



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

---

*Centro Universitario UAEM Tenancingo*



**EVALUACIÓN DEL FUNGICIDA SPHINX SUPRA WG® EN EL CONTROL DEL MILDIÚ VELLOSO (*Peronospora sparsa* Berkeley) EN EL CULTIVO DE ROSAL (*Rosa* spp.) EN TENANCINGO, ESTADO DE MÉXICO.**

**T E S I S**

**PRESENTA**

**AARÓN AHAMED SAIS MARROQUÍN**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. EN C. RÓMULO GARCÍA VELASCO**

**ASESOR**

**M. EN C. JUSTINO GERARDO GONZÁLEZ DÍAZ**

**TENANCINGO, ESTADO DE MÉXICO**

**AGOSTO DEL 2014**

Nuestro miedo más profundo no es que seamos inadecuados.

Nuestro miedo más profundo es que somos  
inconmensurablemente poderosos.

Lo que nos asusta es nuestra luz, no nuestra oscuridad.

Nos preguntamos: ¿quién soy yo para ser brillante,  
encantador, talentoso y fabuloso?  
En realidad, ¿quién eres para no serlo?

Eres una criatura de Dios.

Jugar a ser insignificante no le sirve al mundo.

No hay nada inspirador en encogerse para que los demás  
no se sientan inseguros a tu alrededor.

Hemos nacido para dejar de manifiesto

la gloria de Dios que hay dentro de nosotros.

Que no está sólo en algunos, sino en cada uno de nosotros.

Y, al dejar que nuestra propia luz brille,  
inconscientemente, les damos permiso a otros  
para que hagan lo mismo.

Al liberarnos de nuestro propio miedo,  
nuestra presencia, automáticamente,  
libera a otros.

**NELSON MANDELA**

## DEDICATORIA

Antes que nada le doy gracias a Dios por su infinita misericordia, colmarme de bendiciones y permitirme culminar esta etapa tan importante en mi vida.

A mis padres Mireya Marroquín y Rubén Sais por su apoyo incondicional, por todas las enseñanzas y valores que implantaron en mí, por la confianza que me brindaron en momentos difíciles y ser un excelente ejemplo como padres pero sobre todo como seres humanos, los admiro. Me enorgullece ser su hijo.

A mi hermana Frida Sais, que para mí es un ejemplo de tenacidad y esfuerzo, por estar presente cuando lo he necesitado, expresándote mi profundo respeto, te quiero muchísimo hermana, nunca cambies!!

A mis familiares y amigos por sus constantes muestras de cariño, palabras de aliento y consejos brindados hacia mi persona.

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Autónoma del Estado de México por las facilidades ofrecidas para la realización del presente trabajo, por ofrecer las instalaciones y equipo necesario pero sobre todo enseñar con pasión y orgullo, lo que representa la institución.

A mis tíos Gabriel Flores y Francis Marroquín por su apoyo y confianza brindada para culminar con este trabajo.

Quedo especialmente agradecido a mi Director de tesis, Dr. Rómulo García Velasco por brindarme todo su apoyo y motivación, dirección, sugerencias y correcciones además de consejos y profesionalismo otorgado para ser parte esencial de este trabajo.

A la empresa BRAVO AG por el interés y el apoyo con los agro insumos para la realización de este trabajo.

A la empresa Meilland International de México por el apoyo con el material vegetal de su propiedad para la realización de investigaciones, entre ellas la presente.

Mención especial a mi familia por el gran esfuerzo y dedicación otorgada a lo largo de mi vida que culmina con el sueño de terminar la carrera. Esto es para ustedes.

## CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
1.1. Taxonomía.....	4
1.2. Morfología.....	5
1.3. Reproducción.....	5
1.4. Formas de penetrar y sintomatología .....	6
1.5. Epidemiología .....	7
1.6. Manejo.....	8
1.6.1. Control químico.....	8
1.6.2. Control físico .....	11
1.6.3. Control cultural.....	12
1.6.4. Control nutricional .....	13
1.6.5. Control biológico .....	14
1.7. Resistencia .....	15
1.8. Información del producto evaluado.....	16
<b>2. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>18</b>
<b>3. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>20</b>

4. HIPÓTESIS .....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
5.1. Localización del area experimental y descripción del cultivo .....	21
5.2. Manejo del cultivo e inducción de brotes .....	21
5.3. Inducción de <i>P. sparsa</i> en el cultivo de rosa.....	22
5.4. Diseño Experimental.....	23
5.5. Tratamientos evaluados.....	25
5.6. Aplicación de los tratamientos .....	26
5.7. Parámetros evaluados.....	27
5.7.1. Severidad.....	27
5.7.2. Incidencia.....	29
5.7.3. Fitotoxicidad .....	29
5.8. Análisis de datos.....	30
6. RESULTADOS .....	32
6.1. Pre evaluación .....	32
6.2. Primera evaluación .....	33
6.3. Segunda evaluación .....	34
6.4. Tercera evaluación .....	35
6.5. Cuarta evaluación.....	36
6.6. Incidencia de <i>Peronospora sparsa</i> .....	38
6.7. Fitotóxicidad del producto Sphinx Supra WG®.....	39
7. DISCUSIÓN .....	42
8. CONCLUSIONES.....	46

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa Berkeley*) en el cultivo de rosal (*Rosa spp.*) en Tenancingo, Estado de México.

LITERATURA CITADA .....	47
<b>ANEXOS</b> .....	<b>55</b>

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Formulación semanal correspondiente a la fertirrigación para el invernadero de rosa .....	22
<b>Tabla 2.</b> Fungicidas evaluados durante la investigación .....	26
<b>Tabla 3.</b> Escala arbitraria para determinar el porcentaje de infección causado por el mildiú veloso ( <i>Peronospora sparsa</i> ) en rosal .....	28
<b>Tabla 4.</b> Escala diagramática logarítmica de <i>P. sparsa</i> .....	28
<b>Tabla 5.</b> Escala porcentual propuesta por la European Weed Research Society, para evaluar fitotoxicidad en el cultivo .....	30
<b>Tabla 6.</b> Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso en preevaluación .....	32
<b>Tabla 7.</b> Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso en la primera evaluación.....	33
<b>Tabla 8.</b> Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso en la segunda evaluación .....	34
<b>Tabla 9.</b> Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso en la primera pos evaluación .....	35
<b>Tabla 10.</b> Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso en la segunda pos evaluación .....	36

## FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Temperatura y humedad relativa promedio diaria en el invernadero de rosa.....	23
<b>Figura 2.</b> Distribución de bloques y tratamientos en campo dentro del campo experimental .....	24
<b>Figura 3.</b> Esquema dimensional de bloque .....	24
<b>Figura 4 .</b> Promedio de efectividad biológica de los tratamientos para el control de <i>Peronospora sparsa</i> .....	37
<b>Figura 5.</b> Incidencia de <i>Peronospora sparsa</i> en cultivo de rosa durante el periodo de evaluación del fungicida Sphinx Supra WG®. ....	38
<b>Figura 6.</b> <i>Peronospora sparsa</i> en rosa Bingo® White var. Meilotrie durante la última evaluación. Comparativa entre tratamientos en orden descendente....	39
<b>Figura 7.</b> Residuos del fungicida Sphinx Supra WG® sobre el haz de una hoja verdadera (T3). ....	40
<b>Figura 8.</b> Daño por P. sparsa en botón floral (T1) .....	40
<b>Figura 9.</b> Comparación de tratamientos por bloque (B3).....	41

## RESUMEN

Una de las enfermedades limitantes en el cultivo de rosa es el mildiú veloso producido por el Oomicete holobiotrofo *Peronospora sparsa*, que causa daños considerables en la producción. Estos daños se manifiestan principalmente en tejidos jóvenes, son visibles inicialmente en las hojas, seguido de tallos, pedúnculos y cáliz. Para su manejo se realizan aplicaciones de fungicidas básicamente, sin embargo se conoce poco sobre su eficiencia biológica, así como las dosis recomendadas en las etiquetas. El objetivo de esta investigación fue evaluar la efectividad biológica del fungicida Sphinx Supra WG® (Dimetomorf+Clorotalonil) en comparación con testigos comerciales Curzate® M-8 y Consentó® que se utilizan para el manejo de este patógeno en la zona florícola del sureste del Estado de México, para ofrecer alternativas con nuevos productos para su control. Se estableció un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones en rosas Bingo® White Var. Meilotrie; se evaluaron tres dosis de Sphinx Supra WG® a 1 ml L<sup>-1</sup>, 1.5 ml L<sup>-1</sup> y 2 ml L<sup>-1</sup>, dos testigos comerciales (Cimoxanil+Mancozeb) y (Propamocarb HCl+Fenamidone) a una dosis de 1 ml L<sup>-1</sup> para ambos casos y un testigo absoluto. Se realizó una preevaluación y después de la primera aplicación se continuaron evaluaciones cada 5 días, hasta completar el experimento, evaluando incidencia, severidad y fitotoxicidad. Al término del experimento el tratamiento con menor incidencia y severidad fue Sphinx Supra WG® a 1.5 ml L<sup>-1</sup> con 23% y 31.67% respectivamente, lo que representó una efectividad biológica del 67.38%, seguido por Sphinx Supra WG® a 1 ml L<sup>-1</sup> con

una incidencia y severidad de 25% y 41.67%, obteniendo una efectividad biológica del 57.08%, mientras que el testigo absoluto presentó los niveles más altos de incidencia y severidad de 81.25% y 97.08%, respectivamente. Con estos resultados se demuestra, que Sphinx Supra WG® presentó la mayor efectividad biológica sobre *Peronospora sparsa*, sin efecto fitotóxico, y fue contrastante con el testigo absoluto y los testigos comerciales evaluados.

## INTRODUCCIÓN

La *Rosa spp.* es uno de los cultivos de flores más apreciadas, con alta significación estética y sentimental, por lo que es considerada tradicionalmente apropiada para acontecimientos especiales y familiares. Entre las flores de corte mayormente comercializadas en el mundo se encuentra la rosa bajo invernadero, distinguiéndose como el principal producto dentro de la producción de flores con un 48% del total de las exportaciones (Castillo *et al.*, 2010). En México la producción anual de ornamentales es de aproximadamente 95 mil toneladas con un valor que asciende los cinco mil 275 millones de pesos. El Estado de México destaca como el principal productor de flores de corte, resaltando los municipios de Villa Guerrero, Tenancingo, Coatepec Harinas y Zumpahuacán donde se produce el 37% de la cosecha nacional de flores (2000Agro, 2010).

En condiciones naturales y particularmente bajo condiciones de cultivo, las plantas pueden ser atacadas por uno más patógenos como hongos, oomicetes, bacterias, virus, viroides y nematodos, durante cualquier estado de su crecimiento; las consecuencias pueden ser diversas especialmente en términos de producción y costos de control. Grandes avances se han hecho en los últimos años para el manejo de las enfermedades de las plantas, especialmente en cultivares resistentes, controles químicos y biológicos, al igual que propuestas de métodos culturales, sin embargo algunas enfermedades resultan difícil controlar usando métodos accesibles (Madden *et al.*, 2007).

La fitopatometría es la medida o estimación de la enfermedad, en donde se determina el valor “X” con dimensión “1”, en términos epidemiológicos. El objetivo principal de la estimación de daños causados por enfermedades es contribuir a la obtención de un mejor conocimiento del disturbio desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo. Bajo ciertas circunstancias, los estimativos de daño constituyen una herramienta útil que permite distinguir diferencias entre tratamientos que difícilmente se detectaron mediante la determinación única del rendimiento o calidad. Esto tiene aplicación práctica en estudios diseñados para medir la eficiencia relativa de fungicidas, como también para detectar diferencias pequeñas en resistencia contra diversas enfermedades en ensayos de variedades.

Uno de los métodos utilizados para estimar el daño de enfermedades, ha sido el uso de diagramas y escalas descriptivas que permiten correlacionar severidad e incidencia con la intensidad de las pérdidas. Un ejemplo fue el publicado por Natham Augustus Cobb en 1892, elaborando dibujos de las hojas mostrando diagramáticamente cinco grados de roya con 1, 5, 10, 25 o 50% del área de la hoja cubierta por la enfermedad (Castaño-Zapata, 2002).

Según Horsfall y Barratt (1945), los grados visuales deben progresar logarítmicamente sin pasar del 50% del área total cubierta por lesiones ya que el ojo humano solo tiende a observar cierto daño; generalmente, los investigadores emplean los ojos en estudios de incidencia o severidad, aun cuando muchos de ellos definen la apreciación del primero como un método objetivo, y la del segundo como subjetivo; en realidad ambas apreciaciones son objetivas.

Cuando se realizan evaluaciones frecuentes sobre la misma parcela experimental, los porcentajes de severidad estimados se pueden graficar a través del tiempo, obteniendo una curva que define y mide toda la trayectoria de la epidemia sobre el cultivo, esta curva del progreso de la enfermedad sirve para comparar los ataques de enfermedades en diferentes épocas y áreas geográficas; cuando se adiciona histogramas de precipitación, temperatura y humedad relativa, dichas curvas también mostrarán el efecto del medio ambiente sobre el desarrollo de las epidemias (Castaño-Zapata, 2002).

*Peronospora sparsa* es uno de los patógenos que causa los mayores problemas fitosanitarios en el cultivo de rosa, con pérdidas hasta del 10% de la producción bruta anual, ya que afecta la productividad de las plantas, calidad del producto a exportar y aumenta los costos de producción, especialmente por el incremento en el número de aplicaciones de fungicidas (Suarez, 1999; Gómez y Arbeláez, 2005).

## 1. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1. Taxonomía

#### *Peronospora sparsa* Berkeley

*P. sparsa* es un patógeno obligado que forma parte del grupo de los Oomicetes, los cuales son organismos miceliales semejantes a los hongos, que se conocen comúnmente como mohos acuáticos e incluyen saprófitos y patógenos de plantas, insectos, crustáceos, peces, animales vertebrados y de otros microorganismos (Kamoun, 2003). Según la clasificación de Hawksworth y colaboradores (1995), pertenece al reino Chromista, subreino Heterokonta, aunque actualmente se ha reclasificado al reino Straminopila (Kamoun, 2003). De acuerdo a Sumbali (2005), pertenece a la división Mastigomycota, subdivisión Diplomastigomycotina, clase Oomycete, orden Peronosporales y familia Peronosporaceae.

De igual forma se menciona una clasificación de la clase Peronosporomycetes en la cual se destacan 3 subclases, la Saprolegniomycetidae, Rhipidiomycetidae y Peronosporomycetidae; dicha clasificación se basa en estructuras y caracteres morfológicos como por ejemplo, oosporogenesis, pared de la oospora y estructura protoplásmica de la oospora (Dick, 1995). Sin embargo, la clasificación taxonómica de este grupo de pseudohongos se encuentra en una profunda revisión con base en análisis filogenéticos de las secuencias de regiones ITS del ADN ribosomal ADNr (Cooke *et al.*, 2000; Petersen y Rosendahl, 2000) y de la subunidad 28S del ADNr (Göker *et al.*, 2003; Riethmüller *et al.*, 2002).

