lo tanto, es fundamental enfocar el manejo hacia un mejor control preventivo.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación FRAC de los principales ingredientes activos utilizados para el
control químico de oomicetes en los cultivos (modificado de Hollomon, 2015) 9
Cuadro 2. Nombre comercial, modo de acción, grupo FRAC, dosis e intervalo de
aplicación de los fungicidas utilizados para el combate del mildiú velloso (Plasmopara
viticola (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en uva (Vitis vinifera L.) variedad Syrah.
Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020
Cuadro 3. Valores de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) para la
incidencia y severidad del mildiú velloso (Plasmopara viticola (Berk. & M.A. Curtis)
Berl. & De Toni), en hojas y racimos de uva (Vitis vinifera L.) variedad Syrah, bajo 14
aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo. Copey,
Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020
Cuadro 4. Prueba de contrastes para la severidad de mildiú velloso (Plasmopara viticola
(Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas de uva (Vitis vinifera L.) variedad Syrah.
Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formación de una planta de uva (Vitis vinifera L.) después de la brotación, bajo
un sistema de siembra doble cordón
Figura 2. Diagrama del arreglo espacial de una unidad experimental (parcela) para determinar el porcentaje de incidencia y severidad de mildiú velloso (<i>Plasmopara viticola</i> (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas y racimos de uva (<i>Vitis vinifera</i> L.
variedad Syrah
Figura 3. Porcentaje de incidencia acumulada de mildiú velloso (<i>Plasmopara viticola</i> (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas de uva (<i>Vitis vinifera</i> L.) variedad Syrah bajo aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo atomizados durante 16 semanas, desde el estado fenológico D: salida de hojas, hasta el J cuajado. (★: fumigación no realizada). Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020
Figura 4. Porcentaje de severidad de mildiú velloso (<i>Plasmopara viticola</i> (Berk. & M.A Curtis) Berl. & De Toni) en hojas de uva (<i>Vitis vinifera</i> L.) variedad Syrah, bajo aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo, atomizados durante 16 semanas, desde el estado fenológico D: salida de hojas, hasta el J: cuajado (*: fumigación no realizada). Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020
Figura 5. Porcentaje de incidencia acumulada de mildiú velloso (<i>Plasmopara viticola</i> (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en racimos de uva (<i>Vitis vinifera</i> L.) variedad Syrah, bajo aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo atomizados durante 16 semanas, desde el estado fenológico I: floración, hasta el N maduración. (*: fumigación no realizada). Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.
Figura 6. Porcentaje de eficacia de cinco fungicidas con acción sistémica para el combate del mildiú velloso (<i>Plasmopara viticola</i> (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas y racimos de uva (<i>Vitis vinifera</i> L.) variedad Syrah, aplicados durante 16 semanas. Copey Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020. Las barras sobre columnas corresponden a error estándar (n=4).

I. INTRODUCCIÓN

La vid o uva (*Vitis vinifera* L.) es una planta leñosa perenne de la familia Vitaceae. Su centro de origen corresponde al territorio entre Irán y el Mar Negro, donde fue domesticada desde el año 6 000 a.C., y dispersada a las regiones central y occidental de Europa, sus otros centros de domesticación (Grassi et al., 2003; Terral et al., 2010). Esta especie es la de mayor interés económico dentro del género *Vitis*, y es cultivada globalmente en regiones templadas, en más de 44 países; de ellos, España es el mayor productor de uva e Italia el mayor productor de vino (Gerrath et al., 2015; OIV, 2021).

La uva fue introducida al sur de Brasil durante el siglo XVI, desde donde se introdujo a otras regiones tropicales, y la viticultura se ha documentado desde hace más de 50 años en algunos de los países tropicales (Camargo et al., 2008). No obstante, las variedades de zonas templadas se adaptan con dificultad al clima tropical, lo que altera la fenología del cultivo, afectando la producción y calidad de los racimos (Demir, 2014). A pesar de esto, el interés en explotar la viticultura en zonas tropicales ha crecido, pues, ante la ausencia de estaciones, las plantas no expresan dormancia, de manera que puede obtenerse más de una cosecha al año (Mosedale et al., 2016).

En las zonas cultivadas, las condiciones climáticas influyen en el desarrollo de las enfermedades que afectan la uva, y limitan la producción de los viñedos (Kassemeyer, 2017). Wilcox et al. (2015) reportan al menos 33 causadas entre hongos y oomicetes, tres por bacterias, seis por fitoplasmas, cinco por nematodos y 15 entre virus y viroides. En términos de impacto económico, el mildiú velloso, provocado por el oomicete *Plasmopara viticola* (Berk y M.A. Curtis) Berl. y De Toni, es la enfermedad más limitante, generando pérdidas de hasta USD \$ 4,6 millones/año (Taylor y Cook, 2018).

El mildiú velloso se desarrolla sobre las hojas y racimos de la mayoría de cultivares de *V. vinifera*, y es altamente destructivo en zonas vinícolas húmedas (Caffi et al., 2013). Cuando las condiciones climáticas son favorables, y el combate es insuficiente, esta enfermedad puede provocar pérdidas de hasta un 100 % en la producción (Ash, 2017; Buonassisi et al., 2017). Aparte de afectar a la planta en todas sus etapas de desarrollo (CABI, 2021), cuando la infección es severa, ocurre defoliación, exponiendo los racimos a quemaduras solares y reduciendo su contenido de azúcares; consecuentemente, las uvas pierden características deseables para el consumo (Taylor, 2021).

Con el objetivo de obtener variedades resistentes, se han realizado programas de mejoramiento, a través de hibridación interespecífica y selección asistida por marcadores, (Buonassisi et al., 2017; Lin et al., 2019; Prajongjai et al., 2014; Toffolatti et al., 2018; Zini et al., 2019); no obstante, en la actualidad no existen cultivares de interés comercial resistentes al mildiú velloso, por lo que el combate químico es la alternativa más eficaz. Los fungicidas, sin embargo, son costosos, y la cantidad de moléculas utilizadas para el manejo se reduce cada vez más, por un lado, ante la pérdida de sensibilidad por parte del patógeno, por otro, debido a que el mercado demanda productos con menor carga de agroquímicos (Hollomon, 2015).

En Costa Rica, el VI Censo Nacional Agropecuario del Instituto Nacional de Estadístico y Censos (INEC, 2015), no reporta datos de área ni variedades de uva sembradas en el país. Por otro lado, existen registros de que ha sido cultivada desde 1980 (Barquero, 2016), en los cantones de Carrillo, Atenas, La Garita, Santa María de Dota, Puriscal, Acosta y Curridabat (Pymes, El Financiero, 2015; Barquero, 2016; Fernández, 2016). Si bien lo anterior ofrece una perspectiva para explotar la viticultura en distintas zonas del país, al momento, ningún tipo de plaguicida está registrado para su uso en uva, de acuerdo con la base de datos del Servicio Fitosanitario del Estado (SFE, 2022). Esta condición dificulta el establecimiento de viñedos en el país, limitando el manejo fitosanitario y la proyección de las pequeñas empresas para insertarse en la cadena comercial.

Además de los trabajos en propagación de *V. vinifera* en Costa Rica (Loría Quirós, 2005), se han realizado estudios *in vitro* sobre el efecto de fungicidas en el desarrollo de *P. viticola* (Araya, 1999). Sin embargo, la información relacionada al manejo químico de esta enfermedad continúa siendo escasa, lo que genera vacíos técnicos en el desarrollo de la actividad vitícola existente en el país. Particularmente, la ralentización en el registro de fungicidas provoca que el efecto de los problemas fitosanitarios, como el mildiú velloso, sean mayores.

En esta investigación, se pretende evaluar el efecto de cinco fungicidas sobre el desarrollo de mildiú velloso en la variedad Syrah, la más susceptible de la empresa Vinícola Costa Rica KNB Ltda., ubicada en el distrito de Copey, San María de Dota, San José, Costa Rica. Los fungicidas seleccionados, con ingredientes activos de diferente familia química y sitio de acción, fueron elegidos para observar una mayor diversidad de

respuestas entre los tratamientos, y con el fin de identificar los mejores productos, para posteriormente evaluar su eficacia en el programa de manejo agronómico que utiliza la empresa.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la eficacia biológica de cinco fungicidas sistémicos sobre el desarrollo del mildiú velloso de la uva (*Plasmopara viticola*) en una plantación vinícola variedad Syrah, durante el periodo 2020-2021.

Objetivos específicos

- 1. Establecer la curva de desarrollo del mildiú velloso (*Plasmopara viticola*) en uva (*Vitis vinifera*) variedad Syrah con y sin efecto de fungicidas sistémicos.
- 2. Determinar el porcentaje de eficacia de cinco fungicidas sistémicos sobre el desarrollo del mildiú velloso (*Plasmopara viticola*), en una plantación vinícola variedad Syrah.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A. Mercado vinícola mundial y nacional

En la actualidad, la producción mundial de uva genera alrededor de USD \$136 billones (Wood, 2019). Para el 2020, el área global cultivada fue de aproximadamente 7,3 millones de hectáreas (OIV, 2021), y en el 2018, la productividad estimada fue de 77,8 millones de toneladas; del total, el 57 % fue utilizado para la elaboración de vino, 36 % para consumo fresco, y 7 % deshidratado (OIV, 2019).

Aunque existen más de 10 000 variedades, solo 33 cubren más del 50 % del área global cultivada (Robinson et al., 2013). Algunas variedades son sembradas en múltiples regiones del mundo; por ejemplo, Cabernet Sauvignon, que es la más cultivada para vino. Otras están delimitadas a una sola región, como el cultivar Kyoho, el cual encabeza la producción para consumo fresco (OIV, 2017).

Además de ser consumido por su sabor y complemento a la comida, el vino posee propiedades funcionales, ya que contiene un alto porcentaje de flavonoides y estilbenoides, dos tipos de polifenoles con actividad antioxidante, asociados a la prevención de enfermedades, y cuyo contenido varía según el cultivar e índice de cosecha (Giovinazzo y Grieco, 2015). Estas sustancias le otorgan al vino características organolépticas deseadas como color, sabor, astringencia y amargor (Liang et al., 2014; Soares et al., 2017).

Ante las variaciones en los regímenes hídricos y de temperatura, por efecto del cambio climático, Lallanilla (2013) advierte que la distribución geográfica de la viticultura se verá alterada en los próximos 50 años. Pese a que la mayoría de los cultivares en Europa se aclimatan rápidamente hacia zonas polares, el cambio en los rangos climáticos óptimos para su cultivo dificulta el mantenimiento y establecimiento de los viñedos (Tate, 2001). Según Mozell y Thachn (2014), este panorama podría provocar una migración de la actividad vinícola en Norteamérica, Europa y Sudamérica, hacia regiones más altas y frías, así como una alta disminución en Australia y Sudáfrica; en contraste, China destaca como el único país con potencial crecimiento en la industria.

Esta proyección representa un desafío para la viticultura, pues algunos parámetros enológicos de calidad están asociados a cualidades determinadas por la región en la que se produce la uva (Moriondo et al., 2013). Por esta y otras razones, ha surgido la necesidad de generar modelos predictivos para el sistema clima—suelo—variedad, con perspectiva a explorar otras regiones viables para la producción vinícola (Mosedale et al., 2016), incluyendo zonas tropicales (Carbonneau, 2011).

En Costa Rica, la actividad vinícola no es significativa, y la explotación ocurre a nivel de pequeñas y medianas empresas. La variedad en las condiciones climáticas de las zonas en donde se ha registrado su cultivo (Pymes, El Financiero, 2015; Barquero, 2016; Fernández, 2016), demuestra la capacidad para la producción vinícola en una latitud inusual, con la posibilidad de incorporarse al mercado mundial. No obstante, al ser un cultivo no tradicional, no hay información técnica suficiente que respalde la promoción de esta actividad. Estas limitaciones también generan desactualización en los procesos de registro de plaguicidas, de forma que dificultan el combate de problemas fitosanitarios como el mildiú velloso.

B. El mildiú velloso de la uva

Una gran proporción de los cultivares para vinicultura son susceptibles al mildiú velloso (Wilcox et al., 2015). El agente causal, *Plasmopara viticola*, es un parásito biotrófico obligado (Langcake y Lovell, 1980). La clasificación taxonómica lo ubica dentro del reino Chromista, filo Oomycota, clase Peronosporea, orden Peronosporales, y familia Peronosporaceae (Index Fungorum, 2022); aunque no es un hongo verdadero, ecológica y epidemiológicamente tiene un comportamiento similar (Kassemeyer et al., 2015). Esta especie se ha reportado en al menos 98 países, y es patogénico para cinco hospederos, de los cuales *V. vinifera* y *V. labrusca* son variedades comerciales, y *V. riparia*, *V. aestivalis* y *V. vulpina*, variedades silvestres (Rouxel et al., 2014).

Este patógeno afecta significativamente los viñedos, cuando existen las condiciones climáticas favorables para su desarrollo y el de la epidemia. En zonas templadas, al inicio de la primavera, cuando las temperaturas exceden los 10 °C, la humedad relativa es mayor al 95 %, y la frecuencia de las lluvias aumenta, las estructuras de sobrevivencia del patógeno (oosporas) germinan, si una lámina de agua permanece al

menos por 24 h (Cantoral y Collado, 2011). A través de un tubo germinativo, se forma un macrosporangio, el cual contiene las zoosporas biflageladas; estas, dispersadas por el agua de lluvia y el viento, penetran el tejido vegetal vivo, colonizan, infectan y se reproducen de nuevo, completando su ciclo de vida (Ash, 2017).

Cuando las zoosporas son liberadas del macrosporangio, estas nadan en la lámina de agua hacia los estomas, se enquistan, germinan y penetran a través de ellos; en la cavidad sub-estomatal, forman una vesícula, desde donde las hifas se ramifican y colonizan las células del mesófilo para producir haustorios (Agrios, 2005). Esta estructura se encarga de absorber los nutrientes de las células (Yin et al., 2017; Yu et al., 2012). Kassemeyer et al. (2015) y Rossi et al. (2013) indican que la esporulación ocurre con temperaturas mayores a 13 °C, humedad relativa de 95 % y al menos 4 h de oscuridad, completando así el periodo latente.

El periodo de incubación también ocurre en función de la temperatura; normalmente, los síntomas suelen aparecer de 4 a 6 días después del inicio de la infección, pero puede extenderse hasta 21 días (Gessler et al., 2011). Además, este evento varía según el órgano de la planta infectado y la resistencia ontogénica expresada (Ash, 2017; Rossi et al., 2013). Este periodo es más corto a temperaturas entre 20- 25 °C y en hojas nuevas, y más largo a temperaturas menores de 12 °C y en hojas viejas (CABI, 2021).

La sintomatología del mildiú velloso se manifiesta en todos los tejidos verdes de la planta (Kassemeyer et al., 2015). Los síntomas iniciales aparecen en el haz de las hojas nuevas como pequeños círculos cloróticos de aspecto grasiento, alrededor de los cuales se observa un halo café oscuro (Kennelly et al., 2007; Rossi et al., 2013). En las hojas viejas, las venas delimitan las lesiones, formando pequeñas manchas angulares que crecen y coalescen hasta cubrir todo el tejido (Musetti et al., 2005).