## 1.2. Morfología

*P. sparsa* se caracteriza por poseer esporangios subelípticos (17-22  $\mu\text{m}$  x 14-18  $\mu\text{m}$ ) producidos a partir de esterigmas presentes en esporangióforos erectos y dicotómicamente ramificados en ángulos agudos (Horst y Cloyd, 1998). Sin embargo Achar (1997), identificó conidios (esporangios) subelípticos que van desde 20-23  $\mu\text{m}$  x 14-18  $\mu\text{m}$  y conidióforos (esporangióforos) de 150-350  $\mu\text{m}$  x 6-10  $\mu\text{m}$ . Los conidióforos salen a través de los estomas como racimos de estructuras con conidios en las puntas por debajo de la hoja.

## 1.3. Reproducción

La reproducción asexual se realiza por medio de esporangios, los cuales se forman por esporangióforos; por lo regular las características de los esporangióforos determinan la identificación de los géneros. Los esporangios, dependiendo de la temperatura y humedad germinan a través de zoosporas o esporas móviles o directamente a través de hifas. Los géneros *Peronospora* y *Bremia* no forman zoosporas y los esporangios se comportan como conidios, es decir que al germinar producen directamente un tubo germinativo (Arbeláez, 1999). También el pseudohongo se reproduce sexualmente por medio de anteridios y oogonios que a su vez forman oosporas simples, esféricas u ovaladas (18-28  $\mu\text{m}$  de diámetro). Los oogonios contienen en forma similar una pared delgada de 26-35  $\mu\text{m}$  de diámetro. La pared de la oospora, como en otros mildiús, consta de 3 capas. La pared exterior o exosporium, es un color dorado-marrón claro en esporas maduras, variables de espesor (1,5-4  $\mu\text{m}$ ) y superficialmente lisa

a irregular o un poco acanalada. La pared intermedia o mesosporium, es menor que 1  $\mu\text{m}$  de grueso y se distingue sólo por su refractividad y transmisión de la luz. La pared interior, el endosporium es de espesor uniforme (2-3  $\mu\text{m}$ ), hialina y altamente de refracción. La estructura distintiva de las oosporas, es en particular el endosporium de refracción, porque permite la distinción inmediata de las células basales contrastando con los pelos de la epidermis y las células glandulares o cristalinas que están presentes en el mesófilo de las especies *Rubus* (Hall y Gardner, 1982).

*P. sparsa* posee paredes gruesas que cumplen funciones como estructuras de resistencia. En las zonas templadas, la producción de oosporas es profusa en el mesófilo de las hojas así como también en la corteza de los tallos y pedúnculos de las plantas sintomáticas (Aegerter *et al.*, 2002).

#### **1.4. Formas de penetrar y sintomatología**

El pseudohongo penetra al hospedante en forma directa a través de la cutícula y la epidermis, y se alimenta de las células del parénquima por medio de haustorios filiformes y una profusa red de micelio intercelular (Michelmore *et al.*, 1988)

La infección está limitada generalmente a los ápices jóvenes. Es frecuente observar el desarrollo de manchas irregulares de color rojizo purpura a pardo-oscuro, rodeadas de un halo clorótico en el haz de las hojas y sobre el envés micelio de color marrón claro con abundante producción de esporangióforos y esporangios lo cual genera la apariencia vellosa característica de la enfermedad

(Ayala-Vásquez *et al.*, 2008; Arbeláez, 1999; Alfieri, 1968). La enfermedad se manifiesta sobre las hojas, tallos, pedúnculos, cáliz y pétalos (Arbeláez y Gómez 2005; Achar, 1997). Los síntomas iniciales de la enfermedad en los tallos se caracterizan por abultamientos blancos de la corteza, acompañados en algunos casos de moteados color marrón claro; los síntomas posteriores correspondieron a moteados púrpura típicos de la enfermedad seguidos del rajado longitudinal de la corteza en tallos maduros, mientras que en botones florales se presentan momificaciones o manchas en los sépalos de la flor (Arbeláez y Gómez 2005; Horst y Cloyd, 1998).

### **1.5. Epidemiología**

Además de los daños que *P. sparsa* ha causado en cultivos de rosal, se ha reportado como un problema en diversas especies del género *Rubus*, afectando la producción comestible en *Rubus articus*, *Rubus fruticosus*, *Rubus chamaemorus* y *Rubus glaucus* (Walter *et al.*, 2004; Lindqvist-Kreuze *et al.*, 2002). En las condiciones de la sabana de Bogotá se ha encontrado que la temperatura óptima para la germinación de esporangios de *P. sparsa* corresponde a 14°C, pero se requiere un periodo mínimo de cuatro horas de agua libre sobre los tejidos para que ocurra la infección (Ayala-Vásquez *et al.*, 2008). El período de latencia del patógeno se ha estimado entre cuatro y siete días con una temperatura entre 20-25°C, determinándose además que *P. sparsa* es capaz de iniciar su ciclo de infección a temperaturas tan bajas como 5 °C, siempre y cuando exista una

lámina de agua sobre el tejido durante al menos ocho horas (Aegerter *et al.*, 2003).

Bajo condiciones controladas la esporulación se ve favorecida por fotoperiodos de 8 a 16 horas a 560 lux, y presenta un alto desempeño con periodos de 12 horas a 790 lux, sin embargo cuando se expone a la luz continua se inhibe la capacidad de esporular, así mismo, determina la producción de esporangios con características atípicas, como bajo contenido citoplasmático y menor tamaño (Soto y Filgueira, 2009). Según Aegerter y colaboradores (2003), la germinación se da 4 días después de la inoculación mientras la esporulación se manifiesta 5 días después de la germinación completando un ciclo de 10 días aproximadamente, también señala que la temperatura óptima para la colonización ocurre entre los 20-25 °C.

## **1.6. Manejo**

### **1.6.1. Control químico**

Actualmente el manejo de esta enfermedad está basado principalmente en el control químico, erradicación del material afectado de forma manual, mejoramiento nutricional y modificación de las condiciones ambientales dentro de los invernaderos. El control químico está basado en fungicidas disponibles con diferentes propiedades en sistematicidad, especificidad, duración de la actividad y el riesgo de resistencia (Gisi y Sierotzki, 2008).

Fungicidas de contacto.- Se denominan fungicidas de contacto a todos los productos químicos que actúan en la superficie de las hojas (no ingresan al interior

del tejido foliar), tienen efecto residual corto y para que sean eficientes tienen que cubrir necesariamente toda la superficie foliar y esto no siempre se consigue en el campo, debido a una aplicación deficiente, lavado por la lluvia del producto aplicado y porque los tejidos en desarrollo, en algún momento están desprotegidos. Dependiendo de las condiciones ambientales, las aplicaciones con estos productos pueden realizarse cada 3 a 7 días. Actúan inhibiendo el crecimiento miceliano y germinación de las zoosporas (como es el caso de los dithiocarbamatos: mancozeb, zineb, propineb, maneb y metiran), inhiben la movilidad de las zoosporas (captafol y folpet), como antiesporulantes para reducir la diseminación (acetato de fentin, hidróxido de fentin, clorotalonil y fluazinam).

Fungicidas sistémicos.- Se les llama fungicidas sistémicos, a todos los productos químicos que al ser aplicados al follaje, ingresan a los tejidos de la planta. Tienen un efecto residual largo de 10 a 15 días y se traslocan dentro de la planta. El movimiento puede ser simplemente translaminar (Cimoxanil, dimetomorph, previcur), de hoja a hoja, de tallo a hoja y/o de follaje a raíz. El movimiento de arriba hacia abajo se conoce como basipétalo y de abajo hacia arriba como acropétalo. Los fungicidas con este tipo de movimiento son altamente sistémicos y pertenecen al grupo de las fenilaminas (metalaxil, ofurace, benalaxyl y oxadixyl). Los fungicidas sistémicos actúan sobre la esporulación del patógeno (grupo de las fenilamidas, dimetomorph), el crecimiento miceliano (grupo de las fenilamidas), la germinación de esporangios (grupo de las fenilamidas, dimetomorph y previcur), la germinación y movilidad de zoosporas (grupo de las fenilamidas) y la producción de esporangios y oosporas (dimetomorph). Se ha reportado también que los

fungicidas sistémicos (Cimoxanil y dimetomorph), afectan la síntesis del RNA del patógeno mediante la enzima RNA polimerasa (Neumann y Lundstedt, 2012).

Conforme a algunos experimentos los fungicidas aplicados al suelo no son recomendables debido al bajo control de la enfermedad y a los altos costos generados, así que son mejores las aplicaciones al follaje, e incluir el fosetil de aluminio dentro de los programas de aplicaciones de fungicidas cuando el patógeno tenga condiciones muy favorables para su desarrollo; además, es importante dirigir las aspersiones de fungicidas al tercio inferior de los tallos, especialmente, y darle a esta zona un manejo adecuado, para que no sea una fuente constante de inóculo para el resto de la planta, sin descuidar las partes más jóvenes, que son muy susceptibles a la enfermedad (Quiroga y Arbeláez., 2004).

Según Johnson y Anliker (1985), en el cultivo de lúpulo (*Humulus lupulus*), el patógeno *Pseudoperonospora humuli* fue controlado con metalaxil (Ridomil 2EC®) aplicando 0.56 kg de ingrediente activo por ha<sup>-1</sup>, reduciendo 5% la incidencia en espigas primarias y hasta 16% la incidencia de brotes secundarios infectados para la siguiente temporada. Mientras que en la zarzamora (*Rubus spp.*), se hacen aspersiones con metalaxil a una dosis de 20 g de i. a. por cada 100 L<sup>-1</sup> de agua para reducir la incidencia hasta un 12% en la infección de fruta por *Peronospora rubi* (Tate y Van der Mespel, 1983). Sin embargo, otros autores señalan que el control efectivo durante la cosecha o posteriormente, se dio con tres aplicaciones de ácido fosfórico (Foli-R-Fos 400®) a una dosis de 5 l ha<sup>-1</sup>, seguido por tres de azoxystrobin (Amistar®) 560 g ha<sup>-1</sup> y tres aplicaciones de dichlofluanid (Euparen®)

3.5 kg ha<sup>-1</sup>, por lo tanto llegaron a la conclusión que las aplicaciones basadas en metalaxil-M son inefectivas en la prevención del mildiú durante la poscosecha (Walter *et al.*, 2004).

De acuerdo a O'Neill y colaboradores (2002), Cimoxanil+Mancozeb+Oxadixil y fluazinam dieron un buen control de mildiú tanto en rosa como en zarzamora, al igual que las aspersiones de fosetil aluminio en alto volumen fueron eficaces en el cultivo de zarzamora. Asimismo, se han hecho experimentos durante la plantación de esquejes de rosa, donde se sumergieron en una solución con metalaxil, reduciendo efectivamente la incidencia de mildiú en brotes emergentes de estos cortes, sin embargo, altas concentraciones del producto (1000 mg de i.a. L<sup>-1</sup>) redujo el crecimiento de los brotes, pero en concentraciones bajas (100-500 mg de i.a. L<sup>-1</sup> mefenoxam) no resultaba fitotóxico y controló efectivamente el mildiú veloso (Aegerter *et al.*, 2002).

Uno de los fungicidas más recientes es el fenamidone, el cual se ha evaluado en el desarrollo de la sintomatología del mildiú veloso dando resultados efectivos en dosis superiores a 12 mg L<sup>-1</sup> mientras que a 25 mg L<sup>-1</sup> tuvo un efecto antiesporulante, por lo tanto este patógeno tiene un alto grado de sensibilidad a dicho ingrediente activo (Argel *et al.*, 2007).

### **1.6.2. Control físico**

Otra forma de control de *P. sparsa* se da mediante el manejo de las condiciones ambientales, tales como la luz, temperatura, y humedad relativa.

Debido a que el mildiú veloso se desarrolla mejor en condiciones de oscuridad,

López (2013), recomienda un sombreado no mayor al 15% en la cubierta plástica del invernadero, respecto a la temperatura y la humedad relativa, dado que son factores asociados al desarrollo de la enfermedad se debe mantener el invernadero con una buena ventilación evitando agua libre sobre la superficie de las hojas, ya que los esporangios al ser depositados sobre tejidos susceptibles, germinan óptimamente con una humedad relativa superior a 85%, y una temperatura de 18°C dando lugar al ciclo de infección (Horst y Cloyd, 2007; Gallegos *et al.*, 1999).

### **1.6.3. Control cultural**

El control cultural consiste en el uso de prácticas agronómicas rutinarias para crear un agro-ecosistema menos favorable al desarrollo y supervivencia de las plagas, o para hacer al cultivo menos susceptible a su ataque (Ríos y Baca, 2002); entre las principales practicas destacan la destrucción de hospederos alternativos, utilización de cultivos trampa, control en la densidad de siembra, sistema de riego localizado y destrucción de residuos y rastrojos; así como el control manual que consiste en la eliminación del inoculo en el caso particular del mildiu veloso, esto permite eliminar todas estructuras de las plantas afectadas, al igual recogiendo las hojas contaminadas del suelo y así evitar la diseminación del mismo dentro de la plantación. Mendoza y colaboradores (2005), señalan algunas ventajas del control cultural, entre las que destacan mayor generación de empleo, monitoreo constante del cultivo, manejo preventivo y no contamina el medio ambiente; a su vez indica desventajas claras como la capacitación continua, proceso complejo de

implementar y ejecutar, elevados costos de mano de obra y cansancio visual, sin embargo recalca la diferencia a favor de un 22.4% para dicho control comparado con el control químico. Por otra parte Pizano de Márquez (2003), menciona que después de eliminar el material vegetal infectado, se debe esterilizar con vapor para eliminar las esporas restantes.

#### **1.6.4. Control nutricional**

De acuerdo a la literatura, *P. sparsa* puede ser manejada mediante soluciones nutritivas, tal es el caso de la incorporación de 100 a 200 ppm de Si bajo condiciones de hidroponía, así mismo al aumentar en un 150% de K y Mn en la solución estándar reduce los daños de este patógeno. Sin embargo, el mismo autor señala que al aumentar en 150% de N en dicha solución nutritiva, incrementa la incidencia y severidad de la enfermedad (Castillo *et al.*, 2010).

Otro producto nutricional usado como fuente de fósforo en el cultivo de rosa es FosfiMAX® 40-20 pero además presenta una acción fungistática para el control de *Peronospora sparsa* en el cultivo de rosa Bingo White® var. Meilotrie bajo invernadero a una dosis de 2.5 ml L<sup>-1</sup> con una efectividad biológica de 94.75%; este producto no solo fue capaz de controlar la infección y colonización de *P. sparsa* sino que también aumentó la producción de tallos florales; ya que al ser un fertilizante con un alto contenido de fosforo y potasio, logró estimular la emisión de nuevos botones florales aunado con un área foliar sana (Chavarro, 2012).

León-Reyes y colaboradores (2011), utilizando el principio de resistencia inducida en plantas, desarrollaron un producto (ELYCYTOR®) que consiste en una mezcla

balanceada de cinco sistemas fundamentales que potencializan constantemente el estado de alerta y refuerzan la nutrición vegetal. Estos sistemas son: sales minerales macro y micro nutrientes balanceadas, vitaminas complejo A y complejo B, hormonas (giberelinas, auxinas, citoquininas), aminoácidos quelantes y esenciales, y ácidos orgánicos específicos como inductores de resistencia; aplicaciones de este producto a dosis de 2.5 ml L<sup>-1</sup> cada dos semanas redujo el 50% de severidad causado *P. sparsa* en rosa.

#### 1.6.5. Control biológico

En patología de las plantas, se aplica a la utilización de antagonistas microbianos para suprimir enfermedades, así como el uso de patógenos específicos para controlar las poblaciones de malezas. El organismo que suprime la plaga o patógeno se conoce como el agente de control biológico (BCA) (McSpadden y Fravel, 2002).

*Trichoderma harzianum* (Trikofun®) utilizado para el control de *P. sparsa* y *B. cinerea* reduce el 10% de infección a una dosis de 1ml L<sup>-1</sup>, en el cultivo de rosa (Quinche, 2009), además esta cepa controla hongos fitopatógenos del suelo del género *Alternaria*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Mycosphaerella* y *Verticillium*, el único inconveniente es que no mata inmediatamente sino el control se da por competencia física y por el efecto del hiperparasitismo. Por otra parte, en el cultivo de zarzamora en Michoacán, México han mostrado que los programas de manejo basados en extractos de semillas de cítricos (toronja), tiene efectos prometedores casi a nivel de los fungicidas químicos aplicados 10-14 días después de la

defoliación, por lo que podría ser otra opción para el control de *P. sparsa* (Rebollar, 2011).

En caso del moho azul del tabaco (*Peronospora tabacina* D.B. Adam) con la aplicación de *Pseudomonas aeruginosa* Migula, cepa PSS (Gluticid®) cada siete días a la dosis de 0.09 kg ha<sup>-1</sup> del ingrediente activo, obteniendo una reducción de la enfermedad del 50% similar al obtenido con el fungicida estándar mancozeb en condiciones de campo. Este biofungicida libre de células bacterianas, se obtiene mediante procedimiento biotecnológico y contiene metabolitos bioactivos tales como sideróforos (Pioverdín Tipo II), antifúngicos de naturaleza fenólica y ácido salicílico, alcanzando concentraciones entre 100 y 300 mg kg<sup>-1</sup> en el producto final, y entre 30 y 100 mg kg<sup>-1</sup> del sideróforo Pioverdín (Stefanova *et al.*, 2007).

### 1.7. Resistencia

Si bien no existe información concreta de resistencia para *P. sparsa* en el cultivo de rosa, en la década de los años 80's, se reportaron algunos casos de resistencia de *Peronospora tabacina* y *Peronospora hyoscyami* a la molécula metalaxil en cultivos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en el sur de Texas y Veracruz, México (Wiglesworth *et al.*, 1988; Bruck *et al.*, 1982).

De acuerdo a Rebollar (2011), los fosfitos o fosfonatos están considerados como de bajo riesgo de resistencia; pero, poblaciones resistentes de *Pseudoperonospora humuli* en lúpulo (*Humulus lupulus*) y *Bremia lactucae* en lechuga (*Lactuca sativa*) han sido reportados en EE.UU. Por otro lado el

mefenoxam (Metalaxil-M) y las estrobilurinas (azoxystrobin y pyraclostrobin) son fungicidas de alto riesgo para generar resistencia en hongos y oomicetes, por lo que se deben implementar las estrategias antiresistencia recomendadas por el FRAC (Fungicide Resistance Action Committee).

### **1.8. Información del producto evaluado**

Sphinx Supra WG es un fungicida de acción preventiva desarrollado por BravoAg el cual está compuesto por Dimetomorf (Carboxamida) al 8% + Clorotalonil (Cloronitrilos) al 40%, actúa penetrando al tejido controlando las hifas del hongo, previniendo la formación de esporangios y esporas, además de adherirse a la superficie de la planta inhibiendo la germinación de esporas. Su efectividad se da gracias a la acción translaminar y de contacto, asimismo presenta acción multisitio, derivando en una herramienta anti resistencia. El dimetomorf actúa bloqueando todas las fases en las que interviene la formación de la membrana celular, tales como la germinación de las esporas, la formación del tubo germinativo, la formación de haustorios, el crecimiento de las hifas y la formación de las oosporas. Además, tiene acción translaminar y ha mostrado actividad contra oídios. Se ha observado que no se lava una hora después de la aplicación y también puede ser absorbido por vía radical y moverse a través de la planta con sistema ascendente. En el suelo se degrada más rápidamente en condiciones anaerobias que aerobias; el metabolito final es CO<sub>2</sub>, su vida media de degradación aerobia es de 66 a 117 días, el producto como sus metabolitos no tienden a lixiviarse (ADAMA Argentina, 2014).

**Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa Berkeley*) en el cultivo de rosal (*Rosa spp.*) en Tenancingo, Estado de México.**

El Clorotalonil tiene como ingrediente activo el Ftalonitrilo, aromático policlorados derivado del ácido clorisoftálico con actividad fungicida, de amplio espectro, de aplicación foliar, no sistémico, con limitada capacidad de traslocación local, actividad por contacto y acción preventiva sobre numerosas enfermedades de origen fúngico (ADAMA Argentina, 2014).

## 2. JUSTIFICACIÓN

El efecto detrimental que ocasiona el fenómeno de resistencia a fungicidas sobre el ambiente, la salud pública y la economía de las regiones agrícolas, trasciende el ámbito de las compañías productoras de agroquímicos y se constituye en un problema social con profundos efectos, tanto sobre las poblaciones rurales más vulnerables, como sobre los consumidores concentrados en los centros urbanos. En este escenario se requiere la cooperación de entidades de investigación y organismos de control del estado para diseñar estrategias anti-resistencia, es decir, que prevengan en campo el desarrollo de mecanismos de resistencia hacia los fungicidas. Dichas estrategias deberían basarse en la realización de estudios regionales de eficacia de fungicidas bajo las condiciones propias de cada agroecosistema, la determinación de líneas base de sensibilidad y la ejecución de investigaciones que predigan el riesgo biológico de la aparición de poblaciones de fitopatógenos resistentes a los fungicidas, en especial aquellos susceptibles de generar resistencia cruzada (Damicone, 2004; Koller, 2000).

*Peronospora sparsa Berkeley* es uno de los patógenos más dañinos en cultivos de rosa, en México se encuentra presente en toda el área dedicada a esta ornamental, llegando a causar pérdidas desde el 50% hasta 100% de la producción (García *et al.*, 2011), provocando que eleven sus costos y las producciones sean deficientes, sin embargo en el mercado se encuentran productos que controlan estas enfermedades fungosas, pero el uso excesivo de

**Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú vellosa (*Peronospora sparsa* Berkeley) en el cultivo de rosal (*Rosa* spp.) en Tenancingo, Estado de México.**

las mismas a presionado al uso de nuevos productos que controlen de forma satisfactoria estos problemas fitosanitarios.

Por lo tanto este trabajo de investigación tuvo como finalidad generar información de efectividad biológica del fungicida Sphinx Supra WG® sobre *Peronospora sparsa* en el cultivo de rosa.

### 3. OBJETIVO GENERAL

Conocer la efectividad biológica del fungicida Sphinx Supra WG® para el manejo de *Peronospora sparsa* en el cultivo de rosa bajo invernadero.

#### 3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la efectividad biológica del fungicida Sphinx Supra WG® para el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en rosal (*Rosa spp.*).
- Comparar la efectividad biológica del fungicida Sphinx Supra WG® con los estándares comerciales Cimoxanil + Mancozeb y Propamocarb HCl + Fenamidone.
- Determinar si el fungicida Sphinx Supra WG® presenta fitotoxicidad a las dosis evaluadas en el cultivo de rosa empleando la escala EWRS.

### 4. HIPÓTESIS

Por ser una mezcla nueva de moléculas del fungicida Sphinx Supra WG® se espera que al menos una de las dosis evaluadas mejore o iguale la efectividad biológica con respecto a los testigos comerciales regionales.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Localización del área experimental y descripción del cultivo

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Centro Universitario UAEM Tenancingo localizado en el municipio de Tenancingo, Estado de México y se encuentra entre los 18°57'05" y 19°02'25" de latitud norte, entre los 98°35'45" y 99°38'37" de longitud oeste, y una altitud de 2060 msnm. El experimento se realizó en un cultivo de rosa Bingo White® var. Meilotrie desarrollada por la casa hibridadora Meilland International, las cuales presentan flores compuestas de 48-52 pétalos, con hojas de color verde oscuro, con una productividad de 180 a 200 tallos florales por m<sup>2</sup> al año y una longitud de tallo de 70-80 cm, así como una vida florero de 12 días (Meilland, s/a).

### 5.2. Manejo del cultivo e inducción de brotes

La plantación se encuentra bajo condiciones de invernadero de dos años de plantación a una hilera, con una densidad de 80000 plantas por ha<sup>-1</sup>; cuenta con sistema de riego por goteo de doble cintilla por cama con gotero auto compensado, mediante este sistema se proporcionó semanalmente la fertilización cubriendo las necesidades nutricionales de la planta (Tabla 1) de acuerdo a previo análisis de suelo. Las aplicaciones de fungicidas se suspendieron 25 días antes del experimento y en el mismo lapso de tiempo se indujo a una brotación homogénea, la cual se realizó mediante una poda estipular con lo que se obtuvieron brotes nuevos, ya que para los objetivos de esta investigación se

requerían tallos jóvenes de 15 cm aproximadamente y con un desarrollo de hojas quinqué foliadas debido al comportamiento del patógeno *Peronospora sparsa*.

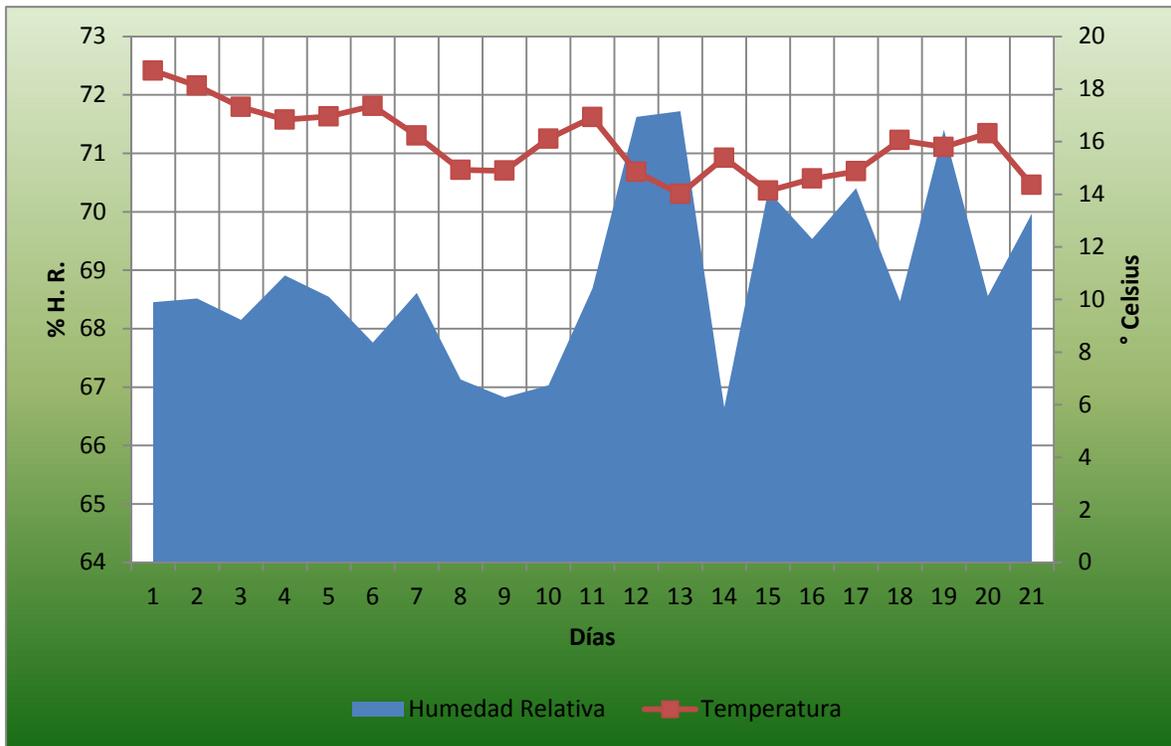
**Tabla 1.**

Formulación semanal correspondiente a la fertirrigación para el invernadero de rosa.

<b>Fertilizantes (Fuente)</b>	<b>Ingrediente Activo</b>	<b>Dosis en 100 L<sup>-1</sup> de agua</b>	<b>Forma de aplicación</b>
Maxigrow®	Extractos de origen orgánico	125 ml	Fertirriego
Nutricel®	Aminoácidos y extractos de origen orgánico	125 ml	Fertirriego
Megafol®	Aminoácidos	200 ml	Fertirriego

### **5.3. Inducción de *P. sparsa* en el cultivo de rosa**

La inducción de *Peronospora sparsa*, se dio mediante el manejo de los factores ambientales dentro del invernadero, propiciando las condiciones óptimas para el desarrollo y colonización del patógeno; para lo cual, durante los cinco días anteriores a la primera aplicación de los tratamientos se realizaron riegos pesados con el sistema de goteo en camas, así mismo se efectuaron riegos rodados en pasillos y nebulizaciones, las ventilas del invernadero fueron cerradas por la noche y abiertas durante el día, con este manejo se logró mantener temperaturas promedio durante el día y noche de 16 °C y la humedad relativa superior al 69% (Figura 1).