En otros tejidos, como zarcillos, peciolos e inflorescencias, los síntomas se observan de forma similar a las hojas; en tejidos de rápida elongación celular, como el raquis y los ápices, se presenta epinastia y enrollamiento, tras lo que ocurre la caída prematura del órgano (Carisse et al., 2018). Por su parte, los frutos se tornan de color gris si al menos uno dentro del racimo es infectado (Jackson, 2014).

La esporulación es observada en el envés de las hojas y sobre los demás tejidos infectados; el micelio, que se desarrolla alrededor de las lesiones, es de color blanco y

tiene aspecto algodonoso (Taylor, 2021). Tras la esporulación, la proporción de tejido necrótico aumenta y eventualmente ocurre la abscisión de los órganos afectados y la defoliación total de la planta (Kassemeyer et al., 2015).

C. Manejo agronómico

Tradicionalmente, el mildiú velloso de la uva se ha manejado bajo el combate químico (Agrios, 2005). A finales del siglo XIX, en Bordeaux, Francia, se observó una reducción de la enfermedad al fumigar con un compuesto elaborado a partir de sulfato de cobre e hidróxido de calcio, conocido desde entonces como "caldo bordelés" (Gessler et al., 2011). Desde entonces, las sales de cobre son usadas para prevenir infecciones secundarias en los programas de fumigaciones de los viñedos, durante los periodos de mayor susceptibilidad (Ash, 2017).

Hollomon (2015) señala que existen 12 grupos de fungicidas disponibles para el control de oomicetes, según la lista de códigos del Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) (Cuadro 1). No obstante, Corio-Costet (2011) y Hollomon (2015) reportan que para tres grupos químicos: fenilamidas (PAs), inhibidores externos de la quinona (QoIs) y amidas de ácidos carboxílicos (CAAs), existe resistencia cruzada entre moléculas de distinta acción bioquímica, de forma que su uso consecutivo es restringido.

Ante las desventajas del combate químico, otras formas de manejo se han implementado en todo el mundo. El cruce convencional de cultivares comerciales con variedades silvestres, para el desarrollo de materiales resistentes, ha sido empleado (Ash, 2017; Prajongjai et al., 2014); sin embargo, Pacifico et al. (2013) y Toffolatti et al., (2018) indican que los parentales silvestres segregan caracteres que afectan factores de calidad del vino. El cruce a través de selección asistida por marcadores (MAS) también se ha desarrollado con el mismo fin, a través de la identificación de locus de rasgo cuantitativo (QTLs) y mapeo de genes asociados con la resistencia a *P. viticola* (Divilov et al., 2018; Lin et al., 2019; Zini et al., 2019), y representa una estrategia promisoria; no obstante, poco investigada hasta el momento.

Cuadro 1. Clasificación FRAC de los principales ingredientes activos utilizados para el control químico de oomicetes en los cultivos (modificado de Hollomon, 2015).

Modo de acción FRAC	Grupo químico	Grupo bioquímico	Nombre común (ingrediente activo)	Código FRAC
Metabolismo de ácidos nucleicos	PAs (Fenilamidas)	Acilalaninas	Mefenoxam/Metalaxil	4
Desconocido	Oximas de cianoacetamida	Oximas de cianoacetamida	Cimoxanilo	27
	Benzamidas	Piridinilmetil- Benzamidas	Fluopicolida	43
Citoesqueleto/ proteínas		Toluamidas	Zoxamida	22
motoras	Tiazol- carboxamidas	Etilamino-tiazol- carboxamidas	Etaboxam	22
		Amidas de ácido cinámico	Dimetomorf	40
Biosíntesde pared celular	CAAs (Amidas de ácidos carboxílicos)	Amidas de ácido mandélico	Mandipropamida	40
		Carbamatos de	Iprovalicarb	40
		valinamida	Bentiavalicarb	40
	QiIs (Inhibidores internos	Sulfamoil-	Ciazofamida	21
	de la quinona)	triazoles	Amisulbrom	21
		Oxazolidin- dionas	Famoxadona	11
Respiración	QoIs (Inhibidores externos	Imidazolinonas	Fenamidona	11
	de la quinona)	Metoxiacrilatos	Azoxistrobina	11
		(estrobilurinas)	Piraclostrobina	11
	QoSIs (QoIs con enlace tipo estigmetalina)	Triazolo- primidilamina	Ametoctradina	45
	Ditiocarbamatos	Ditiocarbamatos	Mancozeb	M 03
Multisitio	Cloronitrilos/Ftalonitrios	Cloronitrilos	Clorotalonil	M 05
	Inorgánicos	Inorgánicos	Cobre (sales)	M 01
Inductor de resistencia	Fosfonatos	Etil fosfonatos Fosetil-Al		P 07 (33)

En Costa Rica, estudios sobre la eficacia *in vitro* de fungicidas sistémicos revelaron que existen poblaciones de *P. viticola* resistentes al metalaxil y oxadixil (Araya, 1999). De igual manera, Hord y Araya (1996) demostraron que el uso del metalaxil (8 %) + mancozeb (64 %) en plantas jóvenes de uva no es eficaz para combatir esta enfermedad. Araya (1999) también sugirió orientar el manejo de la enfermedad a aplicaciones preventivas, con alternancia de moléculas que reduzcan el desarrollo de resistencia, e incorporando prácticas culturales que disminuyan la presión de inóculo.

El combate cultural es recomendado en programas de manejo integrado para reducir la carga de agroquímicos en los viñedos; sin embargo, su efecto por separado puede no ser significativo en presencia de condiciones climáticas favorables para la epidemia (Gessler et al., 2011). Las estrategias están enfocadas a prácticas que reduzcan la permanencia de humedad en el ambiente y el follaje, como el manejo del drenaje e irrigación, ya que favorecen la infección secundaria (Cantoral y Collado, 2011). Además, aplicar técnicas como el tutorado y la poda, que modifican la arquitectura del dosel, también promueven el flujo de aire a través de las plantas (Ash, 2017).

Taylor (2019) indica que el uso de maquinaria y material vegetativo limpio, una adecuada densidad de siembra, y un nivel de nitrógeno equilibrado, previenen la infección; además, sugieren el uso de estaciones meteorológicas para monitorear, en tiempo real, al menos los cuatro factores principales que favorecen la enfermedad: temperatura, humedad relativa, precipitación y mojadura foliar.

Actualmente, no existen reportes de controladores biológicos eficaces en el combate de *P. viticola*. Para la viticultura orgánica, Romanazzi et al. (2016) proponen compuestos a base de laminarina y quitosano como alternativa a fungicidas químicos.

D. Datos de la empresa

La finca de Vinícola Costa Rica KNB Ltda. está ubicada en el distrito de Copey, Santa María de Dota, San José, a una altitud aproximada de 2 200 m.s.n.m., y cuenta con un área sembrada de 10 ha, entre algunas variedades de uva y otros cultivos. La edad de la plantación depende de la variedad. La finca tiene alrededor de 13 años de operación, sin embargo, aún no cuenta con un historial de rendimiento, porque hasta la vendimia

(cosecha) del 2020 se obtuvieron racimos de calibre comercial (M. Serrano, comunicación personal, 7 de mayo de 2020); además, el dato de productividad lo administran en términos de litros de vino producidos.

De los problemas fitosanitarios presentes, el mildiú velloso es el más limitante, provocando pérdidas que, aunque no han sido estimadas, se han observado en diferente magnitud, en todas las variedades (M. Serrano, comunicación personal, 7 de mayo de 2020). De acuerdo con el dueño de la finca, el vino de la variedad Syrah dio uno de los mejores resultados en la catación del ciclo 2019-2020; no obstante, es también la más susceptible en el viñedo. En esta variedad se han encontrado lesiones en hojas nuevas y viejas (o "sazonas"), inflorescencias, racimos, e incluso en los brazos, cuya importancia es mayor, ya que afecta las yemas del siguiente ciclo (Figura 1).

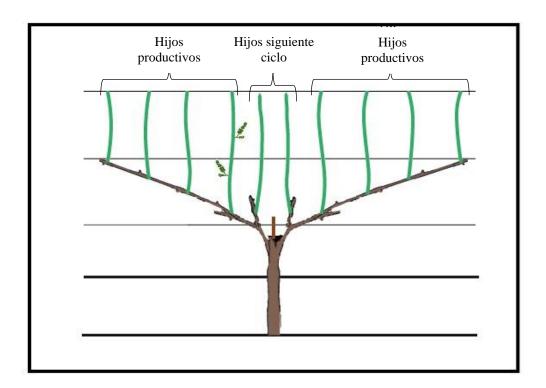


Figura 1. Formación de una planta de uva (*Vitis vinifera* L.) después de la brotación, bajo un sistema de siembra doble cordón.

Por efectos de latitud y ausencia de estaciones marcadas, el desarrollo de la planta está desfasado con respecto a otras regiones vinícolas de clima templado (R. Jiménez, comunicación personal, 7 de mayo de 2020). Esta condición genera que el periodo vegetativo sea prologando, de forma que el patógeno se reproduce por más tiempo durante

un ciclo. En consecuencia, los ingenieros que asesoran la finca expresan que el cultivo es susceptible al mildiú velloso la mayor parte del ciclo, ya que se cumplen tres condiciones favorables para la enfermedad: 10 cm de tejido foliar emitido, al menos 10 mm de lluvia y más de 10 ° C.

Después de la vendimia, el cultivo se deja en el campo y prácticamente no se le hace ningún manejo, con el objetivo de que las hojas transloquen los nutrientes restantes al tronco (sazonen), y este acumule las reservas para la brotación del siguiente ciclo (R. Jiménez, comunicación personal, 7 de mayo de 2020). Luego de que las hojas sazonan, se aplica una dosis alta de una fuente amoniacal como quemante. En función de la luna menguante, se realiza una poda de las ramas productivas (hijos) del ciclo anterior, dejando dos hijos por brazo. Tras la poda, se aplica un compensador de frío, para romper la dormancia de las yemas y lograr la brotación, aproximadamente un mes después.

Como parte del manejo integrado, las estrategias de combate cultural de plagas y enfermedades son consideradas en toda la finca. En general, utilizan injertos con patrones enanizantes, resistentes a plagas de suelo o con un sistema radical más vigoroso. Además de ser parte del protocolo técnico del cultivo, la poda y la deshija facilitan el combate de la enfermedad, reducen la densidad del dosel y favorecen la aireación. Asimismo, cuando la presión de inóculo es alta, se hace una limpieza sanitaria de las hojas más afectadas y se remueven de la plantación.

Aparte del combate cultural, una amplia variedad de fungicidas de contacto, translaminares y sistémicos, han aplicados para reducir el impacto de la enfermedad; sin embargo, indican que la eficacia de muchos ingredientes activos ha disminuido. En esta finca se ha observado que los productos de contacto a base de cobre y azufre no son efectivos durante la época lluviosa, mientras que los productos biológicos, como los formulados con *Bacillus subtilis*, no han dado una buena respuesta. Por su parte, las estrobilurinas, a dosis comerciales y menores, han ocasionado fitotoxicidad. Durante el periodo 2019-2020, los mejores resultados se obtuvieron al aplicar fungicidas a base de ciazofamida.

La prolongación en el crecimiento vegetativo, por efecto de una baja temperatura promedio en la zona, dificulta el manejo agronómico de la finca, y los ingenieros reconocen que es más difícil cultivar allí que en los viñedos hermanos, ubicados en Israel y California; sin embargo, han comprobado que, a mayor altitud de la plantación, mejores

son los resultados en la catación. Por este motivo, evaluar productos que puedan incorporarse de forma rotativa al programa de atomizaciones, representa una prioridad para el desarrollo de su industria.

La empresa utiliza el modelo de fenología desarrollado por Baggiolini (1952), el cual consta de 16 estados (Anexo 1). Previo a cada ciclo, el departamento técnico establece un calendario con las fechas estimadas para cada evento fenológico.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Localización del ensayo

El ensayo se realizó en los lotes G1 y G2, Finca # 2, de la empresa Vinícola Costa Rica KNB Ltda., ubicada a 2 200 m.s.n.m., en Copey de Santa María de Dota, San José, Costa Rica (Anexo 2). Ambos lotes suman un área aproximada de 3 900 m², y están cultivados con la variedad Syrah. Los patrones fueron sembrados en el 2015, y luego injertados en el 2018. El sistema de siembra es de doble cordón, con un espaciamiento de 1,25 m entre plantas, y 1,70 m entre hileras, para un total de 1 500 plantas distribuidas en 55 hileras.

Los lotes cumplieron con el mismo programa de manejo nutricional y fitosanitario del resto de la plantación: fertilización granulada o por fertirriego, dependiendo de la época del año, y fumigaciones semanales o quincenales, según la etapa fenológica. No obstante, se suspendieron las aplicaciones en *drench* de dos fungicidas: fosetil-aluminio y metalaxil, ya que ambos interferían con el efecto individual de los tratamientos.

B. Diseño experimental y establecimiento de tratamientos

Los seis tratamientos fueron dispuestos bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, para lo cual, se conformaron un total de 24 parcelas de mínimo 102 m² distribuidas en cuatro bloques. Cada parcela constituyó una unidad experimental. Los bloques no se distribuyeron adyacentemente, garantizando la mayor uniformidad posible dentro de cada bloque. Para cada tratamiento, se evaluó el efecto de un fungicida sobre el desarrollo de la enfermedad. La información de los fungicidas seleccionados para esta investigación se detalla en el Cuadro 2, en donde el quinto tratamiento corresponde a un producto comercial de referencia.

Cuadro 2. Nombre comercial, modo de acción, grupo FRAC, dosis e intervalo de aplicación de los fungicidas utilizados para el combate del mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah. Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.

Tratamientos/ Ingrediente(s) activo(s)	Nombre comercial	Modo de acción	Grupo FRAC	Dosis	Intervalo de aplicación (días)
cimoxanilo (8 %), fosetil- Al (6 %), mancozeb (64 %)	Contralor 78 WP (UPL Ltd.)	U: desconocido, P: inductor de defensa del hospedero, M: multisitio	cianoacetamida-oxima, fosfonatos, ditiocarbamatos	2- 3 kg ha ⁻¹	*
propamocarb HCl (53 %), fosetil- Al (31 %)	Prevalor® 84 SL (Bayer CropScience)	F: síntesis o transporte de lípidos/integridad o función de la membrana, P: fosfonatos	carbamatos, fosfonatos	2 L ha ⁻¹	*
dimetomorf (9 %), mancozeb (60 %)	Acrobat MZ® 69 WP (BASF Crop Protection)	H: biosíntesis de pared celular, M: multisitio	CAA (amidas de ácidos carboxílicos), diticarbamatos	2,5 kg ha ⁻¹	5 – 10
etaboxam (10 %)	Ethofin® 10 SC (SummitAgro Colombia S.A.S.)	B: citoesqueleto y proteínas motoras	tiazol-carboxamidas	0,9 L ha ⁻¹	7
ciazofamida (40 %) **	Rahman® 40 SC (ISK Biosciences)	C: respiración celular	QiI (inhibidores internos de la quinona)	0,25 L ha ⁻¹	7
testigo					

^{*} Intervalo no se reporta en días, sino basado en resultados de monitoreos

^{**} Producto de referencia

Cada parcela se delimitó con forma rectangular, para obtener un arreglo espacial compacto. Las parcelas consistieron en seis plantas de parcela útil y 36 plantas de borde mínimo (Figura 2). Las plantas de la parcela útil fueron enumeradas del uno al seis.

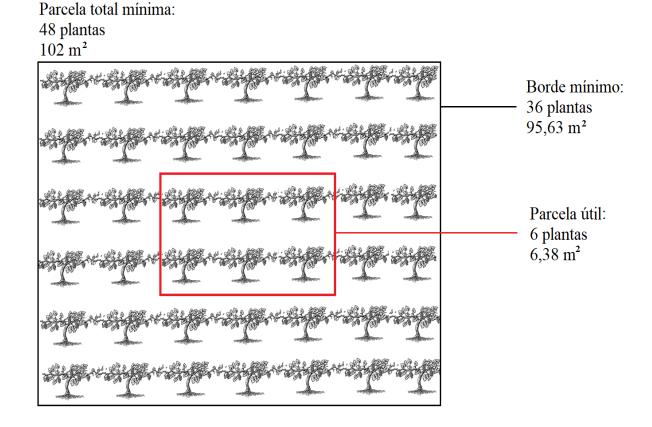


Figura 2. Diagrama del arreglo espacial de una unidad experimental (parcela) para determinar el porcentaje de incidencia y severidad de mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas y racimos de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah.

Los fungicidas fueron aplicados a la dosis más alta especificada en la etiqueta de cada producto, a un intervalo de siete días. El testigo fue atomizado con agua. Cada semana, el volumen de la mezcla se ajustó a una calibración quincenal previa. Las aplicaciones se realizaron con una bomba de motor STIHL SR 420 (Andreas Stihl AG & Company, Waiblingen, Alemania), y comenzaron en el estado fenológico D: salida de hojas, iniciando

desde el 8 de setiembre, hasta el estado fenológico J: cuajado, el 15 de diciembre del 2020.

C. Recolección de variables climáticas

Las tres principales variables climáticas que influyen sobre el inicio de la epidemia: temperatura (°C), humedad relativa (%) y precipitación (mm) (Fernández-González et al., 2019), fueron medidas cada 30 minutos, desde el 7 de setiembre del 2020 hasta el 22 de febrero del 2021, a través de la estación meteorológica ubicada en la finca (WS-2000 Weather Station, Ambient Weather). A partir de estos datos, se calculó el promedio diario de temperatura y humedad relativa (Anexos 3 y 4), así como la precipitación semanal acumulada (Anexo 5).

D. Cuantificación de la enfermedad

Para cuantificar el desarrollo de la epidemia de mildiú velloso, se realizaron semanalmente mediciones no destructivas de dos variables: incidencia y severidad.

1. Incidencia

Esta variable se determinó sobre las hojas y racimos de uva. Durante el estado fenológico D: salida de hojas, se escogió, de forma aleatoria, un hijo productivo por planta (Figura 1), sobre el cual, se calculó la incidencia de la enfermedad en las hojas.

Las evaluaciones en las hojas iniciaron en el estado fenológico D: salida de hojas, y finalizaron en J: cuajado. En el caso de los racimos, las evaluaciones iniciaron en el estado fenológico I: floración, y finalizaron en N: maduración. En cada una de las ramas productivas, se determinó el porcentaje de incidencia sobre las hojas completamente expandidas (Ecuación 1).

$$\%$$
 incidencia = $\frac{\text{n\'umero de hojas sintom\'aticas}}{\text{n\'umero de hojas totales}}*100$

Ecuación 1. Porcentaje de incidencia de mildiú velloso en hojas de uva.

Para el cálculo en racimos, se tomaron, de forma aleatoria, 25 racimos por repetición, de acuerdo con la EPPO (2012) y Rekanović et al. (2008), y se calculó el porcentaje de incidencia de mildiú velloso (Ecuación 2).

$$\%\ incidencia = \frac{n\'umero\ de\ racimos\ sintom\'aticos}{n\'umero\ de\ racimos\ totales}*100$$

Ecuación 2. Porcentaje de incidencia de mildiú velloso en racimos de uva.

2. Severidad

Las evaluaciones de severidad se realizaron únicamente en hojas. Las mediciones iniciaron junto con las de incidencia, en el estado fenológico D: salida de hojas, y finalizaron en J: cuajado.

En cada fecha de evaluación, se calculó el porcentaje de severidad de mildiú velloso, sobre las hojas completamente expandidas de la rama seleccionada para el cálculo de la incidencia. Para esto, se midió el porcentaje de tejido sintomático en el haz, según la escala diagramática con diez categorías (Anexo 6), desarrollada por Camargo et al. (2019).

Las mediciones semanales se presentaron como porcentaje de severidad de la enfermedad. Este valor se obtuvo a través de la siguiente fórmula:

% severidad =
$$\frac{1}{n} \sum_{i}^{n} x_{i}$$

Ecuación 3. Porcentaje de severidad de mildiú velloso en hojas de uva.

en donde x = observaciones de porcentaje de severidad.

E. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)

Con las mediciones semanales de incidencia y severidad acumulada de mildiú velloso en hojas y racimos, se determinó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad, representada como la cantidad de enfermedad acumulada en función del tiempo, de acuerdo con la Ecuación 4 (Campbell y Madden, 1990):

$$ABCPE = \sum_{i}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Ecuación 4. Cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad

en donde: n = número de evaluaciones totales; y_i = intensidad inicial de la enfermedad; t_i = tiempo de primera evaluación. Para estimar el área entre dos evaluaciones, se utilizó el método de integración trapezoidal; este consiste en dividir la curva en barras verticales, cuyo ancho está delimitado entre dos evaluaciones, y sumar el área de cada rectángulo para obtener el área total de la curva.

F. Porcentaje de eficacia de los fungicidas

El porcentaje de eficacia de los fungicidas (Ecuación 5), expresado en términos de ABCPE, fue el parámetro que determinó el efecto aditivo de todas las aplicaciones de fungicidas sobre el desarrollo de la epidemia. El valor de ABCPE utilizado para este cálculo fue el de severidad en hojas, de acuerdo con la fórmula de Abbott (1925):

$$\% eficacia = \frac{(X - Y)}{X} * 100$$

Ecuación 5. Porcentaje de eficacia de los fungicidas aplicados.

en donde: X= severidad en el testigo; y Y= severidad en el tratamiento.

G. Análisis estadístico

1. Análisis de variancia (ANDEVA)

A partir de los valores semanales de porcentaje de incidencia acumulada en hojas y racimos, y severidad en hojas, se construyeron las curvas de desarrollo del mildiú velloso de cada repetición. A través del método de integración trapezoidal, se determinó el ABCPE para un total de 16 evaluaciones. Los promedios de ABCPE para cada tratamiento se calcularon para las tres variables respuesta: incidencia acumulada en hojas, incidencia acumulada en racimos y severidad en hojas.

Con los promedios de ABCPE por tratamiento, se realizó un ANDEVA, utilizando el paquete 'agricolae' (de Mendiburu y Yaseen, 2020), del software libre RStudio, versión 1.3-3, para determinar si existieron diferencias significativas entre los fungicidas (p < 0,05). Previamente, se verificaron los supuestos del ANDEVA: independencia de los errores, aditividad del modelo, homocedasticidad y normalidad de los datos. Los valores de ABCPE para incidencia acumulada y severidad en hojas, mostraron homocedasticidad y distribución normal, de acuerdo con las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente (Anexos 7, 8, 9 y 10). En el caso de la incidencia acumulada en racimos, los datos no presentaron homocedasticidad ni normalidad, por lo que se realizó una transformación logarítmica (Anexos 11 y 12).

Para comparar estadísticamente la eficacia biológica de los tratamientos, se realizó una separación de medias mediante la Prueba de Rango de Tukey, con un intervalo de confianza del 95 %. Además, se realizaron cinco contrastes de hipótesis, basados en la formulación de los fungicidas, para comparar grupos de tratamientos y determinar el mejor, en términos de diferencia de porcentaje-días en la variable severidad en hojas. Para contrarrestar la falta de ortogonalidad, se aplicó una corrección de Bonferroni, para un α = 0,01.

Los contrastes de hipótesis planteados fueron los siguientes, en donde T_T = testigo; T_{D+M} = dimetomorf + mancozeb; $T_{CIX+F+M}$ = cimoxanilo + fosetil- Al + mancozeb; T_E = etaboxam T_{P+F} = propamocarb HCl + fosetil-Al; T_{CIZ} = ciazofamida:

O Contraste 1: promedio del testigo vs. promedio de los tratamientos

$$Ho: T_T = \frac{1}{5} (T_{D+M} + T_{CIX+F+M} + T_E + T_{P+F} + T_{CIZ})$$

$$H1: T_T > \frac{1}{5} (T_{D+M} + T_{CIX+F+M} + T_E + T_{P+F} + T_{CIZ})$$

Contraste 2: promedio de tratamientos etaboxam, propamocarb HCl + fosetil-Al, y ciazofamida (productos sin mancozeb) *vs.* promedio de tratamientos dimetomorf + mancozeb, y cimoxanilo + fosetil- Al + mancozeb (productos con mancozeb)

$$Ho: \frac{1}{3}(T_E + T_{P+F} + T_{CIZ}) = \frac{1}{2}(T_{D+M} + T_{CIX+F+M})$$

$$H1: \frac{1}{3}(T_E + T_{P+F} + T_{CIZ}) > \frac{1}{2}(T_{D+M} + T_{CIX+F+M})$$

Contraste 3: promedio de dimetomorf + mancozeb vs. promedio cimoxanilo +
 fosetil- Al + mancozeb (productos con mancozeb)

$$Ho: T_{D+M} = T_{CIX+F+M}$$

 $H1: T_{D+M} > T_{CIX+F+M}$

O Contraste 4: promedio de propamocarb HCl + fosetil-Al (producto con dos ingredientes activos) *vs.* promedio de etaboxam y ciazofamida (productos con un ingrediente activo)

$$Ho: T_{P+F} = \frac{1}{2} (T_E + T_{CIZ})$$

$$H1: T_{P+F} > \frac{1}{2} (T_E + T_{CIZ})$$

O Contraste 5: promedio de etaboxam *vs.* promedio de ciazofamida (productos con un ingrediente activo)

$$Ho: T_E = T_{CIZ}$$

$$H1: T_E > T_{CIZ}$$

V. RESULTADOS

Cuantificación y curvas de progreso de la enfermedad

Las plantas tratadas con los fungicidas ciazofamida y cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb presentaron valores de incidencia acumulada en hojas y racimos menores que el testigo, así como menor severidad en hojas, durante todo el periodo de evaluación (Figuras 3, 4 y 5). Las curvas de progreso de la enfermedad se construyeron a partir de las evaluaciones semanales, tanto para incidencia acumulada y severidad en hojas, de los 0 a los 105 días (16 semanas), como para incidencia acumulada en racimos, de los 56 a los 176 días (16 semanas).

Con respecto a las evaluaciones en hojas, para la incidencia acumulada, todas las curvas mantuvieron una tendencia creciente hasta la última evaluación. Sin embargo, a partir de los 14 días, las curvas de los tratamientos ciazofamida y cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb se distanciaron del resto. Asimismo, a partir de los 35 días, la curva de cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb se separó de las demás, y el incremento semanal de la incidencia fue cada vez menor, hasta el final de las evaluaciones (Figura 3).

En el caso de la severidad, la tendencia de las curvas también fue creciente. A partir de los 35 días, las curvas de los tratamientos ciazofamida y cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb se separaron de los otros tratamientos y el testigo, con menores porcentajes de severidad, hasta la última evaluación, momento en donde ambos valores fueron menos de la mitad que los obtenidos en el testigo. Entre los 42 y 56 días, los tratamientos etaboxam, ciazofamida y cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb no presentaron incremento en el porcentaje (Figura 4).

En las evaluaciones de incidencia acumulada en racimos, a partir de los 70 días, las curvas del tratamiento propamocarb HCl + fosetil-Al y el testigo mostraron un mayor incremento semanal de los valores, en comparación a los demás tratamientos. Esta evaluación coincidió con la presencia del Huracán Iota sobre el país (13 al 18 de noviembre del 2020), cuyos efectos provocaron una interrupción en la atomización de esa semana. Para ambas curvas, desde los 98 a los 112 días, se dio el mayor aumento en los valores de incidencia. A

partir de los 119 días hasta el final de las evaluaciones, los valores se estabilizaron en todos los tratamientos y el testigo (Figura 5).

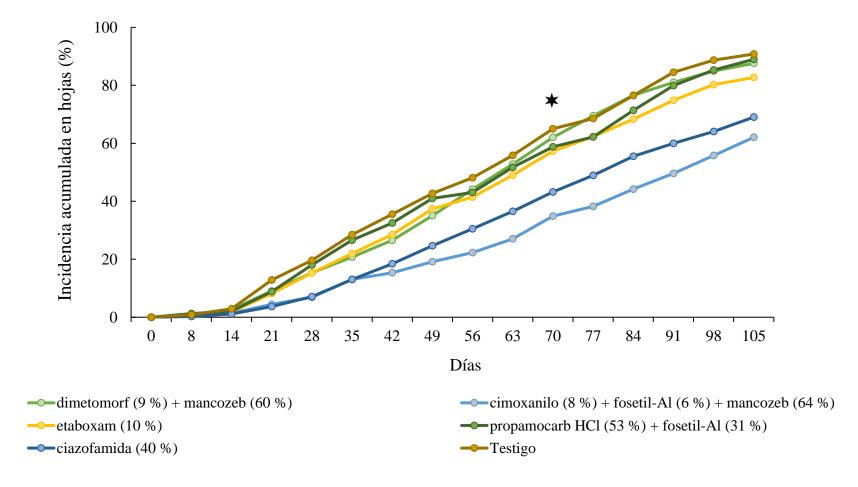


Figura 3. Porcentaje de incidencia acumulada de mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah, bajo aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo, atomizados durante 16 semanas, desde el estado fenológico D: salida de hojas, hasta el J: cuajado. (★: fumigación no realizada). Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.

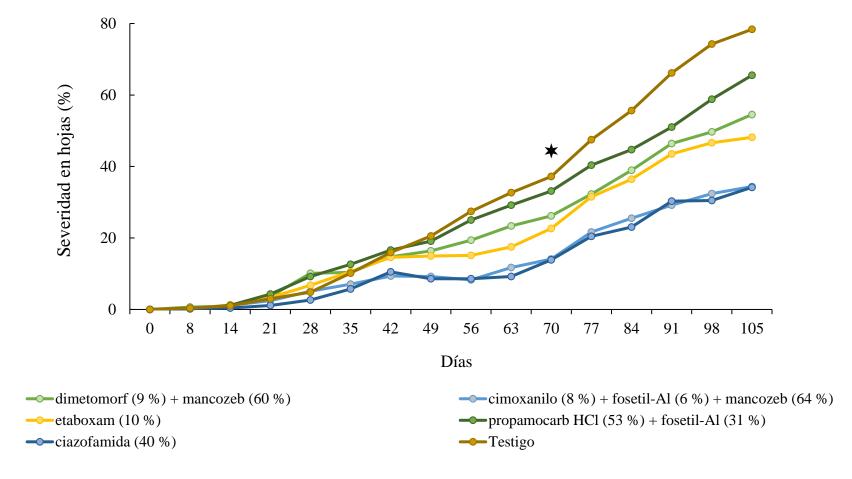


Figura 4. Porcentaje de severidad de mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah, bajo aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo, atomizados durante 16 semanas, desde el estado fenológico D: salida de hojas, hasta el J: cuajado. (★: fumigación no realizada). Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.