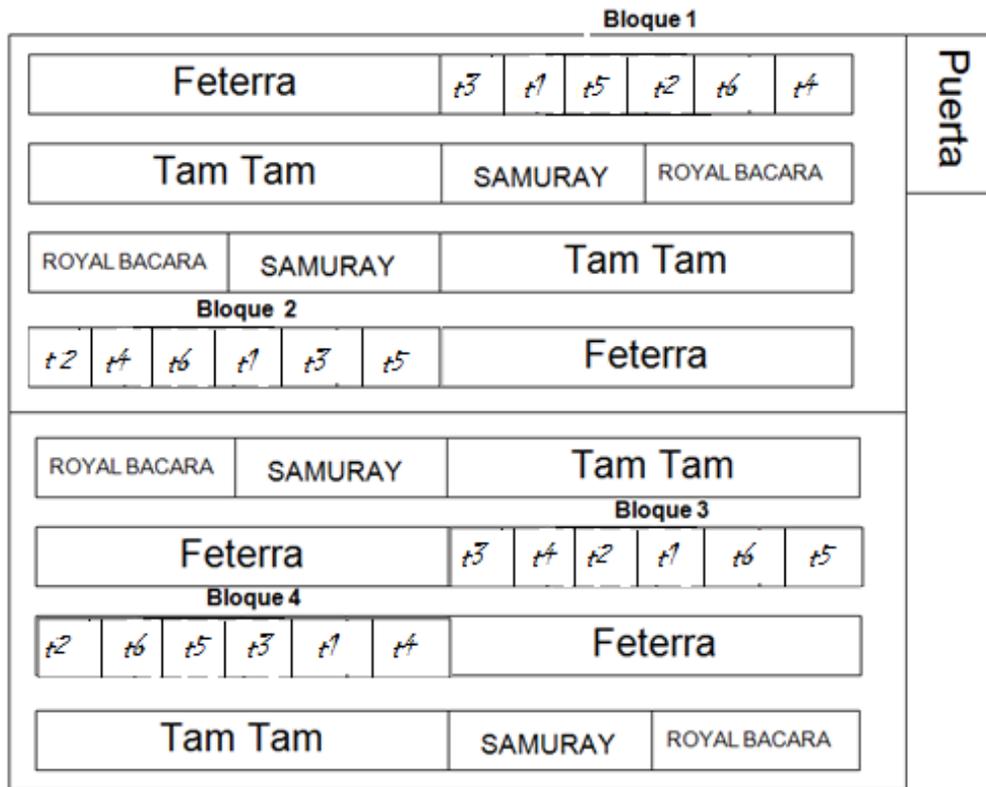
**Figura 1.** Temperatura y humedad relativa promedio diaria en invernadero para generar la manifestación y desarrollo de *P. sparsa*

#### 5.4. Diseño Experimental

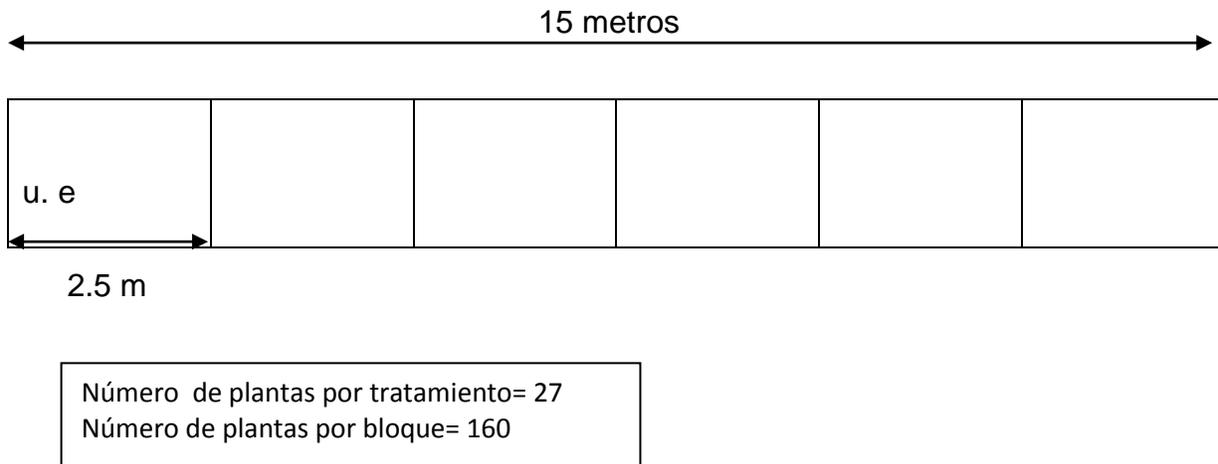
Para este estudio se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, donde se utilizaron 24 unidades experimentales (Figura 2), consistentes en parcelas de 2.5 m de largo x 0.80 m de ancho con una población media de 27 plantas de rosa Bingo White® var. Meilotrie (Figura 3).

Para evitar el traslape de cada tratamiento se colocó un plástico de 2 m de alto x 0.70 m de ancho como barrera física, que limitó los tratamientos dentro de cada unidad experimental.

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa Berkeley*) en el cultivo de rosal (*Rosa spp.*) en Tenancingo, Estado de México.



**Figura 2.** Distribución de bloques y tratamientos en campo dentro del invernadero de experimentación (t = Tratamientos).



**Figura 3.** Esquema dimensional de bloque y unidad experimental (u. e)

## 5.5. Tratamientos evaluados

Los tratamientos estuvieron conformados por tres dosis del fungicida Sphinx Supra WG®, el cual está compuesto por dimetomorf (8%) + clorotalonil (40%); dos fungicidas comerciales a dosis recomendada por el fabricante utilizados en la zona florícola del Estado de México, las cuales se indican en la (Tabla 2) y un testigo absoluto. Los tratamientos fueron los siguientes: T1: Testigo absoluto; T2: Fungicida (Sphinx Supra WG®) a 1 g L<sup>-1</sup>; T3: Fungicida (Sphinx Supra WG®) a 1.5 g L<sup>-1</sup> y T4: Fungicida (Sphinx Supra WG®) a 2 g L<sup>-1</sup>; T5: (Curzate M-8®) a 1 g L<sup>-1</sup>; T6: (Consento®) a 1 g L<sup>-1</sup>.

Para el tratamiento 5 se utilizó un fungicida con actividad sistémica-acropétala y de contacto (Curzate® M-8), compuesto por cimoxanil al 8% + mancozeb al 64%; en el tratamiento 6 se aplicó un fungicida sistémico-translaminar (Consento®), compuesto por fenamidone al 7.5% + propamocarb al 37.5%.

A cada tratamiento excepto T1 se le adicionó un coadyuvante no iónico cuya acción es penetrante, adherente, dispersante, humectante y antiespumante, compuesto por mezcla de agentes tensoactivos no iónicos al 29.9%, dioctil sulfato succinato al 2.3%, diluyentes y acondicionadores al 67.8% (Trionex®) perteneciente a la empresa BravoAg, bajo la dosis recomendada de 1 ml L<sup>-1</sup>.

**Tabla 2.**

Fungicidas evaluados durante la investigación.

Tratamientos	Ingrediente Activo	g de ingrediente activo ha <sup>-1</sup>	Forma de aplicación	Dosis (g ó ml L <sup>-1</sup> de agua)*	Volumen de agua por parcela
1. Testigo absoluto	-	-	-	-	-
2. Sphinx Supra WG®	Dimetomorf + Clorotalonil	480	Foliar	1.0	10 litros
3. Sphinx Supra WG®	Dimetomorf + Clorotalonil	480	Foliar	1.5	10 litros
4. Sphinx Supra WG®	Dimetomorf + Clorotalonil	480	Foliar	2.0	10 litros
5. Curzate® M-8	Cimoxanil + Mancozeb	720	Foliar	1.0	10 litros
6. Consentó®	Propamocarb HCl + Fenamidone	450	Foliar	1.0	10 litros

\* Dosis del producto comercial

### 5.6. Aplicación de los tratamientos

Se realizaron tres aplicaciones de los tratamientos a intervalos de 5 días, las aplicaciones se efectuaron de forma curativa al inicio de la enfermedad; dichas aplicaciones se hicieron con una aspersora motorizada de mochila marca Sanmaru® de 26cc y 1 H.P. con una lanza de fumigación de 2 boquillas de cono hueco, con una previa calibración del equipo a 2000 L ha<sup>-1</sup> por lo tanto correspondió a 10 L<sup>-1</sup> de agua por tratamiento. Se midió el pH del agua utilizada registrándose de 7.2, posteriormente se agregó el coadyuvante (Trionex®) dando como resultado un pH de 7.3; al agregar y mezclar el fungicida Sphinx Supra WG® en los tratamientos T2, T3 y T4 el pH quedó en 5.6, para el caso de T5 tuvo

un pH de 5.4 y T6 quedó con un pH de 5.0. Las aplicaciones se realizaron por la tarde después de las 16:00 horas, cubriendo totalmente las plantas desde la base de los tallos hasta alcanzar los brotes del estrato superior por ambos lados de la cama, el equipo de aplicación fue lavado antes de cambiar de tratamiento con la finalidad de eliminar los residuos del tratamiento anterior.

## **5.7. Parámetros evaluados**

La efectividad biológica del producto fue evaluada mediante las variables incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Peronospora sparsa* en plantas de Rosa.

### **5.7.1. Severidad**

De cada tratamiento se evaluaron 10 tallos al azar de las plantas ubicadas al centro de cada unidad experimental, todo ello para evitar sesgos; los tallos elegidos fueron brotes nuevos de aproximadamente 15 cm de longitud, ubicados en el estrato alto de la planta. Antes de iniciar los tratamientos se efectuó una pre evaluación para conocer el nivel de enfermedad presente, posteriormente, se realizaron evaluaciones antes de cada aplicación; finalmente, se hicieron evaluaciones a los 5 y 10 días después de la última aplicación. Se utilizó la escala arbitraria de clases indicada en la Tabla 3, acompañada por una representación pictórica (Tabla 4) propuesta por Chavarro (2012). La escala cuenta con 7 clases incluyendo el 0, donde 0 indica que no está presente la enfermedad (libre de síntomas) y 6 que los síntomas y/o daño en la hoja es mayor al 66% o defoliación.

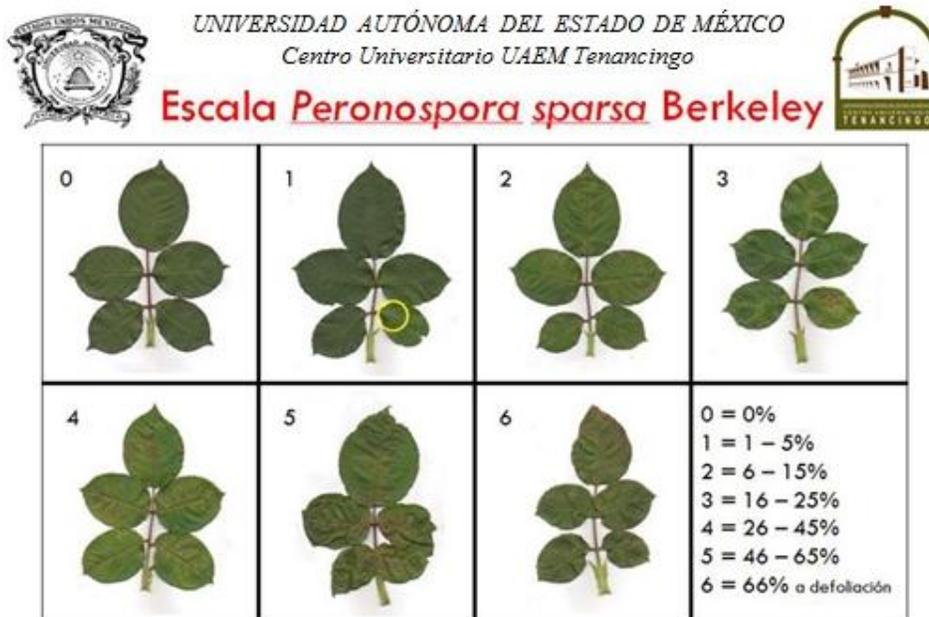
**Tabla 3.**

Escala arbitraria para determinar el porcentaje de infección causado por el mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en rosal.

CLASE	NIVEL DE DAÑO
0	0% de daño
1	De 1 hasta 5% de daño
2	De 6 hasta 15% de daño
3	De 16 hasta 25% de daño
4	De 26 hasta 45% de daño
5	De 46% hasta 65 de daño
6	De 66% hasta 75 de daño

**Tabla 4.**

Escala diagramática logarítmica de *P. sparsa* en rosa Bingo White Var. Meilotrie



Tomado de Chavarro (2012).

### 5.7.2. Incidencia

La incidencia de la enfermedad fue evaluada en el mismo intervalo de tiempo que la severidad. Para el caso de la incidencia se obtuvo mediante visualización de plantas enfermas entre el total de plantas por tratamiento; las cuales debían presentar síntomas claros de la enfermedad como manchas irregulares en el haz de color rojizo púrpura a pardo-oscuro rodeadas por un halo clorótico y sobre el envés micelio de color marrón claro dando la apariencia vellosa característica de la enfermedad (Alfieri, 1968; Arbeláez, 1999; Ayala-Vásquez *et al.*, 2008; Chavarro, 2012). Los datos fueron tabulados en una hoja de cálculo de Excel para su análisis posterior.

### 5.7.3. Fitotoxicidad

La posible fitotoxicidad hacia el cultivo de rosa se hizo de manera visual en cada uno de los tratamientos mediante la escala propuesta por la European Weed Research Society (Tabla 5). Tomando como referencia el testigo absoluto (sin aplicación) y poniendo atención para detectar síntomas de clorosis, necrosis, deformación, entre otras. La evaluación se llevó a cabo en las mismas fechas que la incidencia y severidad.

**Tabla 5.**

Escala porcentual propuesta por la European Weed Research Society, para evaluar fitotoxicidad en el cultivo.

<b>EFFECTOS SOBRE CULTIVO</b>	<b>(%) DE FITOTOXICIDAD</b>
Sin efecto	0.0 - 1.0
Síntomas muy ligeros	1.1 - 3.5
Síntomas ligeros	3.6 - 7.0
Síntomas que no se reflejan en el rendimiento	7.1 - 12.5**
Daño medio	12.6 - 20.0
Daños elevados	20.1 - 30.0
Daños muy elevados	30.1 - 50.0
Daños severos	50.1 - 99.0
Muerte completa	99.1 - 100

Transformación de la escala porcentual logarítmica de la EWRS a escala porcentual.

\*\* Limite de aceptabilidad.

### **5.8. Análisis de datos**

Para el caso de incidencia fue el número de plantas enfermas entre el total de plantas en la unidad experimental por 100 para obtener un porcentaje, posteriormente se calculó una media entre tratamientos para llegar al porcentaje total. La severidad de la enfermedad causada por el mildiú veloso en el cultivo de rosal fue transformado a porcentaje de infección mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943). Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y

prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), mediante el paquete de análisis estadístico Infostat (2013), y se calculó la efectividad biológica de los tratamientos mediante la prueba de eficacia de Abbott (1923).

$$PI = \frac{\sum_{i=1}^{k-1} (n_i \cdot V_i)}{Categoría\ mayor \cdot N} (100) \dots\dots\dots (Townsend y Heuberger)$$

Dónde:

PI= Porcentaje de Infección

n= número de hojas en cada categoría

V= valor numérico de cada categoría

N= número total de hojas en la muestra

Fórmula de Abbott para calcular la efectividad de los productos:

$$ET = \frac{ST - st}{ST} (100)$$

Dónde:

ET= Eficacia del tratamiento

ST= Porcentaje de severidad

st= Porcentaje de severidad en cada tratamiento

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Pre evaluación

Previo al inicio del programa de aplicaciones de los tratamientos, se realizó una pre evaluación. Los datos indicaron que el mildiú veloso (*Peronospora sparsa*), se encontraba presente manifestándose en una severidad inicial del 4 al 5%, distribuida de manera homogénea en las parcelas donde se aplicaron los tratamientos (Tabla 6).

**Tabla 6.**

Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en pre evaluación.