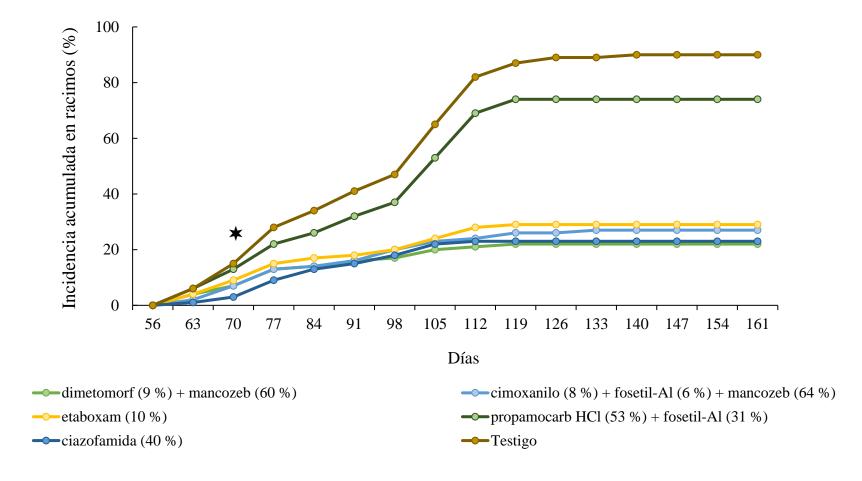


Figura 5. Porcentaje de incidencia acumulada de mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en racimos de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah, bajo aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo, atomizados durante 16 semanas, desde el estado fenológico I: floración, hasta el N: maduración. (★: fumigación no realizada). Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)

El ABCPE de cada tratamiento fue calculado para las tres variables, mediante el método de integración trapezoidal. Para la incidencia acumulada en hojas, el tratamiento cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb presentó el menor valor de ABCPE, seguido de la ciazofamida, sin mostrar diferencias significativas entre los dos (p < 0,05); sin embargo, sí mostraron diferencias con respecto a los demás tratamientos y el testigo. Los mayores valores se obtuvieron con los tratamientos propamocarb HCl + fosetil-Al, dimetomorf + mancozeb, y etaboxam, respectivamente, sin diferencias entre ellos ni con el testigo (Cuadro 3).

En el caso de la severidad en hojas, el tratamiento ciazofamida exhibió el menor valor de ABCPE, seguido de cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb, en los cuales no se observaron diferencias entre ambos, pero sí con el resto de los tratamientos. En contraste, en el tratamiento propamocarb HCl + fosetil-Al se obtuvo el mayor valor de ABCPE, sin presentar diferencias con dimetomorf + mancozeb, etaboxam y el testigo.

Con respecto a la incidencia acumulada en racimos, el tratamiento ciazofamida mostró el menor valor de ABCPE, seguido de dimetomorf + mancozeb, cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb y etaboxam, respectivamente, los cuales no tuvieron diferencias entre ellos. Asimismo, en el tratamiento propamocarb HCl + fosetil-Al nuevamente se obtuvo el mayor valor de ABCPE, el cual no presentó diferencias con el testigo, pero sí con el resto de los tratamientos evaluados.

Cuadro 3. Valores de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) para la incidencia y severidad del mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni), en hojas y racimos de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah, bajo 14 aplicaciones semanales de cinco fungicidas con acción sistémica y un testigo. Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.

	Hojas	Racimos		
Tratamiento	Incidencia acumulada	Severidad	Incidencia acumulada	
	(% días)	(% días)	(% días) *	
cimoxanilo (8 %) +				
fosetil- Al (6 %) +	2545,77 a	1362,10 ab	1975 a	
mancozeb (64 %)				
ciazofamida (40 %)	3089,73 a	1274,75 a	1773 a	
etaboxam (10 %)	4115,74 b	2022,40 bc	2260 a	
dimetomorf (9 %) + mancozeb (60 %)	4370,50 b	2173,36 cd	1782 a	
propamocarb HCl (53 %) + fosetil- Al (31 %)	4387,42 b	2646,31 cd	5167 b	
Testigo	4726,67 b	2898,45 d	6279 b	

^{*}Los valores fueron transformados mediante logaritmo natural previo al análisis. Las medias retro- transformadas con la función e^x se muestran aquí. /Valores de medias en columnas con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05), de acuerdo con la prueba de Tukey.

Contrastes de hipótesis

De las cinco comparaciones entre tratamientos, agrupados según características en la formulación de los fungicidas, la prueba de contrastes mostró diferencias significativas (p < 0,01) para los contrastes 1, 3, 4 y 5 (Cuadro 4). Por su parte, en el contraste 2 no se observaron diferencias.

Cuadro 4. Prueba de contrastes para la severidad de mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah. Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020.

Contraste	Diferencia de medias	valor- p
1. T _T vs. Tratamientos	1 140,9555	0,0000
2. $T_E + T_{P+F} + T_{CIZ}$ vs. $T_{CIX+F+M} + T_{D+M}$	179,5836	0,0642
3. T _{D+M} vs. T _{CIX+F+M}	878,9349	0,0001
4. T_{P+F} vs. $T_E + T_{CIZ}$	997,7392	0,0000
5. T _E vs. T _{CIZ}	747,6464	0,0003

Porcentaje de eficacia

Los promedios de ABCPE de severidad en hojas (Cuadro 3) se utilizaron en el cálculo del porcentaje de eficacia de los fungicidas, expresado como la capacidad para retrasar la tasa de infección aparente y la producción de inóculo secundario. De esta forma, el tratamiento ciazofamida exhibió el mayor porcentaje, aproximadamente siete veces mayor al obtenido en el tratamiento propamocarb HCl + fosetil-Al, cuyo valor fue el menor de todos los tratamientos (Figura 6). El segundo, tercer y cuarto lugar se obtuvo en cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb, etaboxam y dimetomorf + mancozeb, respectivamente.

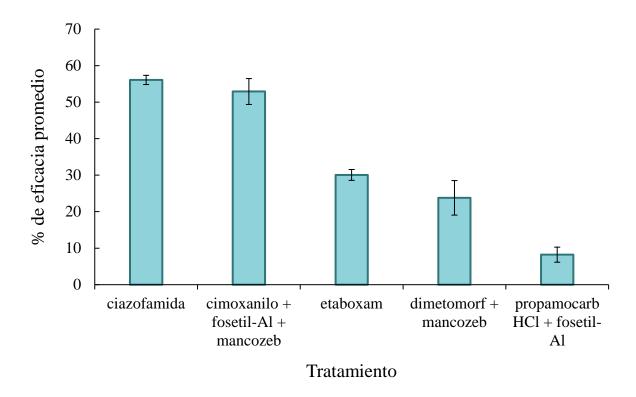


Figura 6. Porcentaje de eficacia de cinco fungicidas con acción sistémica para el combate del mildiú velloso (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) en hojas y racimos de uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Syrah, aplicados durante 16 semanas. Copey, Santa María de Dota, San José, Costa Rica, 2020. Las barras sobre columnas corresponden a error estándar (n=4).

VI. DISCUSIÓN

La viticultura en Costa Rica ha sido poco explorada y, actualmente, no hay plaguicidas registrados para su uso en el cultivo. En la empresa Vinícola KNB. Ltda. acuden al combate químico para el manejo del mildiú velloso, la enfermedad de mayor importancia para su producción. En esta investigación, se comprobó que los ingredientes activos ciazofamida, y la mezcla de cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb, permiten disminuir la incidencia y la severidad de esta enfermedad en la variedad Syrah, y se identificaron como los fungicidas con mayor eficacia biológica.

Durante todo el periodo del experimento, las condiciones climáticas fueron favorables para el desarrollo del mildiú velloso. Los valores de temperatura (Anexo 3) y humedad relativa (Anexo 4) se mantuvieron dentro del umbral óptimo para la esporulación de *P. viticola* (mayores a 10 °C y 80 %, respectivamente), de acuerdo con los rangos establecidos por Brischetto et al. (2021). De igual manera, los requerimientos para la germinación de oosporas (más de 10 °C y un suelo húmedo) fueron alcanzados (Bitencourt et al., 2021; Carisse, 2016). Estos valores prevalecieron hasta el final de la época lluviosa (mediados de diciembre), periodo que abarcó etapas fenológicas de alta susceptibilidad (desde D: salida de hojas, hasta B: cuajado).

Debido a la naturaleza policíclica de la enfermedad, tanto el inóculo primario como el secundario influyen en el progreso de la epidemia (Campbell et al., 2020; Carisse, 2016). Las condiciones climáticas favorables para ambos tipos de inóculo, como las obtenidas en este estudio, conducen a un aumento en la incidencia y severidad de lesiones, originadas de infecciones primarias y secundarias (Mouafo-Tchinda et al., 2020; Zanghelini et al., 2019). Este comportamiento se observó en el testigo, cuyos valores de ABCPE fueron los mayores, producto de la ausencia de combate químico, y es consistente con resultados obtenidos en regiones altas subtropicales de Brasil, en donde el clima favorece el progreso de las epidemias, y la aplicación de fungicidas reduce la incidencia y severidad del mildiú velloso (Bitencourt et al., 2021; Pinto et al., 2012; Santos et al., 2020; Zanghelini et al., 2019).

En esta investigación, el desarrollo del mildiú velloso sobre las hojas se retardó en mayor porcentaje en los tratamientos con ciazofamida y la mezcla de cimoxanilo + fosetil-

Al + mancozeb, representado en los menores valores de ABCPE de incidencia y severidad en hojas, así como los mayores porcentajes de eficacia para combatir esta enfermedad. En los racimos, todos los tratamientos excepto la mezcla de propamocarb HCl + fosetil-Al, redujeron la incidencia del mildiú velloso, con valores de ABCPE inferiores al testigo.

La ciazofamida actúa sobre la respiración celular de los oomicetes. El mecanismo de acción de este fungicida consiste en bloquear la transferencia de electrones en el citocromo bc1 del complejo III de la mitocondria, lo que provoca una detención en la síntesis de ATP (FRAC, 2022). Esta interrupción en el suministro de energía inhibe etapas de la reproducción como la formación de esporangios, y la liberación, germinación y movilidad de zoosporas (Desnouck et al., 2012; Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority [APVMA], 2015; Jackson et al., 2012), ya que son procesos altamente dependientes del ATP (Zhang et al., 2012; Islam et al., 2016). Dado que el inóculo secundario contribuye al aumento en la incidencia y severidad de la enfermedad, las aplicaciones semanales de ciazofamida podrían haber inhibido los distintos procesos de reproducción asexual mencionados. Estos resultados también fueron obtenidos por Campbell et al. (2021), en donde las aplicaciones con ciazofamida lograron disminuir los valores de ABCPE de incidencia y severidad en un cultivar de uva susceptible, en comparación a las plantas no atomizadas.

En el combate del mildiú velloso de la uva, se ha reportado que la ciazofamida es eficaz para reducir el impacto de la enfermedad (Campbell et al., 2021; Pang et al., 2019; Xiaolin et al., 2021), y también se ha evidenciado su eficacia para el control de otros oomicetes causantes de mildiús vellosos como *Pseudoperonospora cubensis* (Fani et al., 2018; Jones et al., 2021; Keinath, 2016; Keinath et al., 2019) y *Sclerospora graminicola* (Jogaiah et al., 2007), además de *Phytophthora* sp. (Braun et al., 2014; Fukamachi et al., 2019).

Puesto que la traslocación en la planta es a nivel translaminar, en comparación a los ingredientes sistémicos utilizados en los demás tratamientos, el movimiento de la ciazofamida en la planta y la acción curativa son leves (Maloney, 2020; Miyake et al., 2015; Sierotzki et al., 2015). No obstante, la alta eficacia de este tratamiento puede deberse, en primer lugar, a que esta molécula actúa sobre la respiración celular, por lo tanto, afecta distintas etapas del ciclo de vida del patógeno (APVMA, 2015; Jackson et al., 2012; Jogaiah

et al., 2007). Lo anterior implica un descenso en la producción de inóculo secundario, lo cual reduce el potencial de reinfestación y la generación de nuevas infecciones en los tejidos (Jackson et al., 2012).

En segundo lugar, las formulaciones con ciazofamida exhiben una gran resistencia al lavado por lluvia (Desnouck et al., 2012; Jogaiah et al., 2007). Töfoli et al. (2014) observaron que, tras un evento de lluvia de 20 mm, el efecto en las plantas atomizadas puede prevalecer hasta una hora después. Esto representó una ventaja frente a la constante precipitación en los meses de setiembre a mediados de diciembre, principalmente durante la semana del Huracán Iota (Anexo 5), momento en el cual se suspendieron las aplicaciones, y la mayoría de las plantas se encontraban en floración o cuajado. Estas etapas son de mayor riesgo para la infección de *P. viticola* (Carisse et al., 2016), y son determinantes en el desarrollo y la calidad de los racimos, ya que aún no han expresado en su totalidad los mecanismos de resistencia ontogénica que alcanzan a las dos o tres semanas después de la floración (Buonassisi et al., 2018; Divilov et al., 2017; Gindro et al., 2012).

El tratamiento con cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb fue el único formulado a partir de tres ingredientes activos. Una ventaja de utilizar fungicidas en mezcla es que se propicia la acción sinérgica entre las moléculas, con el objetivo de controlar patógenos en diferentes sitios bioquímicos y etapas de desarrollo (Gisi, 1996; Kosman y Cohen, 1996; van de Bosch et al., 2014). Cuando estas mezclas combinan un fungicida sistémico, cuyo modo de acción es específico, y uno con acción multi-sitio, se prolonga la actividad protectante total de la aplicación, de modo que los tejidos se mantienen protegidos por más tiempo (Ojiambo et al., 2010; Toffolati et al., 2015). Este efecto es de gran importancia en los programas para combatir enfermedades policíclicas como el mildiú velloso de la uva, pues el control curativo no es eficaz para combatir este patógeno (Carisse, 2016; Massi et al., 2021).

El efecto de las mezclas de ingredientes activos con distinto modos de acción sobre un mejor control preventivo se observa en este tratamiento, en donde la combinación del mancozeb (inhibidor multi-sitio) con el cimoxanilo y el fosetil-Al (específicos) puede estar relacionada a la alta eficacia de la mezcla para reducir la incidencia y severidad del mildiú velloso. Si bien se ha evidenciado que el cimoxanilo inhibe el crecimiento vegetativo y el desarrollo de esporas de *P. viticola* (Andrieu et al., 2001; Toffolati et al., 2015), su

metabolismo en la planta es rápido, con un efecto residual de dos o tres días (Maloney, 2020; Genet y Jaworska, 2013; Huang et al., 2018; Liu et al., 2014); por este motivo, al combinarse con un protectante, se obtiene un mejor control sobre el desarrollo de la enfermedad, en comparación a su uso individual (Ponti et al., 2016; Ekabote et al., 2021; Toffolati et al., 2015).

Por su parte, el fosetil-Al posee amplia sistemicidad en la planta, con movimiento acrópeto y basípeto (González y Sánchez, 2020). Si bien su concentración en la mezcla es la menor, tiene un efecto aditivo importante, ya que induce el sistema de defensa adquirido (SAR) de la planta al promover indirectamente la acumulación de fitoalexinas (Belchí-Navarro, 2012; Flamini et al., 2013; Silva et al., 2016). El efecto de esta molécula sobre la eficacia del tratamiento podría asociarse con la concentración de estos metabolitos, pues la síntesis de las fitoalexinas, sobre todo pteroestilbeno, *trans*-resveratrol, ε- y δ-viniferina, ocurre rápidamente para impedir la colonización del patógeno, lo que permite retrasar el progreso de los síntomas desde los sitios de infección (Boso et al., 2012; Wang et al., 2018). Por otro lado, se ha reportado que el fosetil-Al también tiene un efecto fungicida sobre *P. viticola* (Selim, 2013; Underdown et al., 2008).

El *trans*-resveratrol es el principal compuesto de defensa en el epicarpio de las uvas (Gouot et al., 2018; Hasan y Bae, 2017), y su síntesis incrementa ante eventos de infección por *P. viticola*, además de otros patógenos, con una acción inhibitoria de la germinación y movilidad de las zoosporas (Chalal et al., 2014; Gabaston et al., 2017). Esta información demuestra que los racimos también constituyen un sitio activo en la inducción del sistema de defensa de la planta (Hasan y Bae, 2017), por lo que las aplicaciones con fosetil-Al pudieron haber contribuido al retraso en la incidencia del mildiú velloso en los racimos (Dufour y Corio-Costet, 2013).

Otra razón por la que el tratamiento con cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb exhibió valores de ABCPE inferiores podría deberse a una menor selección de poblaciones resistentes en los sucesivos ciclos de reproducción asexual. Lo anterior se debe, por un lado, a los sinergismos entre los ingredientes activos, cuyos distintos modos de acción evitan la pérdida de sensibilidad a cada uno por separado, y reducen la selección de poblaciones resistentes (Lucas et al., 2015; Toffolatti et al., 2015; van de Bosch et al., 2014). Este fenómeno fue

observado en uva por Massi et al. (2021) y Matasci et al. (2008), en donde las mezclas retardaron la pérdida de sensibilidad de *P. viticola* a cada fungicida por separado. Asimismo, Mikaberidze et al. (2014) concluyeron que incrementar la diversidad química en una mezcla previene la selección de poblaciones con resistencia al fungicida de mayor riesgo.

Por otro lado, de acuerdo con el FRAC (2022), las moléculas que componen esta mezcla poseen un riesgo de resistencia bajo (mancozeb y fosetil-Al) y bajo a moderado (cimoxanilo). Dado que *P. viticola* es un patógeno con alto riesgo de desarrollo de resistencia a fungicidas (EPPO, 1999; Santos et al., 2020), el uso de mezclas representa una estrategia conveniente para reducir el proceso de selección de subpoblaciones resistentes.

De igual forma que en la mezcla con cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb, el tratamiento con propamocarb HCl + fosetil-Al combina ingredientes activos con modos de acción distintos; además, el fosetil-Al se encuentra en ambas formulaciones. No obstante, el efecto de la mezcla en este tratamiento no fue favorable para combatir la enfermedad, ni en las hojas ni en los racimos. Pese a que ambas moléculas actúan sistémicamente, el propamocarb tiene una acción curativa limitada (Maloney, 2020; Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas [IRET], s.f.; Urban y Lebeda, 2007). Debido a esto, fue introducido al mercado como un producto para control preventivo (Banol®, 665 g/L propamocarb HCl, Bayer CropScience, Leverkusen, Alemania), de manera que su uso se recomienda antes de que aparezcan síntomas y, además, en mezcla con moléculas de diferente modo de acción (Bugiani et al., 2010; Hu et al., 2007; Pérez-Vicente et al., 2017).

Al inicio de este experimento, la mayoría de las plantas con hojas ya se encontraban infectadas con mildiú velloso. Es importante considerar esta condición en el manejo de la enfermedad, ya que la presencia de inóculo primario al inicio del ciclo es determinante en la severidad de la epidemia, de modo que las aplicaciones preventivas tardías no son efectivas (Carisse, 2016). En el caso de aplicaciones con propamocarb, el reducido control curativo que exhibe pudo no haber sido efectivo para retrasar el desarrollo de lesiones, incluso desde la primera aplicación. En otras investigaciones, para el control de *Phytophthora* spp., otro oomicete de gran impacto económico, se demostró que el propamocarb no actúa sobre el crecimiento micelial (Elliott et al., 2015; Ma et al., 2018 Miljanović et al., 2021; Qi et al., 2012), por lo tanto, una vez que la infección inicia, es probable que no detenga el avance de

los síntomas (Hu et al., 2007). Estas observaciones constituyen otra razón para usar este fungicida de forma preventiva.

En la etiqueta del producto comercial (Prevalor® 84 SL, 530 g/L propamocarb HCl, Bayer CropScience, Leverkusen, Alemania) no se reporta un intervalo de aplicación en términos de días, sino en función de los monitoreos de la enfermedad. En este tratamiento, es probable que la epidemia, favorecida por las condiciones ambientales, haya superado la capacidad de la mezcla de propamocarb HCl + fosetil-Al para contener la epidemia. Por otro lado, Ash (2017) menciona que cuando la temperatura y humedad relativa son óptimas, el periodo de latencia de *P. viticola* puede ser de 4 días. Esta información sugiere que el intervalo de aplicación de este producto, bajo condiciones climáticas favorables para la enfermedad, debería ajustarse a una menor frecuencia para alcanzar una mejor eficacia.

A pesar de que la concentración del fosetil-Al en la mezcla con propamocarb HCl es cinco veces mayor que en la mezcla con cimoxanilo y mancozeb, la diferencia en la eficacia entre ambos tratamientos podría indicar que el fosetil-Al no fue el ingrediente de mayor actividad en las formulaciones, sino las otras moléculas. Esto puede significar que una mayor concentración de la molécula no está correlacionada a un mayor control del mildiú velloso. Bavaresco y Fregoni (2001) revelaron que, en tejido infectado, la síntesis de fitoalexinas alcanza un máximo ante cierta concentración de fosetil-Al, después de la cual, la respuesta disminuye. Asimismo, con respecto a su acción fungicida, Pavelková et al. (2014) reportaron que un aumento en el doble de la concentración no inhibe en mayor nivel la esporulación de *P. cubensis*. No obstante, para comprobar esta hipótesis, son necesarios otros estudios enfocados al desempeño de esta molécula en condiciones similares a esta investigación.

Si bien el desarrollo de lesiones sobre las hojas se vio afectado por la constante lluvia, el efecto sobre la incidencia en los racimos fue mayor. A los 70 días se registraron 358 mm de lluvia, el mayor valor obtenido durante el experimento (Anexo 5); esto ocasionó que se suspendiera la atomización, y los racimos, en las primeras etapas de formación, quedaran desprotegidos. Esta interrupción en las aplicaciones pudo ser determinante para el desarrollo de estos órganos, ya que son altamente susceptibles al mildiú velloso por la carencia de mecanismos de resistencia ontogénica, específicamente barreras anatómicas. De acuerdo con Kassemeyer et al. (2015) y Fröbel y Zyprian (2019), durante el cuajado, los frutos poseen

estomas por los cuales *P. viticola* puede entrar y salir de las células, pero conforme los racimos crecen, estos se convierten en lenticelas, de modo que obstaculiza la producción de inóculo secundario.

En el tratamiento dimetomorf + mancozeb, a diferencia de las otras dos mezclas, solo el primero de estos es sistémico; el mancozeb actúa por contacto y no tiene acción curativa (Fatma et al., 2018). El efecto del dimetomorf sobre *P. viticola* implica una interrupción en la síntesis de celulosa durante la formación de la pared celular, el cual es un proceso fundamental en el enquistamiento, germinación y desarrollo del micelio para el ingreso a las células e iniciar la infección (Hu et al., 2007; Nanni et al., 2016). A pesar de su acción sistémica, Maloney (2020) y Zhao et al. (2013) mencionan que la traslocación de esta molécula es unidireccional (acrópeta) y solo a nivel local—translaminar. Si bien la combinación con el mancozeb permite extender la acción protectante de esta mezcla, los tejidos cuya cobertura fue insuficiente, o lavada por la lluvia, representan una limitación en la eficacia de este tratamiento, además de ser un potencial foco de inóculo secundario.

De acuerdo con Maloney (2020), la acción del dimetomorf es superior en aplicaciones preventivas, y se reduce cuando se utiliza sobre plantas ya infectadas. Este autor menciona que, en el combate del tizón tardío (*P. infestans*), la mezcla de dimetomorf + mancozeb exhibe control curativo, incluso hasta un 50 % del periodo de incubación alcanzado. Puesto que algunas plantas tenían hojas infectadas al momento de la primera aplicación, es probable que la acción de la mezcla sobre algunos tejidos fuera curativa. La diferencia entre ambos tiempos de acción del dimetomorf para combatir *P. viticola* fue observada por Nanni et al. (2016) y Feng y Baudoin (2018), en donde la eficacia de fungicida fue mayor en aplicaciones preventivas que en curativas. Esta información es importante para la toma de decisiones, ya que permite identificar en qué condiciones espaciales y temporales del ciclo de la uva y del patógeno se puede alcanzar la mayor eficacia en la atomización.

El FRAC (2022) indica que el dimetomorf posee riesgo de resistencia bajo a moderado, sin embargo, hay reportes de poblaciones de *P. viticola* resistentes a este fungicida (Gisi y Sierotzki, 2015; Huang et al., 2020; Sun et al., 2010). Es importante considerar que las sucesivas aplicaciones semanales con dimetomorf y mancozeb podrían haber influido en la sensibilidad del patógeno tras cada aplicación, y, por lo tanto, en los valores de ABCPE

obtenidos en esta investigación. No obstante, en un programa de rotación de la empresa, este fungicida podría mostrar un mejor combate de la enfermedad durante el ciclo del cultivo.

En el caso del ingrediente activo etaboxam, esta investigación demostró que es eficaz para reducir el ABCPE del mildiú velloso en hojas y racimos de uva, en comparación al testigo; sin embargo, los resultados obtenidos revelaron que otros tratamientos brindan mayor eficacia para combatir la epidemia. En el manejo del mildiú velloso de la cucurbitáceas, el etaboxam puede disminuir hasta un 50 % el ABCPE (D'Arcangelo et al., 2021; Goldenhar y Hausbeck, 2019; Thomas et al., 2018), además de actuar sobre especies de oomicetes fitopatógenos de *Phytophthora* y *Pythium* (Belisle et al., 2019; Kim et al., 2004; Zhang et al., 2005). Por otro lado, aunque existen reportes sobre su uso para retardar la severidad de *P. viticola* (Kim y Chun, 2004; Shin et al., 2006), hay poca información que evidencie la eficacia de este fungicida.

Los efectos de esta molécula se atribuyen a que posee dos modos de acción: inhibir la formación del citoesqueleto y la respiración celular (Kim et al., 2004; Zhang et al., 2005), por lo que afecta al patógeno en varias etapas de su ciclo de vida. Además, exhibe buen control preventivo y curativo, amplia sistemicidad en la planta y acción a bajas concentraciones (Kim et al., 1999). No obstante, estas propiedades se han observado principalmente con aplicaciones en *drench* (Belisle et al., 2019; Kim et al., 2004) y como tratamiento en semillas (Scott et al., 2020).

Como se mencionó, aunque existen ventajas al utilizar combinaciones de ingredientes activos, los resultados de la prueba de contrastes revelaron que la existencia de mancozeb en las mezclas aplicadas en este estudio no fue significativa (p = 0,0642), por lo tanto, en esta investigación, la presencia o no de este protectante no influyó en la eficacia de los tratamientos. A pesar de ello, para verificar esta información, se deben realizar experimentos más precisos en los que se compare la respuesta de los ingredientes activos solos y en mezcla con mancozeb, para combatir el mildiú velloso.

VII. CONCLUSIONES

Según los resultados de esta investigación, todos los fungicidas evaluados permitieron, en diferente magnitud, reducir las curvas de incidencia y severidad de la enfermedad.

La ciazofamida y la mezcla de cimoxanilo + fosetil-Al + mancozeb fueron los fungicidas más eficaces para combatir el mildiú velloso en hojas y racimos de uva variedad Syrah.

Las condiciones de temperatura, humedad relativa y precipitación presentes en la zona de Copey, durante esta investigación, favorecieron el desarrollo de esta enfermedad durante todo el ciclo del cultivo.

VIII. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con el uso de la ciazofamida, producto de referencia para esta investigación, e incorporarla en un programa de manejo basado en el control preventivo, ya que la alta presión de inóculo presente en la finca de la empresa Vinícola Costa Rica KNB Ltda. hace que el control curativo sea insuficiente para contener la epidemia.

Se sugiere incluir el etaboxam en el programa de rotación de la empresa, debido a que presentaron un desempeño moderado, y demostraron retrasar el progreso de la enfermedad en ambos órganos.

Es recomendable evaluar alguno o varios de estos fungicidas a intervalos de aplicación más cortos para comparar los grados de eficacia presentados ante las condiciones climáticas que permiten el desarrollo de la enfermedad. Esta información, con ayuda de los resultados de monitoreos de la enfermedad, puede ser de utilidad para tomar las decisiones de manejo correctas.