TRATAMIENTOS	SEVERIDAD	SIGNIFICANCIA	% DE EFECTIVIDAD (ABBOTT)
1. Testigo absoluto	4.17	A	
2. Sphinx Supra WG® 1.0 g L <sup>-1</sup>	4.17	A	
3. Sphinx Supra WG® 1.5 g L <sup>-1</sup>	4.17	A	
4. Sphinx Supra WG® 2.0 g L <sup>-1</sup>	5	A	
5. Curzate® M-8 1.0 g L <sup>-1</sup>	4.17	A	
6. Consentó® 1.0 g L <sup>-1</sup>	4.17	A	

## 6.2. Primera evaluación

La primera evaluación se realizó cinco días después de la primera aplicación. Al someter los datos del porcentaje de severidad a un análisis de varianza, los resultados indicaron diferencia significativa entre los tratamientos evaluados,  $P > F = (0.0001)$ , por lo que se realizó una prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para la separación de medias, al realizar la prueba de Abbott los resultados indicaron que el fungicida Sphinx Supra WG® a dosis de  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  mostró una efectividad de 63.91% seguido de las dosis de  $1.0 \text{ g L}^{-1}$  con 59.40% y  $2.0 \text{ g L}^{-1}$  con 58.64% de efectividad, mientras con los fungicidas utilizados como testigo comercial se obtuvo un control del 29.32% para Curzate® M-8 y un 50.38% para Consentó® (Tabla 7).

**Tabla 7.**

Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en la primera evaluación.

TRATAMIENTOS	SEVERIDAD	SIGNIFICANCIA	% DE EFECTIVIDAD (ABBOTT)
1. Testigo absoluto	55.42	C	
2. Sphinx Supra WG® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	22.50	A	59.40
3. Sphinx Supra WG® $1.5 \text{ g L}^{-1}$	20.00	A	63.91
4. Sphinx Supra WG® $2.0 \text{ g L}^{-1}$	22.92	A	58.64
5. Curzate® M-8 $1.0 \text{ g L}^{-1}$	39.17	B	29.32
6. Consentó® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	27.50	A	50.38

### 6.3. Segunda evaluación

El análisis de varianza realizado a los datos obtenidos en la segunda evaluación indicó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados  $Pr > F = (0.0001)$ . Se realizó la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para separación de medias, al realizar la prueba de Abbott los resultados indicaron que se tuvo una efectividad de 46.07% con el fungicida Sphinx Supra WG a las dosis de  $2.0 \text{ g L}^{-1}$ , seguido de la dosis de  $1.0 \text{ g L}^{-1}$  con 49.09%, mientras que en la dosis de  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  se obtuvo un control del 60%. En los testigos comerciales se obtuvo una efectividad del 28.48% para Curzate M-8 y 50.91% para el fungicida Consentó (Tabla 8).

**Tabla 8.**

Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en la segunda evaluación.

TRATAMIENTOS	SEVERIDAD	SIGNIFICANCIA	% DE EFECTIVIDAD (ABBOTT)
1. Testigo absoluto	68.75	C	
2. Sphinx Supra WG® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	35.00	A	49.09
3. Sphinx Supra WG® $1.5 \text{ g L}^{-1}$	27.50	A	60.00
4. Sphinx Supra WG® $2.0 \text{ g L}^{-1}$	37.08	A	46.07
5. Curzate® M-8 $1.0 \text{ g L}^{-1}$	49.17	B	28.48
6. Consentó® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	33.75	A	50.91

#### 6.4. Tercera evaluación

En la tercera evaluación realizada a los 5 días después de la última aplicación, el análisis de varianza indicó la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos evaluados,  $Pr > F = (0.0001)$ . Se realizó la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para separación de medias, al realizar la prueba de Abbott los resultados indicaron que se tuvo una efectividad de 47.24% con el fungicida Sphinx Supra WG® a las dosis de  $2.0 \text{ g L}^{-1}$ , seguido de la dosis de  $1.0 \text{ g L}^{-1}$  con 52.27% de control, mientras que en la dosis de  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  se obtuvo 64.82% de efectividad. Para los testigos comerciales se obtuvo una efectividad del 32.67% en Curzate® M-8 y 51.76% para el fungicida Consentó® (Tabla 9).

**Tabla 9.**

Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en la tercera evaluación.

TRATAMIENTOS	SEVERIDAD	SIGNIFICANCIA	% DE EFECTIVIDAD (ABBOTT)
1. Testigo absoluto	82.92	D	
2. Sphinx Supra WG® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	39.58	B	52.27
3. Sphinx Supra WG® $1.5 \text{ g L}^{-1}$	29.17	A	64.82
4. Sphinx Supra WG® $2.0 \text{ g L}^{-1}$	43.75	B	47.24
5. Curzate® M-8 $1.0 \text{ g L}^{-1}$	55.83	C	32.67
6. Consentó® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	40.00	B	51.76

## 6.5. Cuarta evaluación

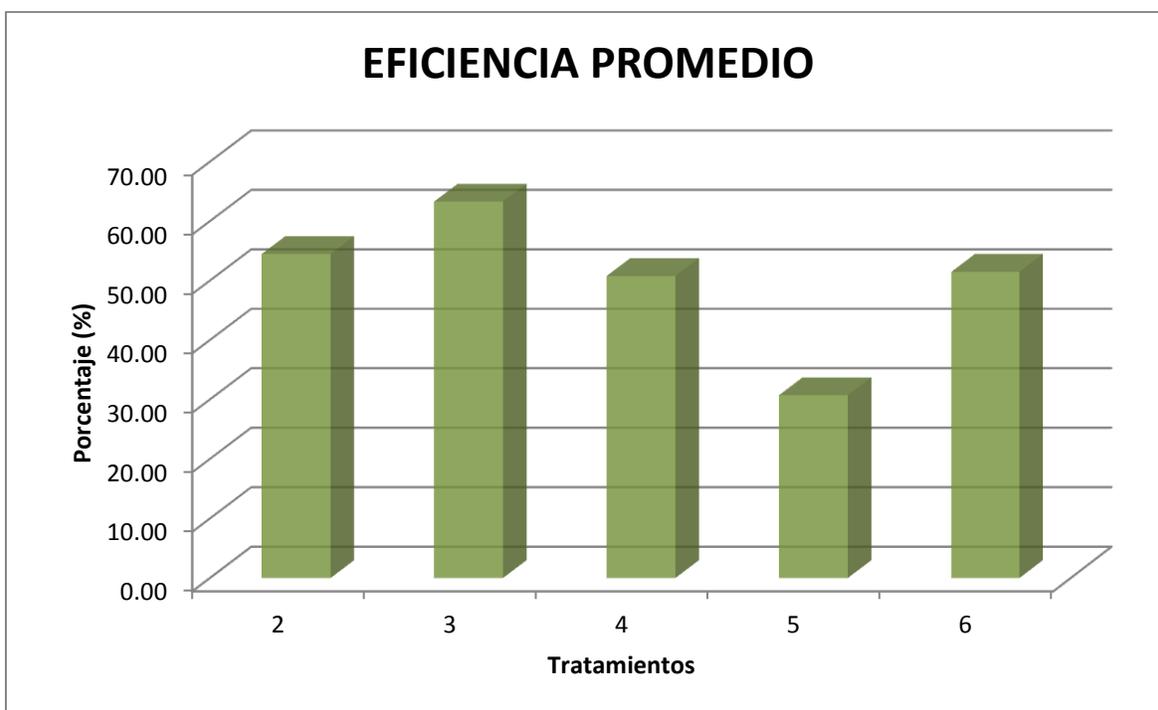
Los resultados del análisis de varianza realizado a los datos obtenidos en la cuarta evaluación 10 días después de la última aplicación, indicaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados,  $Pr > F = (0.0001)$ . La comparación de medias con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) fue realizada y al correr la prueba de Abbott los resultados indicaron que en los tratamientos en donde se aplicó el fungicida Sphinx Supra WG® se mantuvo un nivel de control (efectividad) del 57.08% en la dosis de  $1.0 \text{ g L}^{-1}$ , 67.38% en  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  y 51.07% de efectividad en la dosis de  $2.0 \text{ g L}^{-1}$  en relación al testigo absoluto, mientras que en los testigos comerciales se obtuvo un control del 34.33% para Curzate® M-8 y 52.79% para el fungicida Consentó® (Tabla 10).

**Tabla 10.**

Comparación de medias del porcentaje de severidad de mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en la cuarta evaluación.

TRATAMIENTOS	SEVERIDAD	SIGNIFICANCIA	% DE EFECTIVIDAD (ABBOTT)
1. Testigo absoluto	97.08	D	
2. Sphinx Supra WG® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	41.67	B	57.08
3. Sphinx Supra WG® $1.5 \text{ g L}^{-1}$	31.67	A	67.38
4. Sphinx Supra WG® $2.0 \text{ g L}^{-1}$	47.50	B	51.07
5. Curzate® M-8 $1.0 \text{ g L}^{-1}$	63.75	C	34.33
6. Consentó® $1.0 \text{ g L}^{-1}$	45.83	B	52.79

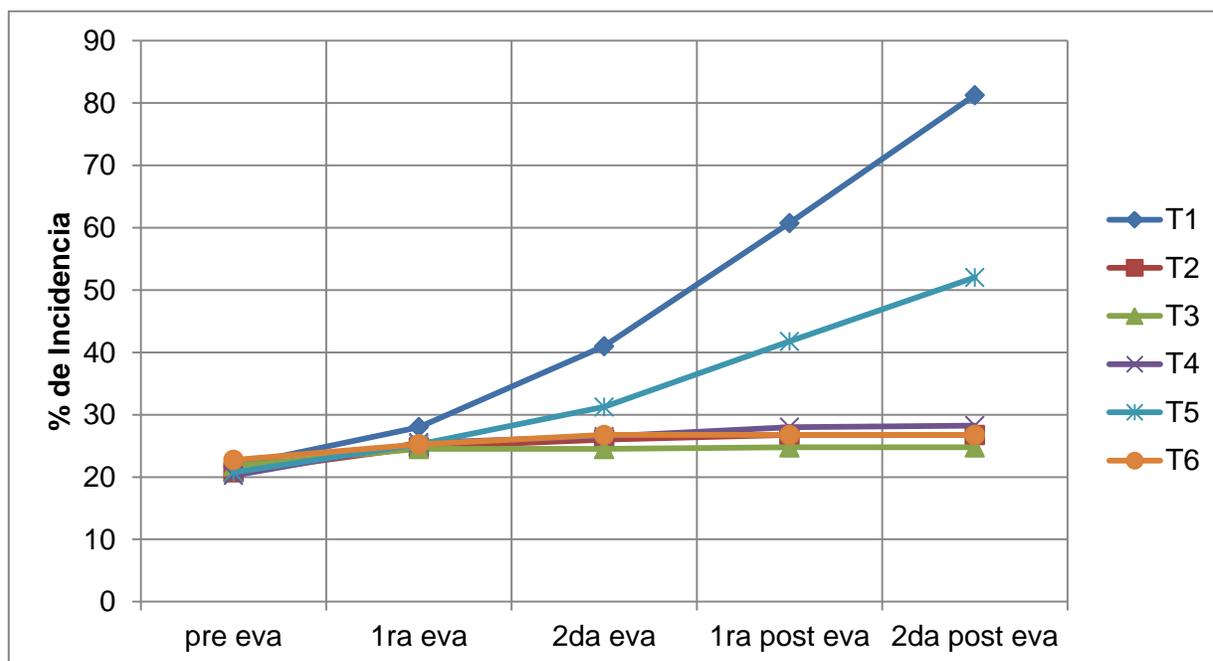
De manera gráfica se muestra la efectividad biológica promedio de cada uno de los tratamientos, en donde se observa que el fungicida Sphinx Supra WG® mostró su mayor efectividad a la dosis intermedia, de esta manera los resultados indican que la dosis de mayor control para *Peronospora sparsa* fue de 1.5 g L<sup>-1</sup> manteniendo un nivel de control promedio del 63.27% durante el periodo de evaluación, es evidente también que a esta dosis es superior su control que los fungicidas Curzate® M-8 y Consentó® (Figura 4).



**Figura 4.** Promedio de efectividad biológica de los tratamientos para el control de *Peronospora sparsa*. T1= Testigo absoluto; T2= Sphinx Supra WG® 1 g L<sup>-1</sup>; T3= Sphinx Supra WG® 1.5 g L<sup>-1</sup>; T4= Sphinx Supra WG® 2 g L<sup>-1</sup>; T5= Curzate® M-8 1 g L<sup>-1</sup>; T6= Consentó® 1 g L<sup>-1</sup>

## 6.6. Incidencia de *Peronospora sparsa*

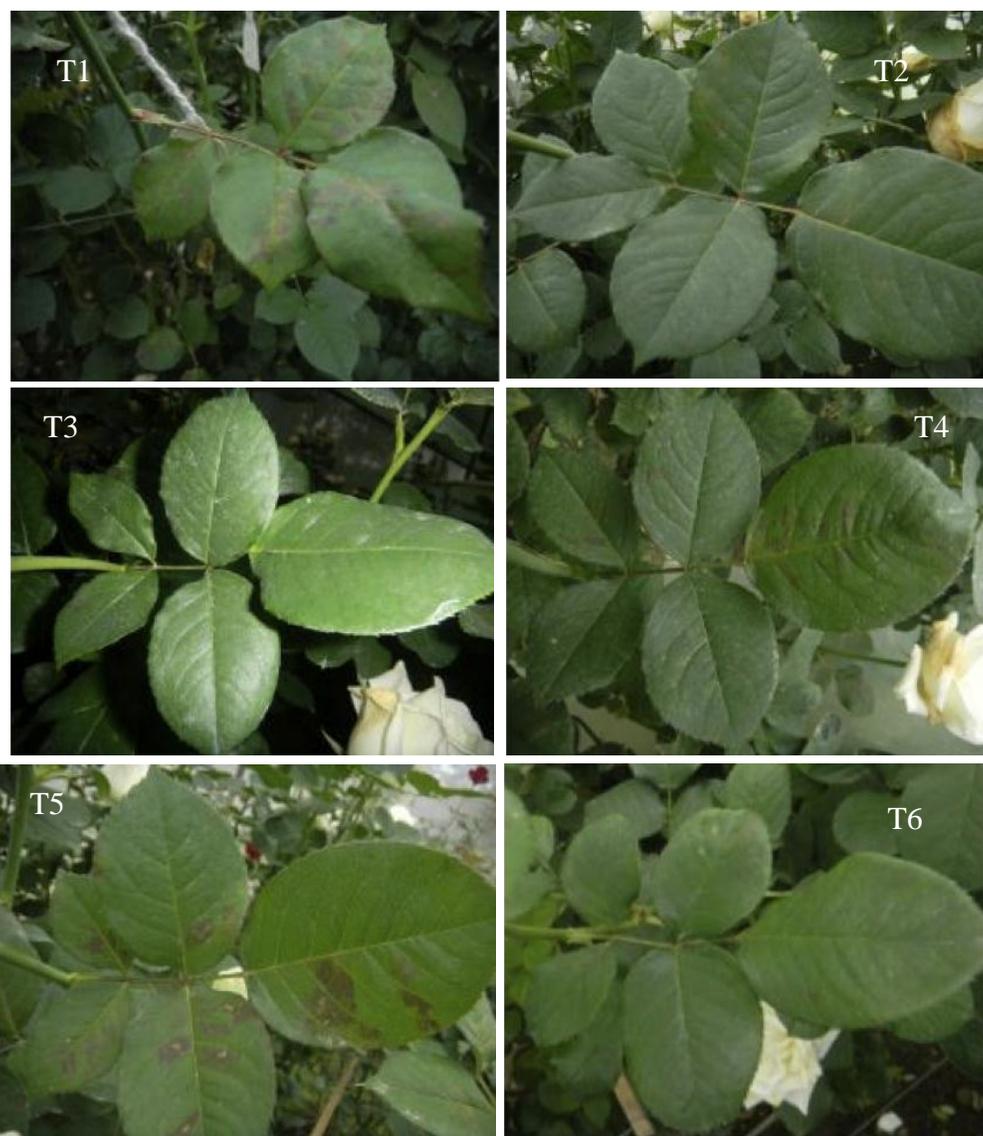
En cuanto a la incidencia de *P. sparsa* se registró su presencia entre un 20 y 23% al inicio de los tratamientos, en relación al total de plantas evaluadas; sin embargo, se puede observar que en el testigo absoluto la incidencia incrementó de manera constante, hasta alcanzar un promedio de 81.25% en relación con los demás tratamientos, en tanto, los tratamientos que recibieron sus respectivas aplicaciones, se mantuvieron con una incidencia baja constante hasta el final de las evaluaciones, aunque el T5 presentó un incremento a partir de la primera evaluación registrando un valor final de 52% (Figura 5).