Finalmente, dado el corto periodo de incubación de *P. viticola* y el rápido desarrollo de los síntomas, se recomienda elaborar ensayos que evalúen el efecto de programas de

fungicidas protectantes a un menor intervalo de aplicación, y sistémicos en momento de alta presión de la enfermedad.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*. Elsevier Academic Press.
- Andrieu, N., Jaworska, G., Genet, J. L., & Bompeix, G. (2001). Biological mode of action of Famoxadone on *Plasmopara viticola* and *Phytophthora infestans*. *Crop Protection*, 20(3), 253-260. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00156-3
- Arauz-Cavallini, L.F. (2011). Fitopatología: un enfoque agroecológico. Editorial UCR.
- Ash, G. (2017). *Downy mildew of grape*. The American Phytopathological Society. https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomicete/pdlessons/Pages/DownyMild ewGrape.aspx
- Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority [APVMA]. (14 de julio de 2015). *Cyazofamid the Product Ranman 400 SC Fungicide*. Australian Government. https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/15666-prs-ranman-400-sc-fungicide_0.pdf
- Baggiolini, M. (1952). Les stades repères dans le développement annuel de la vigne el leur utilisation practique. *Revue Romande d'Agriculture de Viticulture et d'Arboriculture*, 8, 4–6.
- Barquero, M. (2 de mayo de 2016). Productores buscan llevar uva a niveles comerciales. *La Nación*. https://www.nacion.com/economia/agro/productores-buscan-llevar-uva-a-niveles-comerciales/2EQKCZVJJFBFBPTN6ZTSWUJNH4/story/
- Belchí-Navarro, S., Almagro, L., Lijavetzky, D., Bru, R., & Pedreño, M. A. (2012). Enhanced extracellular production of trans-resveratrol in *Vitis vinifera* suspension cultured cells by using cyclodextrins and methyljasmonate. *Plant Cell Reports*, *31*(1), 81-89. https://doi.org/10.1007/s00299-011-1141-8

- Belisle, R.J., Hao, W., McKee, B., Arpaia, M.L., Manosalva, P., & Adaskaveg, J.E. (2019). New oomycota fungicides with activity against *Phytophthora cinnamomi* and their potential use for managing avocado root rot in California. *Plant Disease*, 103(8), 2024-2032. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1698-RE
- Bitencourt, C., Pierre, P. M., Pinto, F. A., Fermino-Junior, P. C., Gomes, B. R., de Morais, A. C., Días, J. M., & Welter, L. J. (2021). First report of oospore formation in *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew, in highland regions of southern Brazil. *Plant Pathology*, 70(8), 1897-1907. https://doi.org/10.1111/ppa.13431
- Boso, S., Alonso-Villaverde, V., Martínez, M. C., & Kassemeyer, H. H. (2012). Quantification of stilbenes in *Vitis* genotypes with different levels of resistance to *Plasmopara viticola* infection. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(3), 419-423. 10.5344/ajev.2012.11127
- Braun, C. A., Wanningen, R., & Schirring, A. (2014). Infinito (r): protection against different *Phytophthora infestans* isolates of the A2 & A1 mating type. *PPO Special Report*, (16), 117-122.
- Brischetto, C., Bove, F., Fedele, G., & Rossi, V. (2021). A weather-driven model for predicting infections of grapevines by sporangia of *Plasmopara viticola*. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 317. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.636607
- Bugiani, R., Antoniacci, L., & Trevisan, I. (2010). Curative effect of fungicides against tomato late blight. PPO-Special *Report*, *14*, 311-312.
- Buonassisi, D., Cappellin, L., Dolzani, C., Velasco, R., Peressotti, E., & Vezzulli, S. (2018).

 Development of a novel phenotyping method to assess downy mildew symptoms on grapevine inflorescences. *Scientia Horticulturae*, 236, 79-89. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.023
- Buonassisi, D., Colombo, M., Migliaro, D., Dolzani, C., Peressotti, E., Mizzotti, C., Velasco, R., Masiero, S., Perazzolli, & M., Vezzulli, S. (2017). Breeding for grapevine downy

- mildew resistance: a review of "omics" approaches. *Euphytica*, 213(5), 1-21. https://doi.org/10.1007/s10681-017-1882-8
- CABI (18 de diciembre de 2021). *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). CABI Invasive Species Compendium. https://www.cabi.org/isc/datasheet/41918
- Caffi, T., Gilardi, G., Monchiero, M., & Rossi, V. (2013). Production and release of asexual sporangia in *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, *103*(1), 64-73. https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-12-0082-R
- Camargo, U.A., Protas, J.F.S., & Mello, L.M.R. (2008). Grape growing and processing in Brazil. *Acta Horticulturae*, 785, 51–58. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.785.2
- Camargo, M.P., Momesso, B.V., Hahn, M.H., & Duarte, H.S. (2019). Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of grapevine downy mildew on *Vitis labrusca*. *European Journal of Plant Pathology*, *155*(3), 1033-1038. https://doi.org/10.1007/s10658-019-01806-y
- Campbell, S.E., Brannen, P.M., Scherm, H., & Brewer, M.T. (2020). Fungicide sensitivity survey of *Plasmopara viticola* populations in Georgia vineyards. *Plant Health Progress*, 21(4), 256-261. https://doi.org/10.1094/PHP-05-20-0039-RS
- Campbell, S.E., Brannen, P.M., Scherm, H., Eason, N., & MacAllister, C. (2021). Efficacy of fungicide treatments for *Plasmopara viticola* control and occurrence of strobilurin field resistance in vineyards in Georgia, USA. *Crop Protection*, *139*. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105371
- Campbell, C.L., & Madden, L.V. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. J. Wiley.
- Cantoral, J. M., & Collado, I. G. (2011). Filamentous Fungi (*Botrytis cinerea*). *Molecular Wine Microbiology*, 257–277. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375021-1.10010-4

- Carbonneau, T. (2004). A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*, 124, 81–97. https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2003.06.001
- Carisse, O. (2016). Development of grape downy mildew (*Plasmopara viticola*) under northern viticulture conditions: influence of fall disease incidence. *European Journal of Plant Pathology*, 144(4), 773-783. https://doi.org/10.1007/s10658-015-0748-y
- Carisse, O., Bacon, R., Lasnier, J., & McFadden-Smith, W. (18 de diciembre de 2018).

 Identification guide to the major diseases of grapes.

 https://agriculture.canada.ca/en/agriculture-and-environment/agricultural-pest-management/agricultural-pest-management-resources/identification-guide-major-diseases-grapes
- Chalal, M., Klinguer, A., Echairi, A., Meunier, P., Vervandier-Fasseur, D., & Adrian, M. (2014). Antimicrobial activity of resveratrol analogues. *Molecules*, 19(6), 7679-7688. https://doi.org/10.3390/molecules19067679
- Corio-Costet, M.F. (2011). Fungicide resistance in *Plasmopara viticola* in France and antiresistance measures. En T. Thind (Ed.), *Fungicide resistance in crop protection: risk and management*. CABI Publishing.
- D'Arcangelo, K. N., Adams, M. L., Kerns, J. P., & Quesada-Ocampo, L. M. (2021). Assessment of fungicide product applications and program approaches for control of downy mildew on pickling cucumber in North Carolina. *Crop Protection*, *140*, 105412. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105412
- de Mendiburu, F., Yaseen, M. (2020). agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.4.0. https://myaseen208.github.io/agricolae/https://cran.r-project.org/package=agricolae.
- Demir, K.O.K. (2014). A review on grape growing in tropical regions. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 6, 1236–1241.

- Desnouck, J., Testers, J., & Versmissen, C. (2012). Proceedings of the thirteenth EuroBlight workshop: Ranman Top, again a step forwards in late blight control. (Reporte Especial No. 15).
- Divilov, K., Barba, P., Cadle-Davidson, L., & Reisch, B.I. (2018). Single and multiple phenotype QTL analyses of downy mildew resistance in interspecific grapevines. *Theoretical and Applied Genetics*, 131(5), 1133-1143. https://doi.org/10.1007/s00122-018-3065-y
- Divilov, K., Wiesner-Hanks, T., Barba, P., Cadle-Davidson, L., & Reisch, B. I. (2017). Computer vision for high-throughput quantitative phenotyping: a case study of grapevine downy mildew sporulation and leaf trichomes. *Phytopathology*, *107*(12), 1549-1555. https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-17-0137-R
- Dufour, M. C., & Corio-Costet, M. F. (2013). Variability in the sensitivity of biotrophic grapevine pathogens (*Erysiphe necator* and *Plasmopara viticola*) to acibenzolar-S methyl and two phosphonates. *European Journal of Plant Pathology*, 136(2), 247-259. https://doi.org/10.1007/s10658-012-0159-2
- Ekabote, S. D., Divyajyothi, U., & Nalina, S. O. (2021). Bio-efficacy and phytotoxicity of Cymoxanil 8% + Mancozeb 64% WP against downy mildew (*Peronospora destructor*), purple blotch (*Alternaria porri*) and *Stemphylium* blight of onion. *Pesticide Research Journal*, 33(1), 9-18. 10.5958/2249-524X.2021.00013.3
- Elliott, M., Shamoun, S. F., & Sumampong, G. (2015). Effects of systemic and contact fungicides on life stages and symptom expression of *Phytophthora ramorum in vitro* and *in planta*. *Crop Protection*, 67, 136-144. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.008
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (1999). EPPO standard PP 1/213(1) resistance risk analysis. *EPPO Bulletin*, 29, 325–347.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (2012). Efficacy evaluation of plant protection products: Design and analysis of efficacy evaluation trials. *EPPO Bulletin*, 42(3): 367-381.

- Fani, R., Azimi, H., & Beiki, F. (2018). Efficacy of various commercial brands of Bordeaux mixture in the control of downy mildew of greenhouse cucumber, *Pseudoperonospora cubensis*. Journal Pesticides in Plant Protection Sciences, 5(2), 107-117. 10.22092/JPPPS.2018.121617
- Fatma, F., Verma, S., Kamal, A., & Srivastava, A. (2018). Monitoring of morphotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of mancozeb using *Allium* assay. *Chemosphere*, 195, 864-870. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.052
- Feng, X., & Baudoin, A. (2018). First report of carboxylic acid amide fungicide resistance in *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew) in North America. *Plant Health Progress*, 19(2), 139-139. https://doi.org/10.1094/PHP-01-18-0005-BR
- Fernández, E. (14 de agosto de 2016). Vinos costarricenses luchan por sobrevivir en el mercado dominado por la importación. *El Financiero*. https://www.elfinancierocr.com/negocios/vinos-costarricenses-luchan-porsobrevivir-en-el-mercado-dominado-por-la importacion/E2F5VXHXYFDMNDEPKPSGXCFCG4/story/
- Fernández-González, M., Piña-Rey, A., González-Fernández, E., Aira, M. J., & Rodríguez-Rajo, F. J. (2019). First assessment of Goidanich Index and aerobiological data for *Plasmopara viticola* infection risk management in north-west Spain. *The Journal of Agricultural Science*, 157(2), 129-139.
- Flamini, R., Mattivi, F., Rosso, M. D., Arapitsas, P., & Bavaresco, L. (2013). Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(10), 19651-19669. https://doi.org/10.3390/ijms141019651
- Fröbel, S., & Zyprian, E. (2019). Colonization of different grapevine tissues by *Plasmopara viticola*—a histological study. *Frontiers in Plant Science*, 951. 10.3389/fpls.2019.00951
- Fukamachi, K., Konishi, Y., & Nomura, T. (2019). Disease control of *Phytophthora infestans* using cyazofamid encapsulated in poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles.

- Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 577, 315-322. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.05.077
- Fungicide Resistance Action Committee (2022). FRAC Code List ©*2022: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels) [Archivo PDF]. https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2021--final.pdf?sfvrsn=f7ec499a_2
- Gabaston, J., Richard, T., Biais, B., Waffo-Teguo, P., Pedrot, E., Jourdes, M., Corio-Costet, M. F., & Mérillon, J. M. (2017). Stilbenes from common spruce (*Picea abies*) bark as natural antifungal agent against downy mildew (*Plasmopara viticola*). *Industrial Crops and Products*, 103, 267-273. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.009
- Genet, J. L., & Jaworska, G. (2013). Characterization of European *Plasmopara viticola* isolates with reduced sensitivity to cymoxanil. *European Journal of Plant Pathology*, 135(2), 383-393. https://doi.org/10.1007/s10658-012-0094-2
- Gerrath, J., Posluszny, U., & Melville, L. (2015). *Taming the wild grape: Botany and horticulture in the Vitaceae*. Springer.
- Gessler, C., Pertot, I., & Perazzolli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: A review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterrana*, *50*(1), 3–44. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-9360
- Gindro, K., Alonso-Villaverde, V., Voinesco, F., Spring, J. L., Viret, O., & Dubuis, P. H. (2012). Susceptibility to downy mildew in grape clusters: new microscopical and biochemical insights. *Plant Physiology and Biochemistry*, *52*, 140-146. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.12.009
- Giovinazzo, G., & Grieco, F. (2015). Functional properties of grape and wine polyphenols. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4), 454–462. https://doi.org/10.1007/s11130-015-0518-1
- Gisi, U. (1996). Synergistic interaction of fungicides in mixtures. *Phytopathology*, 86(11), 1273-1279.

- Gisi, U., & Sierotzki, H. (2015). Oomicete fungicides: Phenylamides, quinone outside inhibitors, and carboxylic acid amides. En H. Ishii, D. W. Hollomon (Eds.), *Fungicide Resistance in Plant Pathogens* (pp. 145-174). Springer, Tokyo.
- Goldenhar, K. E., & Hausbeck, M. K. (2019). Fungicides for control of downy mildew on pickling cucumber in Michigan. *Plant Health Progress*, 20(3), 165-169. https://doi.org/10.1094/PHP-04-19-0025-RS
- González, M., & Sánchez, M-E. 2020. Chemical control of *Phytophthora oleae* and its potential for disease management in olive orchards and natural forests. *European Journal of Plant Pathology*, 157(1), 211-214.
- Gouot, J., Smith, J., Holzapfel, B., & Barril, C. (2018). *Grape skin polyphenol responses to high and extreme high temperatures*. CRUSH: The grape and wine science symposium. The Waite Research Precinct, Adelaide, Australia.
- Grassi, F., Labra, M., Imazio, S., Spada, A., Sgorbati, S., Scienza, A., & Sala, F. (2003). Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis.

 Theoretical and Applied Genetics, 107(7), 1315–1320.
 https://doi.org/10.1007/s00122-003-1321-1
- Hasan, M., & Bae, H. (2017). An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules*, 22(2), 294. https://doi.org/10.3390/molecules22020294
- Hollomon, D.W. (2015). Fungicide resistance: facing the challenge. *Plant Protection Science*, *51*(4), 170–176. https://doi.org/10.17221/42/2015-PPS
- Huang, X., Wang, X., Kong, F., van der Lee, T., Wang, Z., & Zhang, H. (2020). Detection and characterization of carboxylic acid amide-resistant *Plasmopara viticola* in China using a taqman-mgb real-time PCR. *Plant Disease*, 104(9), 2338-2345. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0291-RE
- Huang, J., Ye, Q., Wan, K., & Wang, F. (2019). Residue behavior and risk assessment of cymoxanil in grape under field conditions and survey of market samples in

- Guangzhou. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4), 3465-3472. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3890-1
- Hu, J., Hong, C., Stromberg, E. L., & Moorman, G. W. (2007). Effects of propamocarb hydrochloride on mycelial growth, sporulation, and infection by *Phytophthora* nicotianae isolates from Virginia nurseries. *Plant Disease*, 91(4), 414-420. https://doi.org/10.1094/PDIS-91-4-0414
- Index Fungorum (2022). *Index Fungorum Database*. Recuperado el 16 de febrero de 2022 de http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=208592
- Instituto Nacional de Estadística y Censo (2015). VI Censo Nacional Agropecuario: Resultados Generales. http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/U40-10581.pdf
- Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional (s.f.).

 Manual de plaguicidas de Centroamérica: propamocarb.

 http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datosmenu/470-propamocarb
- Jackson, K.L., Yin, J., & Ji, P. (2012). Sensitivity of *Phytophthora capsici* on vegetable crops in Georgia to mandipropamid, dimethomorph, and cyazofamid. *Plant Disease*, *96*(9), 1337-1342. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-11-1082-RE
- Jackson, R.S. (2014). Wine science: principles and applications. Academic Press.
- Jogaiah, S., Mitani, S., Kestur Nagaraj, A., & Huntrike Shekar, S. (2007). Activity of cyazofamid against *Sclerospora graminicola*, a downy mildew disease of pearl millet. *Pest Management Science*, 63(7), 722-727. https://doi.org/10.1002/ps.1383
- Jones, J. G., Everts, K. L., McGrath, M. T., & Gugino, B. K. (2021). Efficacy of fungicides for *Pseudoperonospora cubensis* determined using bioassays over multiple years in the Mid-Atlantic and Northeastern United States. *Plant Health Progress*, 22(3), 355-361. https://doi.org/10.1094/PHP-10-20-0086-FI

- Kassemeyer, H. H. (2017). Fungi of Grapes. En H. König, G. Unden, J. Fröhlich. (Eds.), Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_4
- Kassemeyer, H. H., Gaduroy, D. M., Hill, G., & Wilcox, W. F. (2015). Part I. Diseases caused by biotic factors: diseases caused by fungi and oomicetes. En W.F. Wilcox., W.D. Gubler., J.K. Uyemoto (Eds.), *Compendium of grape diseases, disorders, and pests* (2da ed., pp. 45-52). APS Press
- Keinath, A. P. (2016). Utility of a cucumber plant bioassay to assess fungicide efficacy against *Pseudoperonospora cubensis*. *Plant Disease*, 100(2), 490-499. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0499-RE
- Keinath, A. P., Miller, S. A., & Smart, C. D. (2019). Response of *Pseudoperonospora cubensis* to preventative fungicide applications varies by state and year. Plant Health Progress, 20(3), 142-146. https://doi.org/10.1094/PHP-04-19-0028-RS
- Kennelly, M.M., Gadoury, D.M., Wilcox, W.F., Magarey, P.A., & Seem, R.C. (2007).
 Primary infection, lesion productivity, and survival of sporangia in the grapevine downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, 97(4), 512-522.
 https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-4-0512
- Kim, D. S., & Chun, S. J. (2004). Biological activity of Ethaboxam: the first Korean fungicide. Proceedings of the Korean Society of Plant Pathology Conference, The Korean Society of Plant Pathology, Daejeon, Corea.
- Kim, D. S., Chun, S. J., Jeon, J. J., Lee, S. W., & Joe, G. H. (2004). Synthesis and fungicidal activity of ethaboxam against Oomicetes. *Pest Management Science*, 60(10), 1007-1012. https://doi.org/10.1002/ps.873
- Kim, D. S., Prak, H. C., Chun, S. J., Yu, S. H., Park, K. J., Oh, J. H., Shin, K. H., Koh, Y. J., Kim, B. S., & Chung, B. K. (1999). Field performance of a new fungicide ethaboxam against cucumber downy mildew, potato late blight and pepper *Phytophthora* blight in Korea. *The Plant Pathology Journal*, 15(1), 48-52.

- Kosman, E., & Cohen, Y. (1996). Procedures for calculating and differentiating synergism and antagonism in action of fungicide mixtures. *Phytopathology*, 86(11), 1263-1272.
- Lallanilla, M. (9 de abril de 2013). Will global warming crush the wine industry? *Live Science*. https://www.livescience.com/28577-wine-global-warming.html
- Langcake, P., & Lovell, P.A. (1980). Light and electron microscopical studies of the infection of *Vitis* spp. by *Plasmopara viticola*, the downy mildew pathogen. *Vitis*, *19*(4): 321–337.
- Liang, Z., Cheng, L., Zhong, G.Y., & Liu, R.H. (2014). Antioxidant and antiproliferative activities of twenty-four *Vitis vinifera* grapes. PLoS ONE, 9(8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105146
- Lin, H., Leng, H., Guo, Y., Kondo, S., Zhao, Y., Shi, G., & Guo, X. (2019). QTLs and candidate genes for downy mildew resistance conferred by interspecific grape (*V. vinifera* L. × *V. amurensis* Rupr.) crossing. *Scientia Horticulturae*, 244, 200–207. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.045
- Liu, X., Yang, Y., Cui, Y., Zhu, H., Li, X., Li, Z., Zhang, K., & Hu, D. (2014). Dissipation and residue of metalaxyl and cymoxanil in pepper and soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(8), 5307-5313. https://doi.org/10.1007/s10661-014-3779-5
- Loría Quirós, C. L. (2005). El injerto: alternativa de propagación vegetativa en el cultivo de la uva (*Vitis vinifera*) en Costa Rica. *Revista Agronomía Tropical*, *35*, 101-106.
- Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2015). The evolution of fungicide resistance.

 Advances in Applied Microbiology, 90, 29-92.

 https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001
- Ma, D., Zhu, J., He, L., Cui, K., Mu, W., & Liu, F. (2018). Baseline sensitivity of *Phytophthora capsici* to the strobilurin fungicide benzothiostrobin and the efficacy of this fungicide. *European Journal of Plant Pathology*, 152(3), 723-733. https://doi.org/10.1007/s10658-018-1514-8

- Maloney, K. (2020). *Decision aid to support the use of curative late blight fungicides* [Tesis doctoral, Universidad de Edimburgo]. Edinburgh Research Archive. https://era.ed.ac.uk/bitstream/handle/1842/36898/Maloney2020_Redacted.pdf?sequ ence=3&isAllowed=y
- Massi, F., Torriani, S.F., Borghi, L., & Toffolatti, S. L. (2021). Fungicide resistance evolution and detection in plant pathogens: *Plasmopara viticola* as a case study. *Microorganisms*, *9*(1), 119. https://doi.org/10.3390/microorganisms9010119
- Matasci, C. L., Gobbin, D., Schärer, H. J., Tamm, L., & Gessler, C. (2008). Selection for fungicide resistance throughout a growing season in populations of *Plasmopara* viticola. European Journal of Plant Pathology, 120(1), 79-83. https://doi.org/10.1007/s10658-007-9190-0
- Mikaberidze, A., & McDonald, B. A. (2015). Fitness cost of resistance: impact on management. En H. Ishii, D. W. Hollomon (Eds.), *Fungicide Resistance in Plant Pathogens* (pp. 77-89). Springer, Tokyo.
- Miljanović, A., Grbin, D., Pavić, D., Dent, M., Jerković, I., Marijanović, Z., & Bielen, A. (2021). Essential oils of sage, rosemary, and bay laurel inhibit the life stages of oomicete pathogens important in aquaculture. *Plants*, 10(8), 1676. https://doi.org/10.3390/plants10081676
- Miyake, N., Nagai, H., Kato, S., Matsusaki, M., Ishikawa, H., & Kageyama, K. (2015). Detection of damping-off of Cape gooseberry caused by *Pythium aphanidermatum* and its suppression with phosphonate. *Journal of General Plant Pathology*, 81(3), 192-200. https://doi.org/10.1007/s10327-015-0582-2
- Moriondo, M., Jones, GV., Bois, B., Dibari, C., Ferrise, R., Trombi, G., & Bindi, M. (2013). Projected shifts of wine regions in response to climate change. *Climatic Change*, *119*, 825–839. https://doi.org/10.1007/s10584-013-0739-y
- Mosedale, J.R., Abernethy, K.E., Smart, R.E., Wilson, R.J., & Maclean, I.M.D. (2016). Climate change impacts and adaptive strategies: lessons from the grapevine. *Global Change Biology*, 22(11), 3814–3828. https://doi.org/10.1111/gcb.13406

- Mouafo-Tchinda, R. A., Beaulieu, C., Fall, M. L., & Carisse, O. (2021). Effect of temperature on aggressiveness of *Plasmopara viticola* f. sp. *aestivalis* and *P. viticola* f. sp. *riparia* from eastern Canada. Canadian Journal of Plant Pathology, 43(1), 73-87. https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1758958
- Mozell, M. R., & Thachn, L. (2014). The impact of climate change on the global wine industry: Challenges & solutions. *Wine Economics and Policy*, *3*(2), 81–89. https://doi.org/10.1016/j.wep.2014.08.001
- Musetti, R., Stringher, L., Borselli, S., Vecchione, A., Zulini, L., & Pertot, I. (2005). Ultrastructural analysis of *Vitis vinifera* leaf tissues showing atypical symptoms of *Plasmopara viticola*. *Micron*, *36*(1), 73-80. https://doi.org/10.1016/j.micron.2004.05.002
- Nanni, I. M., Pirondi, A., Mancini, D., Stammler, G., Gold, R., Ferri, I., Brunelli, A., & Collina, M. (2016). Differences in the efficacy of carboxylic acid amide fungicides against less sensitive strains of *Plasmopara viticola*. *Pest Management Science*, 72(8), 1537-1539. https://doi.org/10.1002/ps.4182
- Ojiambo, P. S., Paul, P. A., & Holmes, G. J. (2010). A quantitative review of fungicide efficacy for managing downy mildew in cucurbits. *Phytopathology*, *100*(10), 1066-1076. https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-09-0348
- Organización Internacional de la Viña y el Vino (2017). Distribution of the world's grapevine varieties. Focus OIV. https://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf
- Organización Internacional de la Viña y el Vino (2019). Statistical report on world vitiviniculture. http://www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture.pdf
- Organización Internacional de la Viña y el Vino (2021). State of the world vitivinicultural sector in 2020. https://www.oiv.int/public/medias/7909/oiv-state-of-the-world-vitivinicultural-sector-in-2020.pdf

- Pacifico, D., Gaiotti, F., Giusti, M., & Tomasi, D. (2013). Performance of interspecific grapevine varieties in north-east Italy. *Agricultural Science*, 4(2), 91–101. DOI:10.4236/as.2013.42015
- Pang, N., Dou, X., & Hu, J. (2019). Residue behaviours, dissipation kinetics and dietary risk assessment of pyaclostrobin, cyazofamid and its metabolite in grape. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(14), 6167-6172. https://doi.org/10.1002/jsfa.9877
- Pavelková, J., Lebeda, A., & Sedláková, B. (2014). Efficacy of fosetyl-Al, propamocarb, dimethomorph, cymoxanil, metalaxyl and metalaxyl-M in Czech *Pseudoperonospora cubensis* populations during the years 2005 through 2010. *Crop Protection*, 60, 9-19. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.02.006
- Pérez-Vicente, L., Santana, Y., García, O., Lovaina, Y., Pérez-Miranda, M., Rodríguez, J.A.,
 & de Ávila, R. (2017). Eficacia de fungicidas antioomicetes en la desinfección de hijos de piña MD2 para el control de *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* Dastur.
 Revista de *Protección Vegetal*, 32(2).
- Pinto, K. M. S., do Nascimento, L. C., de Souza Gomes, E. C., da Silva, H. F., & dos Reis Miranda, J. (2012). Efficiency of resistance elicitors in the management of grapevine downy mildew *Plasmopara viticola*: epidemiological, biochemical, and economic aspects. *European Journal of Plant Pathology*, 134(4), 745-754. https://doi.org/10.1007/s10658-012-0050-1
- Ponti, D., Cristiani, C., Lavezzaro, S., Morando, A., Posenato, G., Crivelli, L., Bigot, G., D'Ascenzo, D., & Capella, A. (8-11 de marzo de 2016). *Trials with a new formulation of the mixture cymoxanil and zoxamide (Lieto SC) for the control of grape downy mildew*. Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano terme, Siena, Italia.
- Prajongjai, T., Poolsawat, O., Pombungkerd, P., Wongkaew, S., & Tantasawat, P. A. (2014). Evaluation of grapevines for resistance to downy mildew (*Plasmopara viticola*) under laboratory and field conditions. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35(1), 43–50. https://doi.org/10.21548/35-1-983

- Pymes, El Financiero. (18 de mayo de 2015). Conozca al embajador de las uvas en Costa Rica. *El Financiero*. https://www.elfinancierocr.com/pymes/conozca-al-embajador-de-las-uvas-en-costa-rica/WNOJNZAJNNENVBSOM5NC5CZZ6M/story/
- Qi, R., Wang, T., Zhao, W., Li, P., Ding, J., & Gao, Z. (2012). Activity of ten fungicides against *Phytophthora capsici* isolates resistant to metaplay. *Journal of Phytopathology*, 160(11-12), 717-722. https://doi.org/10.1111/jph.12009
- Rekanović, E., Potočnik, I., Stepanović, M., Milijašević, S., & Todorović, B. 2008. Field efficacy of fluopicolide and fosetyl-Al fungicide combination (Profiler®) for control of *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. & Toni. in grapevine. *Pesticidi i fitomedicina*, 23(3), 183-187.
- Robinson, J., Harding, J., & Vouillamoz, J. (2013). Wine grapes: a complete guide to 1,368 vine varieties, including their origins and flavours. Penguin UK.
- Rossi, V., Caffi, T., & Gobbin, D. (2013). Contribution of molecular studies to botanical epidemiology and disease modelling: Grapevine downy mildew as a case-study. *European Journal of Plant Pathology*. https://doi.org/10.1007/s10658-012-0114-2
- Romanazzi, G., Mancini, V., Feliziani, E., Servili, A., Endeshaw, S., & Neri, D. (2016). Impact of alternative fungicides on grape downy mildew control and vine growth and development. *Plant Disease*, 100(4), 739–748.
- Rouxel, M., Mestre, P., Baudoin, A., Carisse, O., Delière, L., Ellis, M. A., Gadoury, D., Lu, J., Nita, M., Richard-Cervera, S., Schilder, A., Wise, A., & Delmotte, F. (2014). Geographic distribution of cryptic species of *Plasmopara viticola* causing downy mildew on wild and cultivated grape in Eastern North America. *Phytopathology*, 104(7), 692–701. https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-13-0225-R
- Santos, R. F., Ciampi-Guillardi, M., Fraaije, B. A., De Oliveira, A. A., & Amorim, L. (2020). The climate-driven genetic diversity has a higher impact on the population structure of *Plasmopara viticola* than the production system or QoI fungicide sensitivity in subtropical Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 2236. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575045

- Scott, K., Eyre, M., McDuffee, D., & Dorrance, A.E. (2020). The efficacy of ethaboxam as a soybean seed treatment toward *Phytophthora*, *Phytopythium*, and *Pythium* in Ohio. *Plant Disease*, 104(5), 1421-1432. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1818-RE
- Selim, M. (2013). *Elicitation of grapevine defense responses against Plasmopara viticola,* the causal agent of downy mildew [Tesis doctoral, Universidad de Giessen]. https://core.ac.uk/download/pdf/56345749.pdf
- Shin, K. H., Kim, D. S., Chun, S. J., & Park, E. W. (2006). Improvement in fungicidal activity of ethaboxam by a non-ionic surfactant, polyoxyethylene cetyl ether. *The Plant Pathology Journal*, 22(3), 303-308.
- Sierotzki, H. (2015). Respiration Inhibitors: Complex III. En H. Ishii, D. W. Hollomon (Eds.), *Fungicide Resistance in Plant Pathogens* (pp. 119-143). Springer, Tokyo. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8_9
- Silva, P. V., Vélez, M. L., Hernández Otaño, D., Nuñez, C., & Greslebin, A. G. (2016). Action of fosetyl-al and metalaxyl against *Phytophthora austrocedri*. *Forest Pathology*, 46(1), 54-66. https://doi.org/10.1111/efp.12216
- Servicio Fitosanitario de Estado. (7 de febrero de 2022). *Sistema de Insumos y Fiscalización*.