**Figura 5.** Incidencia de *Peronospora sparsa* en cultivo de rosa durante el periodo de evaluación del fungicida Sphinx Supra WG®. T1= Testigo absoluto; T2= Sphinx Supra WG® 1 g L<sup>-1</sup>; T3= Sphinx Supra WG® 1.5 g L<sup>-1</sup>; T4= Sphinx Supra WG® 2 g L<sup>-1</sup>; T5= Curzate® M-8 1 g L<sup>-1</sup>; T6= Consentó® 1 g L<sup>-1</sup>

### 6.7. Fitotoxicidad del producto Sphinx Supra WG®

En cada una de las evaluaciones de la eficacia, se evaluó el efecto fitotóxico de Sphinx Supra WG® sobre el cultivo de rosa Bingo White® var. Meilotrie, encontrándose que no hubo ningún efecto fitotóxico en el cultivo.

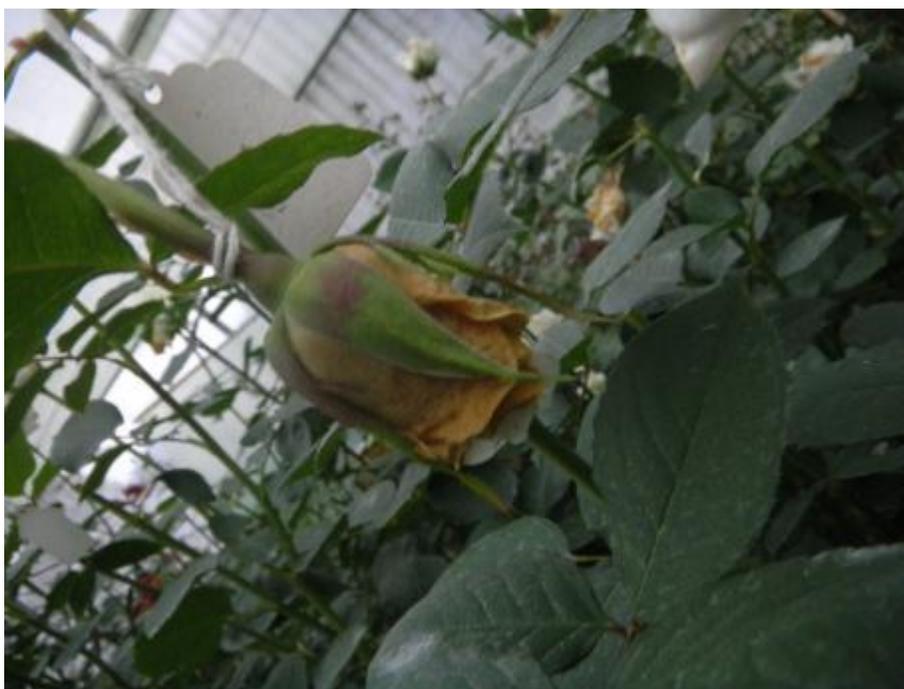


**Figura 6.** *Peronospora sparsa* en rosa Bingo White® var. Meilotrie en los tratamientos durante la última evaluación. T1= Testigo absoluto; T2= Sphinx Supra WG® 1 g L<sup>-1</sup> ; T3= Sphinx Supra WG® 1.5 g L<sup>-1</sup> ; T4= Sphinx Supra WG® 2 g L<sup>-1</sup> ; T5= Curzate® M-8 1 g L<sup>-1</sup> ; T6= Consentó® 1 g L<sup>-1</sup>

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú vellosito (*Peronospora sparsa* Berkeley) en el cultivo de rosal (*Rosa* spp.) en Tenancingo, Estado de México.

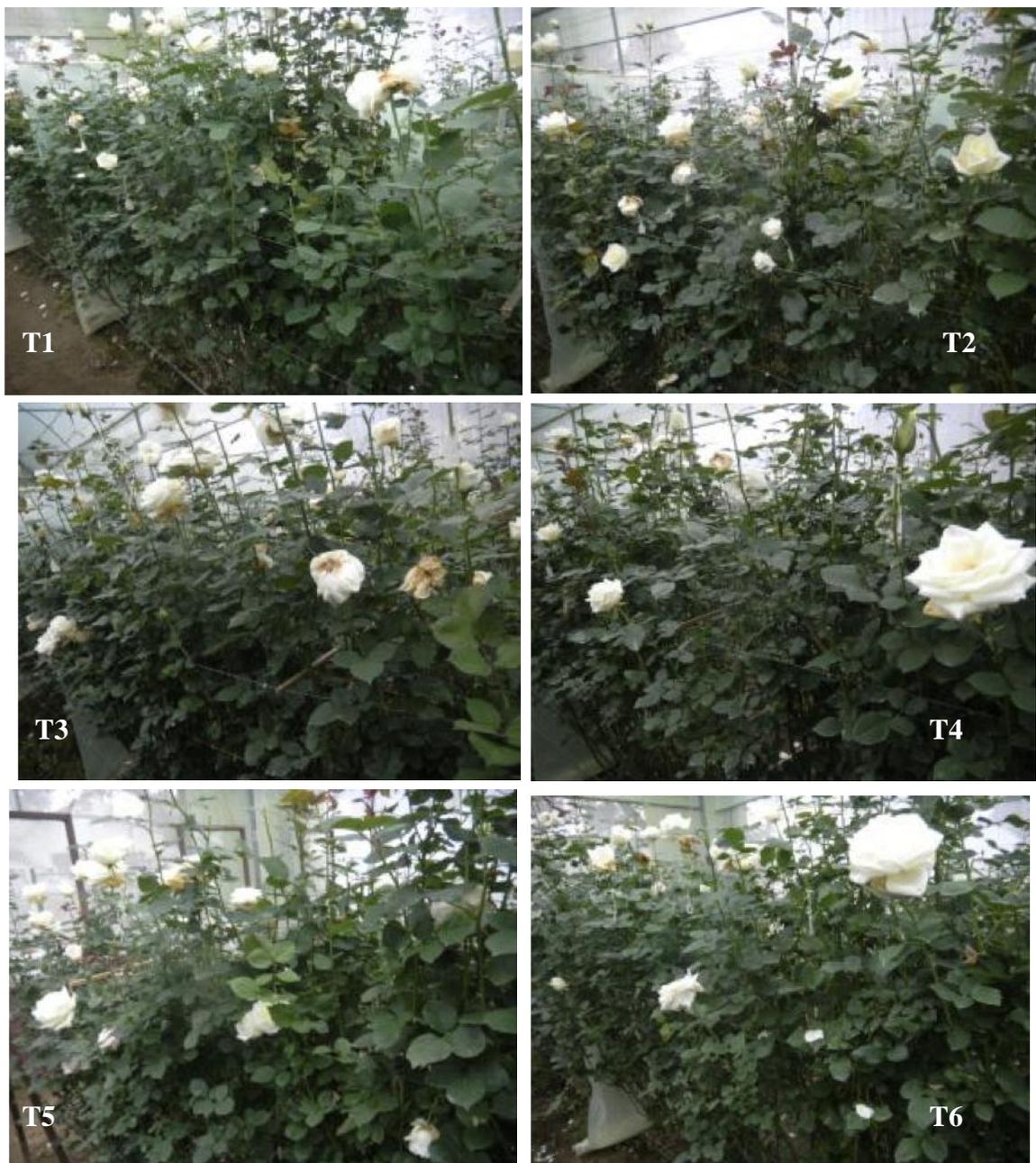


**Figura 7.** Residuos del fungicida Sphinx Supra WG® sobre el haz de una hoja verdadera (T4).



**Figura 8.** Síntoma y daño por *Peronospora sparsa* en botón floral (T1)

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú vellosa (*Peronospora sparsa* Berkeley) en el cultivo de rosa (*Rosa* spp.) en Tenancingo, Estado de México.



**Figura 9.** Aspecto general del avance de la enfermedad en el cultivo de rosa, al final de la evaluación. T1= Testigo absoluto; T2= Sphinx Supra WG® 1 g L<sup>-1</sup>; T3= Sphinx Supra WG® 1.5 g L<sup>-1</sup>; T4= Sphinx Supra WG® 2 g L<sup>-1</sup>; T5= Curzate® M-8 1 g L<sup>-1</sup>; T6= Consentó® 1 g L<sup>-1</sup>.

## 7. DISCUSIÓN

El mildiú veloso causado por *Peronospora sparsa* es una de las enfermedades más devastadoras y limitantes del cultivo de rosa en la zona sur del Estado de México, como lo menciona García y colaboradores (2011) al señalar que las pérdidas van desde 50% hasta el 100% de la producción, esto queda confirmado en el presente trabajo ya que en el testigo absoluto se tuvo una incidencia del 81.25% con una severidad del 97.08% al no realizarse algún tipo de control. De igual forma Suarez (1999), reporta que en Colombia el mildiú veloso representa una pérdida del 10% sobre la producción neta anual del cultivo. De acuerdo a Aegerter y colaboradores (2003), la enfermedad se desarrolla con una temperatura óptima para la colonización entre los 20-25 °C, así como una humedad relativa cercana al 85% precedida por una lámina de agua sobre el haz de las hojas. Sin embargo, la temperatura promedio registrada durante el experimento fue de 16 °C mientras que la humedad relativa fue un valor cercano al 70%, lo que implica teóricamente que este patógeno no podría desarrollarse, ocurriendo lo contrario, el mildiú veloso colonizó y se desarrolló hasta causar defoliación parcial (Figura 9) e incluso daños en botón floral (Figura 8) del testigo absoluto, esto significa que *p. sparsa* se establece en un mayor rango de las condiciones requeridas mencionadas en la literatura. Soto y Filgueira (2009), señalan que además de la temperatura y humedad relativa, otros factores a tomar en cuenta es el fotoperiodo y las condiciones lumínicas para la germinación y esporulación del patógeno, viéndose favorecidas con un valor igual o mayor a 560 lux durante un periodo de 12 horas, no obstante se presentan mayor cantidad de

esporangios con valores cercanos a 790 lux durante el mismo fotoperiodo, hecho que se asume, ocurrió durante el desarrollo de la enfermedad, ya que se obtuvo una media de 830 lux dentro del área experimental, lo que se pudiera asumir fue el factor que detono la enfermedad ya que a mayor producción de esporangios mayor inóculo del patógeno.

El manejo de este patógeno en la región florícola sur del Estado de México, se basa principalmente en la aplicación de fungicidas, por lo tanto es indispensable conocer la efectividad de los productos en campo. En el presente estudio se demostró que el fungicida Sphinx Supra WG®, al aplicarse cada 5 días por lo menos tres aplicaciones consecutivas, tuvo una efectividad biológica superior a los testigos comerciales utilizados y descritos para combatir dicha enfermedad, además de las conveniencias de la formulación al tener una actividad multisitios de sus ingredientes activos (dimetomorf + clorotalonil), con lo que se reduce el riesgo de que el patógeno desarrolle resistencia.

De acuerdo a Argel y colaboradores (2007), reportan aislamientos de *Sclerotium cepivorum* en los cultivos de ajo (*Allium sativum*) y cebolla (*Allium cepa*) con un alto grado de sensibilidad al fenamidone, el cual tuvo efecto antiesporulante con un valor cercano al 100% de eficacia, además señalan que no se han presentado casos de resistencia como los reportados para el manejo de *P. sparsa* con metalaxil y las estrobilurinas (Rebollar, 2011).

Quiroga y Arbeláez (2004), sugieren aplicaciones de alto volumen del ingrediente activo Fosetil-AI para reducir la incidencia y severidad de *P. sparsa* en el cultivo de

rosa, coincidiendo con O'Neill y colaboradores (2002), quien señalan que además de Fosetil-Al, las aplicaciones de Cimoxanil+Mancozeb+Oxadixil y Fluazinam proporcionan un buen control de la enfermedad. Sin embargo, el fungicida Curzate® M-8, pese a contar con dos ingredientes activos (Cimoxanil+Mancozeb) presentó la menor eficiencia biológica de los tratamientos evaluados en este estudio, a pesar de ser un producto sistémico y de contacto, lo que pudiera inferirse de un posible desarrollo de resistencia del patógeno.

Sin embargo, es conveniente mencionar que dado las tendencias actuales sobre la producción sustentable, es de suma importancia hacer uso de tácticas de control alternativas al químico, como es el uso de productos biológicos como el señalado por Stefanova y colaboradores (2007), quienes reportan un 50% de efectividad al aplicar *Pseudomonas aeruginosa Migula*, cepa PSS (Gluticid®) para el control del moho azul del tabaco (*Peronospora tabacina*).

Otra alternativa para el manejo de *P. sparsa*, es el uso de fertilizantes, como lo menciona Chavarro (2012), donde señala que el producto FosfiMAX® 40-20 tiene efectos importantes en la reducción de la incidencia y severidad del mildiú veloso en rosa, a pesar de ser un producto registrado como fertilizante tiene un efecto fungistático logrando una efectividad biológica de 93.43% en comparación con el testigo absoluto; así mismo, Castillo y colaboradores (2010), coinciden en que existe una disminución de la enfermedad al incorporar de 100-200 ppm de si en la solución nutritiva, aunque López (2013), señala que el mildiú veloso en rosal no se ve afectado por la incorporación de silicio, tampoco mejora el rendimiento y

longitud de tallos. Por otra parte se reporta que al incorporar a la solución nutritiva estándar propuesta por Cabrera (2009) 150% de N, Mn y K aumenta la severidad e incidencia en variedades susceptibles tal es el caso de la var. Charlotte, por otro lado la enfermedad se reduce al incorporar K en un 150% en las variedades Classy y Malibú; por lo tanto, lo recomendable es evaluar individualmente cada variedad, no solo respecto a la fertilizaciones sino a la susceptibilidad a patógenos (Castillo *et al.*, 2010).