 Ministerio de Agricultura y Ganadería.

 http://app.sfe.go.cr/SFEInsumos/aspx/Seguridad/Home.aspx
- Soares, S., Brandão, E., Mateus, N., & de Freitas, V. (2017). Sensorial properties of red wine polyphenols: Astringency and bitterness. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 937–948. https://doi.org/10.1080/10408398.2014.946468
- Sun, H., Wang, H., Stammler, G., Ma, J., Liu, J., & Zhou, M. (2010). Sensitivity of Chinese isolates of *Plasmopara viticola* to metalaxyl and dimethomorph. *Journal of Phytopathology*, *158*(6), 450-452. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01633.x
- Tate, A.B. (2001). Global warming's impact on wine. *Journal of Wine Research*, *12*(2), 95–109. https://doi.org/10.1080/0957126012009501

- Taylor, A.S., & Cook, D.C. (2018). An economic assessment of the impact on the Western Australian viticulture industry from the incursion of grapevine downy mildew. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125(4), 397–403. https://doi.org/10.1007/s41348-018-0152-x
- Taylor, A. (2021). *Downy mildew of grapevines*. Department of Primary Industries and Regional Development: Agriculture and Food. https://www.agric.wa.gov.au/table-grapes/downy-mildew-grapevines?page=0%2C1
- Terral, J. F., Tabard, E., Bouby, L., Ivorra, S., Pastor, T., Figueiral, I., Picq, S., Chevance, J. B., Jung, C., Fabre, L., Tardy, C., Compan, M., Bacilieri, R., Lacombe, T., & This, P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of Botany*, 105(3), 443–455. https://doi.org/10.1093/aob/mcp298
- Thomas, A., Neufeld, K. N., Seebold, K. W., Braun, C. A., Schwarz, M. R., & Ojiambo, P. S. (2018). Resistance to fluopicolide and propamocarb and baseline sensitivity to ethaboxam among isolates of *Pseudoperonospora cubensis* from the eastern United States. *Plant Disease*, 102(8), 1619-1626. https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1673-RE
- Toffolatti, S.L., De Lorenzis, G., Costa, A., Maddalena, G., Passera, A., Bonza, M.C., Pindo, M., Stefani, E., Cestaro, A., Casati, P., Failla, O., Bianco, P.A., Maghradze, D., & Quaglino, F. (2018). Unique resistance traits against downy mildew from the center of origin of grapevine (*Vitis vinifera*). *Scientific Reports*, 8(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-018-30413-w
- Toffolatti, S. L., Venturini, G., Campia, P., Cirio, L., Bellotto, D., & Vercesi, A. (2015). Sensitivity to cymoxanil in Italian populations of *Plasmopara viticola* oospores. *Pest Management Science*, 71(8), 1182-1188. https://doi.org/10.1002/ps.3906

- Töfoli, J. G., Domingues, R. J., de Melo, P. C. T., & Ferrari, J. T. (2014). Effect of simulated rain on the efficiency of fungicides in potato late blight and early blight control. Semina: Ciências Agrárias, 35(6), 2977-2989.
- Underdown, R. S., Sivasithamparam, K., & Barbetti, M. J. (2008). Inhibition of the pre-and postinfection processes of *Plasmopara viticola* on *Vitis vinifera* leaves by one protectant and four systemic fungicides. *Australasian Plant Pathology*, *37*(4), 335-343. https://doi.org/10.1071/AP08031
- Urban, J., & Lebeda, A. (2007). Variation of fungicide resistance in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. *Journal of Phytopathology*, 155(3), 143-151. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01200.x
- van den Bosch, F., Paveley, N., van den Berg, F., Hobbelen, P., & Oliver, R. (2014). Mixtures as a fungicide resistance management tactic. *Phytopathology*, *104*(12), 1264-1273. https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-14-0121-RVW
- Wang, C., Wu, J., Zhang, Y., & Lu, J. (2018). Muscadinia rotundifolia 'Noble' defense response to Plasmopara viticola inoculation by inducing phytohormone-mediated stilbene accumulation. Protoplasma, 255(1), 95-107. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1118-8
- Wilcox, W.F., Gubler, W.D., & Uyemoto, J.K. (2015). Compendium of grape diseases, disorders, and pests. APS Press.
- Wood, L. (2019). World grapes market trends, insights, and opportunities, 2007-2025.

 GlobeNewswire. https://www.globenewswire.com/fr/news-release/2019/12/10/1958848/0/en/World-Grapes-Market-Trends-Insights

 Opportunities-2007-2025.html
- Xiaolin, W., Chenggang, Z., Jie, W., Jiexue, H., & Muxiang, J. (2021). The control effect of three fungicides and their combinations on grape downy mildew: a preliminary report. *Journal of Agriculture*, 11(9), 15. 10.11923/j.issn.2095-4050.cjas20200300041

- Yin, L., An, Y., Qu, J., Li, X., Zhang, Y., Dry, I., Wu, H., & Lu, J. (2017). Genome sequence of *Plasmopara viticola* and insight into the pathogenic mechanism. *Scientific Reports*, 7, 1–12. https://doi.org/10.1038/srep46553
- Yu, Y., Zhang, Y., Yin, L., & Lu, J. (2012). The mode of host resistance to *Plasmopara* viticola infection of grapevines. *Phytopathology*, 102(11), 1094–1101. https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-12-0028-R
- 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
- Zhao, X., Ren, L., Yin, H., Zhou, J., Han, J., & Luo, Y. (2013). Sensitivity of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph, metalaxyl and fosetyl-aluminium in Shanxi of China. *Crop Protection*, 43, 38-44. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.08.002
- Zini, E., Dolzani, C., Stefanini, M., Gratl, V., Bettinelli, P., Nicolini, D., Betta, G., Dorigatti, C., Velasco, R., Letschka, T., & Vezzulli, S. (2019). R-loci arrangement versus downy and powdery mildew resistance level: a *Vitis* hybrid survey. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 1–29. https://doi.org/10.3390/ijms20143526

X. ANEXOS

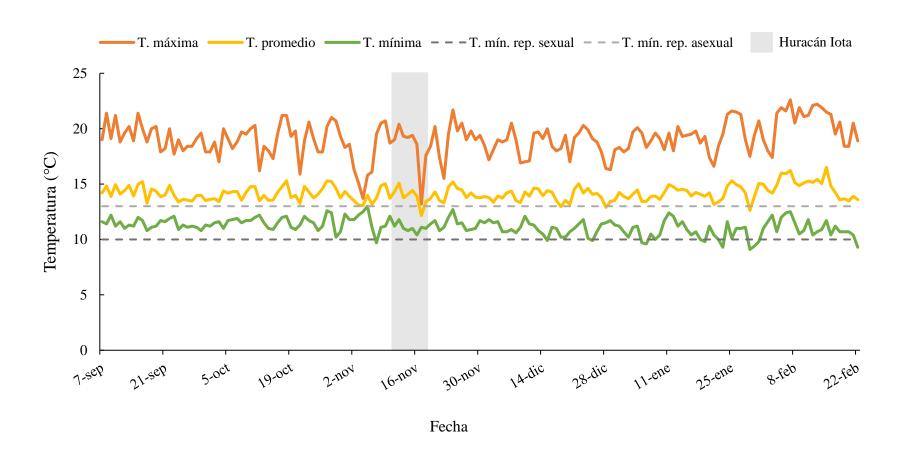
Anexo 1. Modelo de fenología para uva utilizado por la empresa Vinícola Costa Rica KNB Ltda. (Baggliolini, 1952).

Yema de invierno	B	C	D
	Yerna de algodón	Punta verde	Salida de hojas
Hojas extendidas	F	G	H
	Racimos visibles	Racimos separados	Botones florales separados
Floración	f) Cuajado	k Grano tamaño guisante	Racimo cernido
M	N	O	Caída de hojas
Envero	Maduración	Agostarniento	

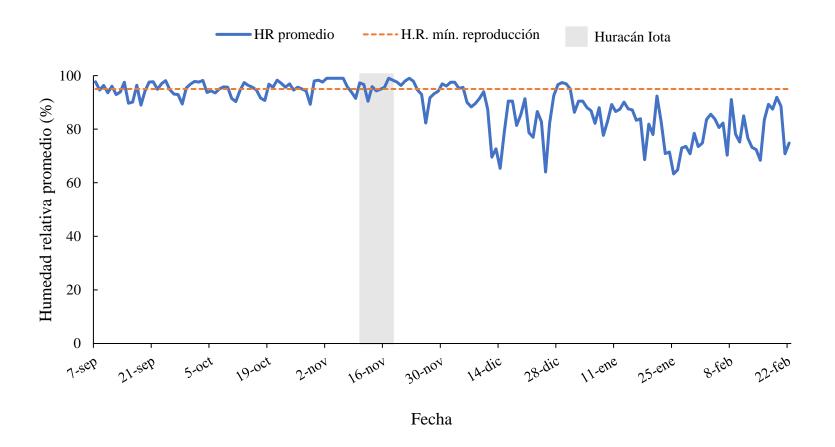
Anexo 2. Vista aérea del área cultivada en la finca Vinícola Costa Rica KNB Ltda. Las áreas delimitadas dentro de las líneas rojas representan los lotes experimentales de esta investigación.



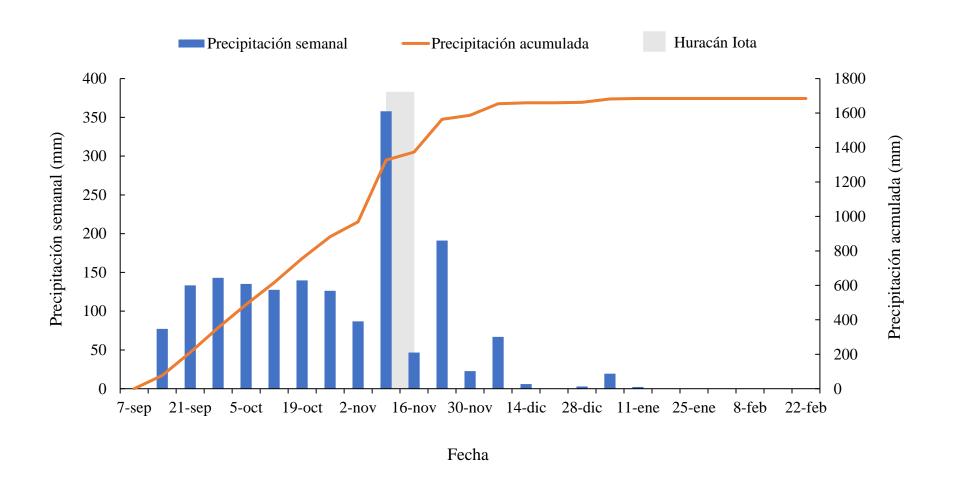
Anexo 3. Temperatura mínima, máxima y promedio durante el periodo de evaluación de incidencia acumulada y severidad de mildiú velloso en hojas y racimos de uva variedad Syrah, en Copey, Santa María de Dota, San José.



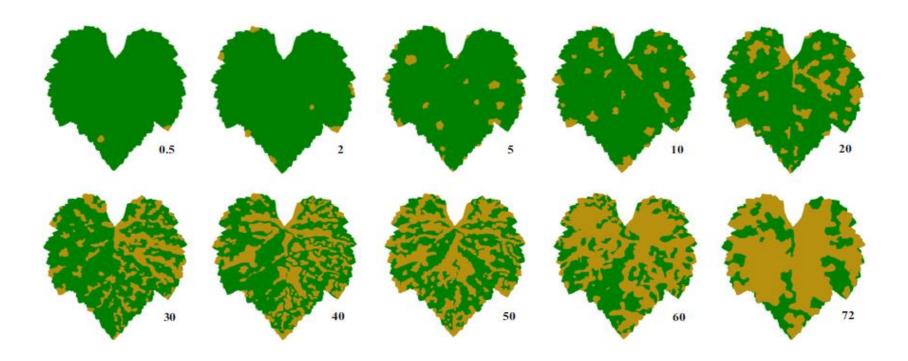
Anexo 4. Humedad relativa promedio durante el periodo de evaluación de incidencia acumulada y severidad de mildiú velloso en hojas y racimos de uva variedad Syrah, en Copey, Santa María de Dota, San José.



Anexo 5. Precipitación semanal y acumulada durante el periodo de evaluación de incidencia acumulada y severidad de mildiú velloso en hojas y racimos de uva variedad Syrah, en Copey, Santa María de Dota, San José.



Anexo 6. Escala diagramática para la cuantificación de severidad del mildiú velloso de la uva (*Plasmopara viticola*), en hojas de *Vitis labrusca*. El número adyacente representa el porcentaje de área sintomática (Camargo et al., 2019).



Anexo 7. Resultado de la prueba de Levene para la variable ABCPE de incidencia acumulada en hojas.

Análisis de la varianza

Variable				N	R²	R²	Αj	CV
RABS	VALOR	DE	AUDPC	24	0,37	0	,20	57,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	319223,56	5	63844,71	2,13	0,1084
TRATAMIENTO	319223,56	5	63844,71	2,13	0,1084
Error	539469,71	18	29970,54		
Total	858693,27	23			

Anexo 8. Resultado de la prueba de Shapiro-Wilk modificado para la variable ABCPE de incidencia acumulada en hojas.

Shapiro-Wilks (modificado)

	Variak	ole		n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO	VALOR	DE	AUDPC	24	0,00	363,33	0,98	0,9238

Anexo 9. Resultado de la prueba de Levene para la variable ABCPE de severidad en hojas.

Análisis de la varianza

Variable N R² R² Aj CV RABS AUDPC 24 0,41 0,25 57,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	242334,01	5	48466,80	2,52	0,0672
TRATAMIENTO	242334,01	5	48466,80	2,52	0,0672
Error	345782,90	18	19210,16		
Total	588116,91	23			

Anexo 10. Resultado de la prueba de Shapiro-Wilk modificado para la variable ABCPE de severida en hojas.

Shapiro-Wilks (modificado)

Variab	le n	Media	D.E.	W۰	p(Unilateral D)
RDUO AU	DPC 24	0,00	293,53	0,93	0,3026

Anexo 11. Resultado de la prueba de Levene para las medias transformadas con la función logaritmo natural, de la variable ABCPE de incidencia acumulada en racimos.

Análisis de la varianza

Vai	riak	ole	N	R²	R²	Αj	CV
RABS	LN	AUDPC	24	0,43	0,	, 27	83,27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,37	5	0,07	2,74	0,0519
TRATAMIENTO	0,37	5	0,07	2,74	0,0519
Error	0,49	18	0,03		
Total	0,86	23			

Anexo 12. Resultado de la prueba de Shapiro-Wilk modificado para las medias transformadas con la función logaritmo natural, de la variable ABCPE de incidencia acumulada en racimos.

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO LN AUDPC	24	0,00	0,28	0,91	0,0785