Este estudio indica que fueron suficientes tres aplicaciones del fungicida Sphinx Supra WG® para evitar el desarrollo del patógeno en las plantas de rosa Bingo White® var. Meilotrie ya que al momento de las aplicaciones, la incidencia estaba entre 20-23% por lo tanto funcionó como un tratamiento curativo, ya que en las tres dosis del producto no supero el 30% de incidencia en comparación con el testigo absoluto.

La aplicación del fungicida Sphinx Supra WG® permitió mantener un nivel de incidencia y severidad menor al testigo absoluto y al fungicida Curzate® M-8 después de la última aplicación, lo cual refleja un efecto de protección prolongada en la planta, esto puede deberse a que la molécula Dimetomorf + Clorotalonil tiene una gran movilidad acropétala y basipétala en la planta permitiendo proteger brotes nuevos, incluso tiempo después de las aplicaciones (Figura 6).

El tratamiento del fungicida Sphinx Supra WG® en la dosis alta ( $2 \text{ ml L}^{-1}$ ) presentó un ligero manchado en el follaje, tratándose de una residualidad del producto (Figura 7).

## 8. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye que el fungicida Sphinx Supra WG® tiene un buen control sobre el mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en el cultivo de rosa, superior a los testigos comerciales Curzate® M-8 y Consentó®.

La dosis de 1.5 g L<sup>-1</sup> del fungicida Sphinx Supra WG® mostró una efectividad biológica promedio del 67.37% durante todo el periodo de evaluación, por lo que se recomienda utilizar esta dosis aun cuando la enfermedad este presente.

Las dosis de 1.0 g L<sup>-1</sup> del fungicida Sphinx Supra WG® mantuvo una aceptable efectividad biológica sobre *Peronospora sparsa* del 57.08% a pesar de tratarse de la dosis con menor concentración.

Por el contrario la dosis de 2.0 g L<sup>-1</sup> del fungicida Sphinx Supra WG® mostró tener una baja efectividad biológica contra el patógeno ya que solo alcanzó 50.75% por lo que no se recomienda aplicar esta dosis.

El cultivo evaluado en este trabajo no presentó síntomas de fitotoxicidad a las dosis del fungicida Sphinx Supra WG®, por lo que se recomienda su aplicación.

El producto Sphinx Supra WG® a la dosis más alta evaluada de 2.0 g L<sup>-1</sup> dejó un ligero manchado del follaje.

## LITERATURA CITADA

- 2000Agro. 2010. Valor de la producción florícola supera los 5 mil mdp. Revista Industrial del Campo. Disponible en línea. <http://www.2000agro.com.mx/floricultura/valor-de-la-produccion-floricola-supera-los-5-mil-mdp/> (revisado el 10 de septiembre de 2013).
- Abbott, W. S. 1923. A method of computing the effectiveness of and insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Achar, P. N. 1997. First Report of Downy Mildew Disease of Rose Caused by *Peronospora sparsa* in KwaZulu Natal, Southern Africa. *The American Phytopathological Society*. 81(6): 695.
- ADAMA Argentina, 2014. Sphinx Supra. Disponible en línea. <http://www.magan.com.ar/productos.asp?p=97> (revisado el 18 de febrero de 2014).
- Aegerter, B. J., Nuñez, J. J. and Davis, R. M. 2002. Detection and Management of Downy Mildew in Rose Rootstock. *Plant Diseases* 86(12): 1363-1368.
- Aegerter, B. J., Nuñez, J. J. and Davis, R. M. 2003. Environmental Factors Affecting Rose Downy Mildew and Development of a Forecasting Model for a Nursery Production. *System. Plant Diseases* 87(6): 732-738.
- Alfieri, S. A. 1968. Downy mildew of rose caused by *Peronospora sparsa* Berk. *Plant Pathology Circular No. 66*. Department of Agriculture. Florida, USA.
- Arbeláez, G. 1999. El mildiú veloso del rosal ocasionado por *Peronospora sparsa* Berkeley. *Acopaflor* (6): 37-39.

- Arbeláez, G. y Gómez, S. 2005. Caracterización de la respuesta de tres variedades de rosa a la infección de *Peronospora sparsa* Berkeley. Bajo condiciones de invernadero. *Agronomía Colombiana* 23(2): 246-255.
- Argel, L. E., Marín M., Cotes, J. M., Jaramillo, S. y Guzmán, E. 2007. Evaluación molecular y fenotípica de la sensibilidad al fungicida Fenamidone en aislamientos de *Peronospora sparsa*. *Agronomía Colombiana* 25(1): 149-159.
- Ayala-Vásquez, M., Argel, L., Jaramillo, S. y Marín, M. 2008. Diversidad genética de *Peronospora sparsa* (Peronosporaceae) en cultivos de rosa de Colombia. *Acta Biol. Colomb.* (13): 79-94.
- Bruck, R. I., Gooding, G. V., Jr. and Main, C. E. 1982. Evidence for resistance to metalaxyl in isolates of *Peronospora hyoscyami*. *Plant Disease* (66): 44-45.
- Castaño-Zapata, J. 2002. Principios básicos de Fitoepidemiología. Centro Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, Colombia. 396p.
- Cabrera, R. I., Solís-Pérez A. R. and Sloan J. J. 2009. Greenhouse rose yield and ion accumulation responses to salt stress as modulated by rootstock selection. *HortScience* 44 (7): 2000-2008.
- Castillo, C. F., Álvarez, E., Gómez, E., Llano, G. A., y Castaño-Zapata, J. 2010. Mejoramiento nutricional de la rosa para el manejo de *Peronospora sparsa* Berkeley, causante del mildiú veloso. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 34 (131): 137-142.

- Chavarro, E. A. 2012. Uso del fosfito de potasio “FosfiMAX 40-20” para el manejo de *Peronospora sparsa* en rosa Var. Bingo White en invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México, Tenancingo, Estado de México, México. 53 p.
- Cooke, D. E., Dreth, A., Duncan, J. M., Wagels, G. and Brasier, C. M. 2000. A Molecular Phylogeny of Phytophthora and Related Oomycetes. Fungal Genet Biol. (30): 17-32.
- Damicone, J. 2004. Fungicide Resistance Management. Oklahoma State University. 7 p. Disponible en línea. <http://pearl.agcomm.okstate.edu/plantdiseases/f-7663.html>. (revisado el 4 febrero de 2014).
- Dick, M. W. 1995. Sexual reproduction in the Peronosporomycetes (chromistan fungi). Can. J. Bot. 73(1): 712–724.
- Gallegos, P., Merino, R., Orellana, H., Proaño, G., Suquilanda, M., Velastegui, R. y Zurita, G. 1999. Manual técnico de fitosanidad en floricultura. Quito. Ecuador. 150 p.
- García, V. R., González, D. J. G., Mora, H. M. E., Castañeda, D. T., 2011. Incidencia y severidad de peronospora sparsa en cinco variedades de rosa. Resumen del XIII Congreso Internacional/ XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Tlaxcala, Mexico.
- Gisi, U. and Sierotzki, H. 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. Europe Journal Plant Pathol. (122): 157–167.

- Göker, M., Voglmayr, H., Riethmüller, A., Weib, M. and Oberwinkler, F. 2003. Taxonomic Aspects of Peronosporaceae Inferred from Bayesian Molecular Phylogenetics. *Can. J. Bot.* (81): 672-683.
- Gómez, S. y G. Arbeláez. 2005. Efecto de la temperatura en el periodo de latencia y producción de esporangios de *Peronospora sparsa* Berkeley en tres variedades de rosa. *Agronomía Colombiana* 23(2) 239-245.
- Hall, K. H. and Gardner, S. C. 1982. Oospores of *Peronospora sparsa* Berk. on *Rubus* species. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 10(4): 429-432.
- Hawksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C. and Pegler, D. N. 1995. Dictionary of the Fungi. 8 ed. Ainsworth & Bisby's. Egham, UK. 616 p.
- Horsfall, J. G. and Barratt, W. G. 1945. An improved grading system for measuring plant disease. *Phytopathology* 35, 655 (Abstract).
- Horst, R. K. and Cloyd, R. A. 1998. Compendium of rose diseases and pest. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 16-18 pp.
- Horst, R. K. and Cloyd, R. 2007. Compendium of rose diseases and pests. Second Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 93 p.
- Info Stat.* 2013. Versión 2013, Grupo Info Stat. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M., Robledo C.W. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Johnson, D. A. and Anliker, W. L. 1985. Effect of downy mildew epidemics on the seasonal carryover of initial inoculum in hop yards. *Plant Dis.* (69): 140-142.
- Kamoun, S. 2003. Molecular Genetics of Pathogenic Oomycetes. *Eukaryotic Cell.* 2(2):191-199.
- Koller, W. 2000. Encyclopedia of plant pathology. Fungicide resistance. 2: 483-488. Second edition. John Wiley and Sons. United States, 1368 p.
- León-Reyes, A. Padilla, G. W. y Brown, S. 2011. Resistencia inducida en rosas para el control de mildiús (*Oidium* sp y *Peronospora sparsa*) en Ecuador. Artículo técnico. Disponible en línea. [http://agrytec.com/agricola/index.php?option=com\\_content&view=article&id=4370:control-de-mildiús-en-rosas&catid=39:articulos-tecnicos&Itemid=31](http://agrytec.com/agricola/index.php?option=com_content&view=article&id=4370:control-de-mildiús-en-rosas&catid=39:articulos-tecnicos&Itemid=31) (revisado el 25 de junio 2014).
- Lindqvist-Kreuze, H., Koponen, H. and Valkonen, P. T. 2002. Variability of *Peronospora sparsa* (syn. *P. rubi*) in Finland as measured by amplified fragment length polymorphism. *European Journal of Plant Pathology* 108: 327–335.
- López, G. D. 2013. Efecto del Silicio en las principales enfermedades del rosal (*Rosa* spp). Tesis de Grado. Colegio de Posgraduados. Texcoco, México. 71 p.
- Madden, L. V., Hughes, G., and van der Bosch F. 2007. The Study of Plant Disease Epidemics. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, U.S.A. 421 p.

- McSpadden, B. B. and Fravel, D. R. 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Plant Health Progress. Disponible en línea. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/review/biocontrol/> (revisado el 28 de enero de 2014).
- Meilland International. s/a. Catálogo de variedades. 18 p. Disponible en línea. [www.meilland.com](http://www.meilland.com) (revisado el 15 de diciembre de 2013).
- Mendoza, D. M., Piedrahita, A. C., Castaño, E. 2005. Estudio económico comparativo del control manual vs el control químico de *Peronospora sparsa* en *Rosa* sp. Agronomía Colombiana. 13(2) 47-53.
- Michelmore, W., Iltott, T. W., Hulbert, S. H., and Farrara, B. 1988. The downy mildews. In: The Genetics of Plant Pathogenic Fungi. Academic Press. London, UK. Vol. (6) 53-79.
- Neumann, C. y Lundstedt, J. 2012. Antecedentes generales del Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa. Boletín Técnico No. 4. Santiago, Chile. 5 p.
- O'Neill, T. M., Pye, D. and Locke, T. 2002. The effect of fungicides, irrigation and plant density on the development of *Peronospora sparsa*, the cause of downy mildew in rose and blackberry. Annals of Applied Biology. 140 (2), 207-214.
- Petersen, A. B. and Rosendahl, S. 2000. Phylogeny of the Peronosporomycetes (Oomycota) based on partial sequences of the large ribosomal subunit (LSU rDNA). Mycol. Res. (104): 1295–1303.

- Pizano de Márquez, M. 2003. Cultivo moderno de la Rosa Bajo Invernadero. Ediciones Hortitecnia. Bogotá, Colombia. 203 p.
- Quinche, G. O. 2009. Control de botrytis (*Botrytis cinerea*) y mildiú veloso (*Peronospora sparsa*) en el cultivo de rosa (*Rosa* sp variedad Forever Young) mediante el uso de *Trichoderma harzianum* Rifai. Tesis de licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 78 p.
- Quiroga, B. y Arbeláez, G. 2004. Evaluación de la eficacia de fungicidas aplicados al suelo y al follaje para el control de mildiú veloso, ocasionado por *Peronospora sparsa* en un cultivo comercial de rosa. *Agronomía Colombiana* 22(2): 110-118.
- Rebollar, A. A. 2011. Manejo Del mildiú y el moho gris de la zarzamora en Michoacán. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México. 36 p.
- Riethmüller, A., Voglmayr, H., Göker, M., Weib. M. and Oberwinkler, F. 2002. Phylogenetic Relationships of the Downy Mildews (Peronosporales) and Related Groups Based on Nuclear Large Subunit Ribosomal DNA Sequences. *Micología* 94(5): 834-849.
- Ríos, F. F. y Baca, P. 2002. Control de plagas y enfermedades de los cultivos. Zamorano. Costa Rica. 55 p.
- Soto, J. y Filgueira, J. 2009. Efecto del fotoperiodo y la intensidad lumínica sobre la esporulación de *P. sparsa* Berkeley, bajo condiciones controladas. *Agronomía Colombiana* 27(2): 245-251.

- Stefanova, N. M., Rodríguez, M., Muiño, G., Lina, B., Villa, P. M. 2007. Control biológico del moho azul (*Peronospora tabacina* Adam) en el cultivo de tabaco (*Nicotina tabacum* L.). Fitosanidad 11(4): 31-36.
- Suárez, G. R. 1999. Problemática actual del mildiú veloso en rosa. In: VIII Congreso Acopaflor - Asocolflores. Bogotá, Colombia.
- Sumbali, G. 2005. The Fungi. Alpha Science International. Jammu, India. 312 p.
- Tate, K. G. and van der Mespel, G. J. 1983. Control of dryberry disease (*Peronospora sparsa*) in boysenberry with fungicides, New Zealand. Journal of Experimental Agriculture. 11:2, 141-146.
- Townsend, G. R. and Heuberger, J. W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. The Plant Diseases Report (27): 340-343.
- Walter, M., Harris-Virgin, P. W., Thomas, G. T., Waipara, N. W. y Langford, G. 2004. Agrochemicals suitable for downy mildew control in New Zealand boysenberry production. Crop Protection (23): 327-333.
- Wiglesworth, M. D., Reuveni, M., Nesmith, W.C., Siegel, M. R., Kuc, J. and Juárez J. 1988. Resistance of *Peronospora tabacina* to metalaxyl in Texas and México. Plant Disease (72): 964-967.

## ANEXOS

### Anexo 1. Marco Conceptual

Para iniciar el desarrollo de la presente investigación fue necesario tomar en cuenta algunos conceptos como los siguientes:

**Antagonista:** Se aplica a especies de plantas o animales que no pueden vivir conjuntamente. En el caso de las plantas, el antagonismo se manifiesta en la ocupación del suelo y puede tomar la forma de segregación de sustancias químicas que impiden la germinación de otras plantas o la ocupación de la cubierta, donde se compite por la recepción de la luz solar.

**Anteridio:** Órgano sexual masculino de las algas, hongos, briofitos, musgos, líquenes y helechos. Produce los gametos masculinos (anterozoides). Puede ser una célula única o puede tener una pared con uno o más niveles internos de capas estériles que resguardan a los gametos.

**Ápice:** Porción terminal del tallo o de la raíz en el que se ubica el meristemo apical

**Cáliz:** Verticilo externo de las flores completas, casi siempre formado por hojas verdosas y más a menudo recias.

Es una hinchazón que se advierte regularmente en la extremidad del peciolo que sostiene las flores, y sirve de base y de cubierta secundaria a las partes de la flor y la fructificación. Producido por la expansión de todo lo que forma el peciolo, está organizado como él, es decir, que se compone también del tejido celular, vasos linfáticos y de vasos propios cubiertos de una tela común llamada epidermis.

**Conidio:** Esporo de ciertos hongos como el mildiú y los mohos, formado por constricción del extremo de una hifa especializada, el conidióforo. Así se puede formar una cadena de conidios, que llegado el momento son cortados y liberados por el extremo de la hifa.

**Conidióforo:** En ciertos hongos, el conidióforo (del griego koni- κόνι-ς/-ος polvo + -idio pequeño + -phor(o)- -φορος que lleva) es una estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidios. Se localizan en el extremo de las hifas los cuales levantan el conidióforo en el aire con el fin de esparcir las esporas con más eficiencia. Los conidióforos se localizan aislados o en conidiomas siendo la morfología de éstos (picnidios, acérvulos, sinemas o esporodoquios) un carácter taxonómico importante en hongos imperfectos.

**Cutícula:** La cutícula de las plantas terrestres es una capa cerosa externa a la planta que la protege de la desecación a la que es expuesta en la atmósfera terrestre, además de proveer una barrera para la entrada de bacterias y hongos.

**Dicotomía:** División en dos partes.

**Efectividad biológica:** es el resultado conveniente que se obtiene al aplicar un insumo en el control o erradicación de una plaga que afecta a los vegetales.

**Eficacia:** Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera.

**Envés:** cara inferior o cara abaxial de la lámina o limbo de la hoja de una planta. La epidermis del envés suele ser diferente de la del haz o cara superior; casi

siempre presenta una cutícula más fina, mayor densidad de estomas y, frecuentemente también, mayor abundancia de tricomas (pelos epidérmicos).

**Epidermis:** Membrana formada por una sola capa de células que cubre el tallo y las hojas de las pteridofitas y de las fanerógamas herbáceas.

**Especificidad:** Adecuación de algo al fin al que se destina.

**Esporangio:** Fructificación fúngica relativamente sencilla que en su interior produce conidios llamados esporangiosporas.

**Esporangióforo:** Hifa especializada que porta uno o más esporangios.

**Esporulación:** Formación de esporas.

**Esqueje:** Tallo o cogollo que se introduce en tierra para reproducir la planta.

**Esterigma:** Punto de estrechamiento que origina una basidiospora sobre un basidio.

**Estoma:** Estructuras de la epidermis vegetal que constan de dos células de cierre similares, situadas con sus ejes longitudinales paralelos entre las cuales hay un pequeño espacio intercelular llamado poro.

**Filiforme:** Que tiene forma o apariencia de hilo.

**Filogenético:** La filogenética o filogenia es la parte de la biología que estudia la evolución de las especies de forma global, en contraposición a la ontogenia, que estudia la evolución del individuo.

**Fitotóxico:** Es cuando algún elemento químico supera en las plantas un determinado umbral de concentración produciendo un daño o alteración fisiológica por toxicidad.

**Fungistático:** Sustancia que impide o inhibe la actividad vital de los hongos.

**Haz:** Cara superior de la hoja, normalmente más brillante y lisa, y con nervadura menos patente que en la cara inferior o envés.

**Haustorio:** es un órgano o estructura multicelular especializada que se adhiere a un órgano de la planta hospedera, en tanto forma un puente anatómico y fisiológico mediante el cual la planta huésped absorbe nutrientes.

**Hialina:** Carente de coloración, transparente.

**Holobiotrofo:** Patógeno obligado de plantas vivas.

**Incidencia:** Se define como el número de unidades atacadas por unidad de medida, considerando como unidades el número de hojas, tallos, flores, frutos o raíces por surco, parcela o campo. Este es el parámetro empleado más comúnmente para medir el daño causado por enfermedades.

**Inhibidor:** Es una sustancia que interfiere la acción de una enzima y hace más lenta una reacción.

**Insumo:** Conjunto de bienes empleados en la producción de otros bienes.

**Latencia:** Tiempo que transcurre entre un estímulo y la respuesta que produce, y, en particular, lapso entre el momento en que se contrae una enfermedad y la aparición de los primeros síntomas.

**Mesófilo:** es un término botánico que designa el tejido que se encuentra entre las epidermis del haz y del envés de las hojas.

**Metabolito:** es cualquier molécula utilizada, capaz o producida durante el metabolismo.

**Micelial:** Talo de los hongos, formado comúnmente de filamentos muy ramificados y que constituye el aparato de nutrición de estas plantas.

**Mitocondria:** Orgánulo de las células eucariontes en el que tiene lugar la respiración celular.

**Morfología:** Parte de la biología que trata de la forma de los seres orgánicos y de las modificaciones o transformaciones que experimenta.

**Oogonio:** Una de las células que forman la mayor parte del tejido ovárico y sirven como fuente de oocitos.

**Oospora:** espora de resistencia en la fructificación sexual.

**Parénquima:** Tejido vegetal constituido por células de forma aproximadamente esférica o cúbica y con espacios de separación.

**Patógeno:** Que origina y desarrolla una enfermedad.

**Pedúnculo:** Pezón de la hoja, flor o fruto.

**Plaga:** Corresponde a animales (insectos, ácaros, babosas, nematodos, roedores, aves, etc. patógenos y malezas, cuya abundancia afecta los bienes de la especie humana.

**Protoplasma:** Es una suspensión coloidal viscosa formada por compuestos químicos inorgánicos y orgánicos.

**Saprófito:** Se dice de las plantas y los microorganismos que se alimentan de materias orgánicas en descomposición.

**Sépalos:** Hoja transformada, generalmente recia y de color verdoso, que forma parte del cáliz o verticilo externo de las flores heteroclamídeas.

**Severidad:** Es el área de tejido de la planta afectada por la enfermedad.

**Sideróforos:** Compuesto de bajo peso molecular que se une muy estrechamente al hierro. Los sideróforos son sintetizados por diferentes microorganismos del suelo con el fin de asegurarse la capacidad de obtener de su ambiente cantidades suficientes de hierro.

**Sintomático:** Pertenece o relativo a síntoma. Síntoma: Fenómeno revelador de una enfermedad.

**Taxonomía:** Ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación. Se aplica en particular, dentro de la biología, para la ordenación jerarquizada y sistemática, con sus nombres, de los grupos de animales y de vegetales.

**Zoospora:** Espora provista de cilios o flagelos motores.

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa Berkeley*) en el cultivo de rosal (*Rosa spp.*) en Tenancingo, Estado de México.

**Anexo 2.** Formato para la toma de datos del experimento.

TOMA DE DATOS

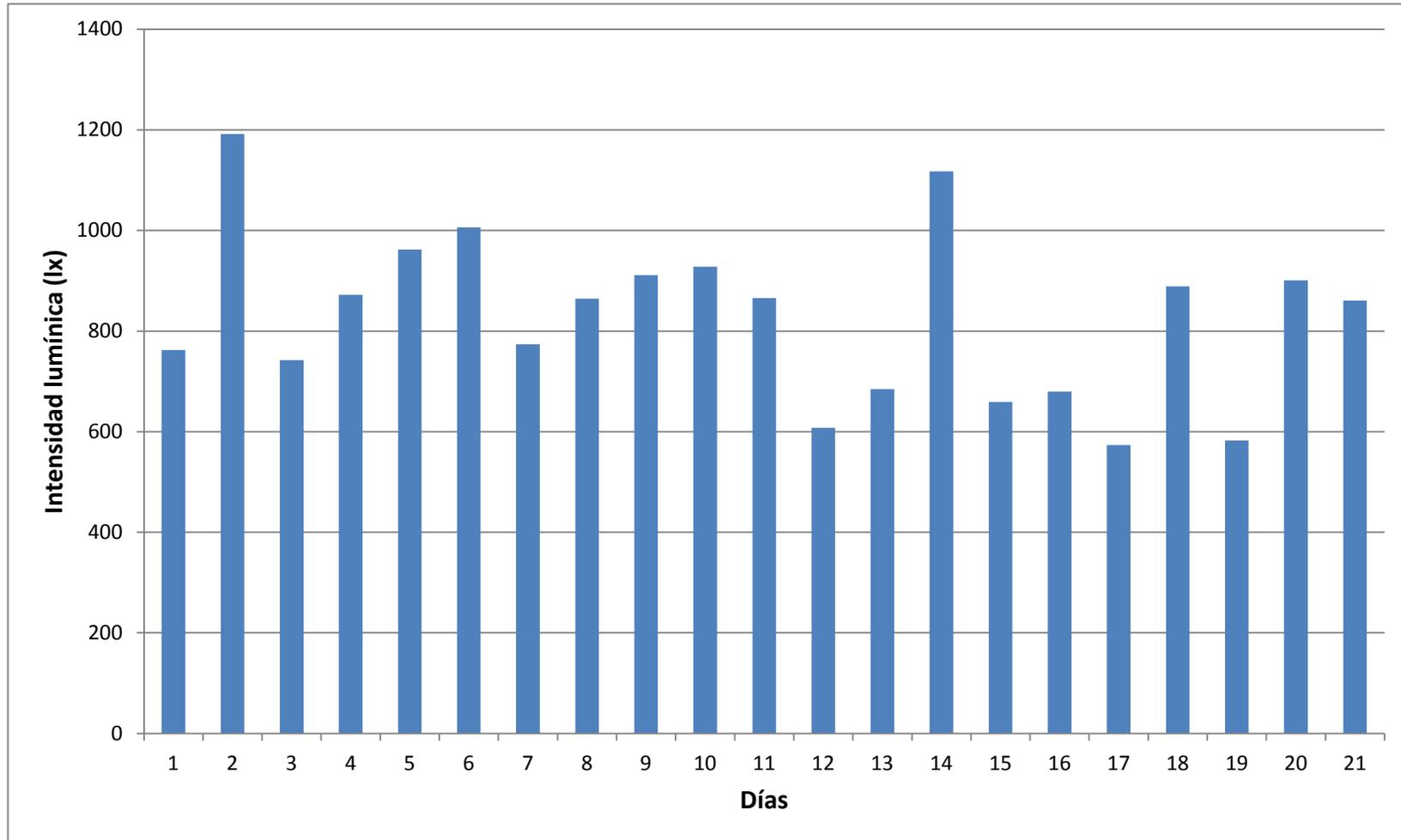
FUNGICIDA Sphinx Supra WG

VARIEDAD: BINGO WHITE

FECHA: \_\_\_\_\_

SEVERIDAD											INCIDENCIA		
BLOQUE 1	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	Total Plantas	Plantas sintomáticas	
T1												N°	%
T2												N°	%
T3												N°	%
T4												N°	%
T5												N°	%
T6												N°	%
BLOQUE 2												N°	%
T1												N°	%
T2												N°	%
T3												N°	%
T4												N°	%
T5												N°	%
T6												N°	%
BLOQUE 3												N°	%
T1												N°	%
T2												N°	%
T3												N°	%
T4												N°	%
T5												N°	%
T6												N°	%
BLOQUE 4												N°	%
T1												N°	%
T2												N°	%
T3												N°	%
T4												N°	%
T5												N°	%
T6												N°	%

**Anexo 3.** . Intensidad lumínica diaria en invernadero registrada durante el periodo de estudio



#### Anexo 4. Análisis de varianza con los datos obtenidos del experimento.

##### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pre eva	24	0,89	0,84	9,12

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,44	8	2,43	15,75	<0,0001
bloque	17,13	3	5,71	37,00	<0,0001
trat	2,31	5	0,46	3,00	0,0450
Error	2,31	15	0,15		
Total	21,76	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,90254

Error: 0,1543 gl: 15

trat Medias n E.E.

6,00	4,17	4	0,20	A
5,00	4,17	4	0,20	A
3,00	4,17	4	0,20	A
1,00	4,17	4	0,20	A
2,00	4,17	4	0,20	A
4,00	5,00	4	0,20	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Cira eva	24	0,92	0,88	14,72

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3798,61	8	474,83	22,04	<0,0001
bloque	206,02	3	68,67	3,19	0,0544
trat	3592,59	5	718,52	33,35	<0,0001
Error	323,15	15	21,54		
Total	4121,76	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,66377

Error: 21,5432 gl: 15

trat Medias n E.E.

3,00	21,67	4	2,32	A
2,00	22,50	4	2,32	A
4,00	22,92	4	2,32	A
6,00	27,50	4	2,32	A
5,00	39,17	4	2,32	B
1,00	55,42	4	2,32	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa Berkeley*) en el cultivo de rosal (*Rosa spp.*) en Tenancingo, Estado de México.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
C2da eva	24	0,94	0,90	11,06

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4863,43	8	607,93	28,35	<0,0001
bloque	390,16	3	130,05	6,07	0,0065
trat	4473,26	5	894,65	41,72	<0,0001
Error	321,64	15	21,44		
Total	5185,07	23			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,63891**

Error: 21,4429 gl: 15

trat	Medias	n	E.E.	
3,00	27,50	4	2,32	A
6,00	33,75	4	2,32	A
2,00	35,00	4	2,32	A
4,00	37,08	4	2,32	A
5,00	49,17	4	2,32	B
1,00	68,75	4	2,32	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
C1ra post eva	24	0,96	0,94	9,74

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7691,20	8	961,40	42,51	<0,0001
bloque	439,24	3	146,41	6,47	0,0050
trat	7251,97	5	1450,39	64,13	<0,0001
Error	339,24	15	22,62		
Total	8030,44	23			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,92599**

Error: 22,6157 gl: 15

trat	Medias	n	E.E.	
3,00	29,17	4	2,38	A
2,00	39,58	4	2,38	A B
6,00	40,00	4	2,38	A B
4,00	43,75	4	2,38	B
5,00	57,50	4	2,38	C
1,00	82,92	4	2,38	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

Evaluación del fungicida Sphinx supra WG® en el control del mildiú veloso (*Peronospora sparsa Berkeley*) en el cultivo de rosal (*Rosa spp.*) en Tenancingo, Estado de México.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
C2da post eva	24	0,98	0,97	7,38

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11163,43	8	1395,43	85,95	<0,0001
bloque	327,31	3	109,10	6,72	0,0043
trat	10836,11	5	2167,22	133,49	<0,0001
Error	243,52	15	16,23		
Total	11406,94	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,25712

Error: 16,2346 gl: 15

trat	Medias	n	E.E.	
3,00	31,67	4	2,01	A
2,00	41,67	4	2,01	B
6,00	45,83	4	2,01	B
4,00	47,50	4	2,01	B
5,00	63,75	4	2,01	C
1,00	97,08	4	2,01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )