



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

CONTROL DE *Botrytis cinerea* Pers. (Telomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary) EN ROSA CON EXTRACTOS DE VID SILVESTRE

QUÉ COMO TRÁMITE PARCIAL PARA LA EVALUACIÓN
PROFESIONAL DE LA CARRERA DE:
INGENIERO AGRÓNOMO EN FLORICULTURA

PRESENTA:

ISAIAS BARTOLO MENDOZA

MODALIDAD: TESIS INDIVIDUAL

ASESORES:

DR. JESÚS RICARDO SANCHEZ PALE

DR. OMAR FRANCO MORA



CAMPUS UNIVERSITARIO "EL CERRILLO", EL CERILLO PIEDRAS BLANCAS,
TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, MAYO DE 2019.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS	7
RESUMEN.....	8
ABSTRACT	10
I. INTRODUCCIÓN	12
II.OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo general.....	14
2.2 Objetivos específicos	15
III. HIPÓTESIS.....	15
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	16
4.1 Importancia económica.....	17
4.2 Importancia en México	17
4.3 Mejoramiento genético.....	18
4.4 Principales enfermedades	19
4.4.1 Mildiu vellosa (<i>Peronospora sparsa</i> Berkeley)	19
4.4.1.1 Clasificación taxonómica.....	20
4.4.2 Cenicilla u oídio (<i>Podosphaera pannosa</i> (Wallr.) Lév.(Anamorfo: <i>Oidium</i> spp.)).....	21
4.4.2.1 Ciclo de la enfermedad	21
4.4.2.2 Síntomas y signos	22
4.4.3 Roya (<i>Phragmidium mucronatum</i> Wallr).	24
4.4.4 Agallas o tumores (<i>Agrobacterium tumefaciens</i> Montagu-Schell).....	25
4.4.4.1 Ciclo de la enfermedad	26
4.4.5. Mosaicos foliares (de etiología viral:Virosis)	26

4.4.6 Mancha negra (<i>Diplocarpon rosae</i> Wolf).....	27
4.4.7 <i>Botrytis cinerea</i> Pers. (Teleomorfo: <i>Botryotinia fuckeliana</i> De Bary)	28
4.5 Clasificación taxonómica	29
4.5.1 Descripción morfología y ciclo de vida del hongo	30
4.6 Extractos vegetales	33
4.7 Rovral	34
4.8 Área Bajo la Curva (ABCPE)	35
V. MATERIALES Y MÉTODOS	37
5.1 Localización del experimento.....	37
5.2 Obtención de los extractos	37
5.3 Obtención del inóculo	37
5.4 Establecimiento del experimento	38
5.5 Diseño experimental	40
5.6 Análisis de los datos	42
5.7 Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE).....	42
VI. RESULTADOS	44
6.1 Severidad.....	44
6.2 Incidencia final	54
6.3 Área bajo la curva	55
VII. DISCUSIÓN.....	57
VIII. CONCLUSIÓN.....	61
IX. RECOMENDACIONES	62
X. BIBLIOGRAFÍA.....	63
XI. ANEXOS	70



..... 70

Ilustración 1. Flor de rosal variedad Santa Fe 70



..... 70



..... 71



..... 71



..... 71



..... 72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica actual de <i>B. cinerea</i>	30
Cuadro 2. Dosificación de los diferentes tratamientos utilizados.....	39
Cuadro 3. Fechas de evaluación de la severidad.....	40
Cuadro 4. Resultado de análisis de varianza para la variable severidad a los 4 días después de la primera aplicación.	44
Cuadro 5. Separación de medias para la variable severidad a los 4 días después de la aplicación.....	45
Cuadro 6. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 7 días después de la aplicación.	46
Cuadro 7. Valores medios para la variable severidad a los 7 días después de la aplicación.	46
Cuadro 8. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 11 días después de la aplicación.	47
Cuadro 9. Valores medios para la variable severidad a los 11 días después de la aplicación.	48
Cuadro 10. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 14 días después de la aplicación.	49
Cuadro 11. Valores medios para la variable severidad a los 14 días después de la aplicación.	50
Cuadro 12. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 18 días después de la aplicación.	50
Cuadro 13. Valores medios para la variable severidad a los 18 días después de la aplicación.	51

Cuadro 14. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 21 días después de la aplicación.	52
Cuadro 15. Separación de medias para la variable severidad a los 21 días después de la aplicación.....	53
Cuadro 16. Resultados de análisis de varianza para la variable área bajo la curva del progreso de severidad de Tizón por <i>Botrytis</i> en los diferentes tratamientos evaluados.....	56
Cuadro 17. Área bajo la curva del progreso de severidad.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mildiu velloso (<i>Peronospora sparsa</i> Berkeley)	20
Figura 2. Signos y síntomas de cenicilla (<i>Podosphaera pannosa</i> (Wallr.) Lév.(Anamorfo: <i>Oidium</i> spp.)) en rosal.....	24
Figura 3. Signos y síntomas de roya (<i>Phragmidium mucronatum</i> Wallr) en rosal. 25	
Figura 4. Agallas o tumores originadas por <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Montagu- Schell en rosal.....	25
Figura 5. Mosaicos foliares (virosis) en rosal.	27
Figura 6. Mancha negra por <i>Diplocarpon rosae</i> Wolf en hojas de rosal.....	28
Figura 7. Daños por <i>Botrytis cinerea</i> Pers. Teleomorfo: <i>Botryotinia fuckeliana</i> De Bary en flor de rosal.	29
Figura 8. Ciclo de <i>Botrytis cinerea</i> Teleomorfo: <i>Botryotinia fuckeliana</i> De Bary según Bayer (2015).....	32
Figura 9. Escala diagramática de severidad de <i>B. cinerea</i> Teleomorfo: <i>Botryotinia fuckeliana</i> De Bary en flor de rosal.....	41
Figura 10. Curva de progreso de severidad a través del tiempo.	54
Figura 11. Resultado de Incidencia final (%) determinada en los diferentes tratamientos.....	55

RESUMEN

CONTROL DE *Botrytis cinerea* Pers. (Telomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary) EN ROSA CON EXTRACTOS DE VID SILVESTRE.

Isaias Bartolo Mendoza. Ingeniero Agrónomo en Floricultura. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. isaias_bartolo30@hotmail.com

Asesor.

Dr. Jesús Ricardo Sánchez Pale. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus Universitario "El Cerrillo", El Cerrillo Piedras Blancas. Municipio de Toluca, México, código postal 50200. Tel (fax) 2-96-55-18 y 2-96-55-29. Correo electrónico: jrsanchezp@uaemex.mx

Dr. Omar Franco Mora. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus Universitario "El Cerrillo", El Cerrillo Piedras Blancas. Municipio de Toluca, México, código postal 50200. Tel (fax) 2-96-55-18 y 2-96-55-29. Correo electrónico: ofrancom@uaemex.mx

En México, la industria de la floricultura ha crecido en la última década en superficie, en nuevas especies y en su manejo intensivo, destacando el rosal como la principal especie que se exporta, su cultivo es dañado por una enfermedad denominada tizón por *B. cinerea* Pers. Su control depende solamente del uso de fungicidas del tipo benzimidazoles y poco se ha intentado con el uso de fungicidas de origen botánico. Una posible alternativa son los extractos de vid silvestre que contiene alta cantidad de fenoles. En base a lo anterior se realizó el presente trabajo con el objetivo de evaluar extracto de vid silvestre para controlar a *B. cinerea* en rosal. Se evaluó tres dosis del extracto fenólico (100, 80 y 40% v/v) obtenido de la accesión de vid silvestre mediante el método de percolación a partir del material macerado con etanol; y se incluyó un testigo de origen sintético. El inóculo fue proporcionado por el laboratorio de ICAMEX. Se utilizaron plantas de rosa de la variedad Santa Fe de tres meses de edad sembradas en maceta de dos litros. Se establecieron cuatro repeticiones por cada tratamiento bajo un diseño de bloques completos al azar. A la

aparición de los botones florales en las plantas de rosal se asperjaron los diferentes tratamientos de extracto de vid, e inocularon a las 24 horas posteriores con esporas de *B. cinerea* a una concentración de 2.5×10^6 conidios/mL. En cada tratamiento se evaluó la severidad a los 0, 4, 7, 11, 14, 18 y 21 días después de la inoculación así como la incidencia final. Los resultados indicaron que la dosis al 80% de extracto redujo la severidad de *Botrytis* spp., y originó la menor área bajo la curva del progreso de la enfermedad. De forma similar, la menor incidencia final se presentó en la dosis al 80% seguida de la dosis al 100%. La dosis al 40% mostraron un efecto de control de forma similar al testigo de origen sintético.

PALABRA CLAVE: *Rosa* spp., Extracto vegetal, Tizón, Moho gris.

ABSTRACT

CONTROL OF *Botrytis cinerea* Pers. (Telomorph: Botryotinia fuckeliana De Bary)
IN ROSE WITH WILD VINE EXTRACTS.

Isaias Bartolo Mendoza. Engineer Agronomist in Floriculture. Autonomous Mexico State University. Faculty of Agricultural Sciences. isaias_bartolo30@hotmail.com

Adviser

Dr. Jesús Ricardo Sánchez Palé. Autonomous Mexico State University. Faculty of Agricultural Sciences. University Campus “El Cerrillo”, El Cerrillo Piedras Blancas. Municipality of Toluca, Mexico, zip code 50200. Tel (fax) 2-96-55-18 and 2-96-55-29. Email: jrsanchezp@uaemex.mx

Dr. Omar Franco Mora. Autonomous Mexico State University. Faculty of Agricultural Sciences. University Campus “El Cerrillo”, El Cerrillo Piedras Blancas. Municipality of Toluca, Mexico, zip code 50200. Tel (fax) 2-96-55-18 and 2-96-55-29. Email: ofrancom@uaemex.mx

In Mexico, the floriculture industry has grown in the last decade in surface, in new species and in its intensive management in area highlighting the rose bush, as the main species that is exported, its cultivation is damaged by a disease called blight by *B. cinerea*. Its control depends only on the use of fungicides of the benzimidazole type, highlighting the benomyl and little has been tried with the use of fungicides of botanical origin, a possible alternative are the extracts of wild vine that contains high amount of phenols. Therefore, the present work was established with the objective of evaluating the wild vine extract to control *B. cinerea* in rose. Three doses of the

phenolic extract obtained from the accession of wild vitis obtained by the percolation method from the macerated material with ethanol, as well as a control of synthetic origin were evaluated. The established inoculum was provided by the ICAMEX laboratory. Four repetitions were established for each treatment under a randomized block design. The results indicated that the 80% dose reduced the severity of *Botrytis* spp. in the cultivar of rosa Santa fe variety, as well as the smaller area under the curve of the progress of the disease. The doses at 40 and 100% showed no control effect behaving the same as the control.

KEY WORDS : rose, vitis extracts, *Botrytis cinerea*.

I. INTRODUCCIÓN

La producción de rosa (*Rosa* spp.) es una actividad importante en la economía del estado de México, ya que genera empleos en las diferentes regiones en donde se cultiva, así como una gran actividad económica por las divisas que genera su venta a mercados externos. En México, la industria florícola ha crecido en la última década en superficie, en nuevas especies y en su manejo intensivo (Sica, 2007). El cultivo de la rosa es atacado por diversas enfermedades e insectos plaga, sin embargo se considera a *Botrytis cinerea* Pers. como el principal agente causal de daños durante su cultivo y en postcosecha. Su control depende solamente de fungicidas, aunque se han explorado otras alternativas de manejo cultural, biológico y biorracional, pero es nula la información sobre el uso de extractos de plantas nativas como una alternativa sustentable. Ante este escenario, se pretende investigar un fungicida vegetal elaborado a base de extracto de la accesión de hojas de vid silvestre que sirva como una herramienta adicional para combatir *B. cinerea* y que represente un menor impacto al ambiente (Castaño, 2002).

B. cinerea puede actuar como sáprofita facultativo y ha sido considerado un patógeno de alta importancia económica ya que afecta un amplio número de cultivos especialmente aquellos de alto valor como ornamentales, hortalizas y frutales alrededor del mundo. Este patógeno, puede dañar toda la parte aérea de la planta, ocasiona pudrición de brotes y flores, además de tizón de tallos; en el rosal, los síntomas en las flores y los botones florales afectados son pudrición, decoloración, secamiento, momificados y quedan adheridos a los pedúnculos (Pardo, 1995). Todos los órganos afectados se cubren de un denso moho gris, micelio, constituido por el desarrollo del hongo (Pardo, 1995).

II.OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

1. Evaluar el efecto del extracto obtenido de la hoja de vid silvestre como fungicida de origen botánico para el control de *B. cinerea* en rosal variedad Santa Fe.

2.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la eficacia del extracto de hoja de vid silvestre en dosis de 100, 80 y 40% para el control de *B. cinerea* en cultivo de rosal variedad Santa Fe.
2. Determinar el grado de severidad causado por *B. cinerea* en respuesta a la aplicación del extracto de vid silvestre en rosal variedad Santa Fe.
3. Determinar el área bajo la curva del progreso de la severidad de la enfermedad originada en cada dosis.

III. HIPÓTESIS

Al menos una dosis del extracto vegetal de hoja de vid tendrá un efecto en la reducción del desarrollo de *Botrytis cinerea* y la expresión de los síntomas en hojas y botón floral en rosal.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Importancia económica

La producción mundial de flores ocupa más de 190,000 hectáreas, alcanzando un valor de 16,000 millones de dólares. La mayoría de las zonas productoras se hallan en principales mercados de consumo o cerca de ellos. Los principales países productores son Holanda con 7,738 hectáreas, Estados Unidos con 20,181 hectáreas y Japón con 17,569 hectáreas. Estos tres países controlan aproximadamente el 50% del valor de la producción mundial y más del 20% del área de producción (Yong, 2014).

El consumo mundial de la flor se calcula en 27 mil millones de flores, de las cuales, 15 mil millones son para Europa, 7 mil millones van a América y 5 mil millones a Asia (Soto-Alvarado y García-Frías, 2009).

4.2 Importancia en México

En la actualidad se estima que, en la República Mexicana, existen 6,500 ha dedicadas al cultivo de flores, de las cuales el 90% (5,850 ha) se produce para satisfacer el mercado nacional: este tipo de explotación se caracteriza por su bajo nivel de tecnificación, riego inadecuado y uso de material vegetativo de baja calidad, el restante 10% (650 ha) se dedica a producir para exportar, por lo que es necesario realizar una alta inversión que incluye infraestructura, material vegetativo de alta calidad genética, tecnología e instalaciones necesarias para obtener volúmenes de producción de primera clase (Ibarra, 1999).

4.3 Mejoramiento genético

El mejoramiento genético mediante hibridación busca permanentemente sacar al mercado nuevas variedades con características deseables tanto para el productor como para el consumidor (Helpmefind, 2017). Por otra parte, los consumidores siempre están a la búsqueda de nuevos tipos de flor, colores, formas, uniformidad y mayor duración de vida poscosecha (Helpmefind, 2017).

De acuerdo a Helpmefind (2017) las principales características de calidad exigidas por el mercado de rosas son:

1. Tallo largo y rígido, entre 50 y 70 cm, según la variedad, zona de cultivo y comercializador.
2. Follaje verde brillante.
3. Flores de apertura lenta
4. Mínimo 12 días de conservación en florero.

En cuanto al tamaño de flor y colores las rosas se clasifican en grandes, spray y minis, la demanda en cuanto a colores sigue un patrón más o menos general en los siguientes porcentajes:

Rosas grandes: Correspondientes aproximadamente al 80% de la producción.

Rojas de 40-60% de la demanda, variedades como First Red, Dallas, Royal Red, Grand Gala, Koba, Red Velvet.

Rosadas de 20-40% de la demanda, variedades como Anna, Noblesse, Vivaldi, Sonia, Omega, Versilia.

Amarillas de 15 a 20 % con variedades como Golden Times, Texas, Starlite, Live

Naranjas en aumento como la variedad Pareo.

Blancas, según el comprador siempre ocupan un porcentaje importante de la producción, entre un 10 y 15 %, con variedades como Virginia, Tineke y Ariana.

4.4 Principales enfermedades

Las enfermedades son perjudiciales en la producción de plantas, además provocan pérdidas económicas (reducción de rendimientos, gastos en su control) y el incremento en precios de los productos. Pueden reducir la variedad de plantas en ciertos lugares, al destruir especies muy susceptibles, pueden influenciar el tipo de industria agrícola en zonas determinadas e influenciar en el nivel de desempleo sobre la cantidad de productos disponibles para su procesamiento (Infoagro, 2018).

4.4.1 Mildiu vellosa (*Peronospora sparsa* Berkeley)

Es considerada la enfermedad más peligrosa del rosal ya que ocasiona una rápida defoliación, si no se actúa a tiempo puede resultar muy difícil recuperar la planta, se desarrolla favorablemente bajo condiciones de elevada humedad y temperatura, dando lugar a la aparición de manchas irregulares de color marrón o púrpura sobre el haz de las hojas, pecíolos y tallos, en las zonas de crecimiento activo (Fig. 1) (Kamoun, 2003).



Figura 1. Mildiu velloso (*Peronospora sparsa* Berkeley)

4.4.1.1 Clasificación taxonómica

Clasificación Taxonómica. *Peronospora sparsa* es un patógeno biótrofo o parásito obligado que forma parte de los Oomycetes, los cuales son organismos miceliares 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); se le considera miembro del reino Chromista, subreino Heterokonta aunque algunos autores lo ubican en el reino Straminopila (Kamoun, 2003).

El control se logra manteniendo adecuada ventilación en el invernadero. Además, debe evitarse películas de agua sobre la planta ya que ésta favorece la germinación de las conidias. Los tratamientos preventivos se realizan con la aplicación de metalaxil + mancozeb y curativos con oxaditil + folpet (Helpmefind, 2017).

4.4.2 Cenicilla u oídio (*Podosphaera pannosa* (Wallr.) Lév.(Anamorfo: *Oidium* spp.)).

Podosphaera pannosa es un patógeno biótrofo cuyo teleomorfo se ubica en los ascomicetos; es heterotálico, según Bender y Coyier (1985). Este patógeno pertenece al reino Fungi, filum Ascomycota, subfilum Pezizomycotina, clase Leotiomycetes, orden Erysiphales, familia Erysiphaceae, género *Podosphaera* y especie *pannosa* (NCBI, 2014).

4.4.2.1 Ciclo de la enfermedad

El hongo en cultivos de rosales en campo hiberna, principalmente como micelio sobre las yemas, ocasionalmente forma casmotecios (clerstotecios) sobre hojas, pétalos y tallos (particularmente alrededor de las espinas). En rosas cultivadas en invernadero el patógeno persiste exclusivamente en forma de micelio y conidios (Agrios, 2005).

Las ascosporas o conidios del hongo son diseminados por el viento hacia los tejidos de las plantas, y en temperatura de 21 °C y humedad relativa (HR) de 100 % las esporas germinan; pero la germinación disminuye si hay una película de agua sobre las hojas (Perera y Wheeler, 1975). En el desarrollo asexual los conidios germinan a 20 °C con HR cerca del 100 %, 2 a 4 h después de haberse depositado sobre el tejido del huésped; luego se produce un tubo germinativo corto en uno de los extremos del conidio y en las 6 horas siguientes se forma un apresorio inicial, del cual se desarrolla una hifa que penetra directo la cutícula y llega hasta las células epidérmicas donde forma haustorios (Agrios, 2005). Éstos tienen un núcleo y están delimitados por una membrana que en 20 a 24 hrs se introduce en el citoplasma de

la célula epidermal. La célula no se daña a pesar de que el citoplasma es empujado y deformado por el haustorio del hongo. El haustorio absorbe sustancias solubles de la célula hospedante, que se translocan al micelio en desarrollo y a las cadenas de conidios que se forman sobre la superficie de las hojas (Horst-Cloyd, 2007). Las hifas formadoras del micelio se desarrollan para producir conidióforos erectos y cortos sobre el tejido y este proceso se inicia 48 horas después de la germinación del conidio (Agrios, 2005). Los conidióforos iniciales se forman como pequeñas hinchazones sobre las hifas encima de los núcleos; estos conidióforos se alargan y los núcleos se dividen, luego se forman los septos que separan a los conidióforos de las hifas. En la mayoría de los casos los conidióforos generan un conidio por día, pero en condiciones óptimas de temperatura (21 °C) y HR (97 a 99 %) puede formarse una cadena de conidios 72 horas después de la infección inicial, aunque normalmente se requieren entre 5 y 7 días. El conidio liberado madura 24 horas después y forma nuevas colonias que producen conidióforos y conidios que causan nuevas infecciones (Horst y Cloyd, 2007). En la fase sexual, el hongo puede producir casmotecios con (4-8) ascosporas capaces de infectar el tejido del rosal e iniciar ciclos nuevos de la enfermedad (Whitaker y Honkanson, 2007).

4.4.2.2 Síntomas y signos

Los síntomas de la enfermedad se desarrollan rápidamente en los tejidos aéreos, pero las hojas y brotes son los más afectados. Los primeros indicios surgen sobre las hojas jóvenes como áreas elevadas ligeramente, a menudo rojizas, donde se formarán los signos de la enfermedad con aumento de polvo blanquecino en el

envés y el haz de la hoja (Fig. 2), en condiciones favorables, la colonización se extiende por toda la hoja, por lo que parece retorcida o curvada; las hojas maduras podrían no presentar los síntomas típicos de la enfermedad, pero pueden presentar áreas circulares e irregulares cubiertas por el hongo y causar su abscisión prematura (Horst-Cloyd, 2007) o distorsión menor de las hojas maduras que con el tiempo se necrosan (Whitaker-Hokanson, 2007). Las hojas maduras son resistentes a cenicilla y generalmente no muestran los síntomas o sólo lesiones locales pequeñas; cuando el daño es severo, el crecimiento de las hojas disminuye, los procesos fotosintéticos se afectan, y los botones florales disminuyen su crecimiento (Watkins, 1990). El hongo puede infectar también a las flores y crecer abundantemente sobre los pedicelos, sépalos y receptáculos, en especial cuando el botón floral no se ha abierto, por lo que la infección produce flores de mala calidad (Horst-Cloyd, 2007). En algunos casos los botones infectados se necrosan y caen, y si la infección se produce en las flores, los pétalos crecen incompletos e irregulares (Whitaker-Hokanson, 2009).



Figura 2. Signos y síntomas de cenicilla (*Podosphaera pannosa* (Wallr.) Lév. (Anamorfo: *Oidium* spp.)) en rosal.

4.4.3 Roya (*Phragmidium mucronatum* Wallr).

Se trata de una roya autoica y macrocíclica. Los ecios se encuentran esparcidos o en grupos anulares en ramas, peciolo o venas foliares. Las eciosporas son globosas y elipsoides, con la pared hialina equinulada y gruesa; miden 18-21 μm . Los uredios están esparcidos en pequeños puntos rojizos o ligeramente amarillentos, con urediosporas elipsoides, equinuladas e hialinas que miden 14-20 x 12-18 μm (Fig. 3). Las teliosporas aparecen al final del verano, adhiriéndose a los tallos donde germinan en primavera, infectando las hojas con las basidiosporas. La extensión se produce mediante eciosporas y urediniosporas transportadas por el viento. Causa la abscisión prematura de las hojas atacadas, con el consiguiente debilitamiento en el desarrollo de la raíz y brotes (Domínguez, 1993).

La fertilización nitrogenada excesiva favorece su presencia. Por el contrario, la sequía y la fertilización potásica detienen su desarrollo. Para su control deben regularse las condiciones ambientales así como realizar pulverizaciones con captan, zineb y oxicarboxin (Helpmefind, 2017).



Figura 3. Signos y síntomas de roya (*Phragmidium mucronatum* Wallr) en rosal.

4.4.4 Agallas o tumores (*Agrobacterium tumefaciens* Montagu-Schell)

La bacteria se caracteriza por formar agallas o tumores, principalmente en la base de los tallos a nivel de la superficie del suelo (Fig. 4). Inicialmente forma pequeños crecimientos esféricos con la apariencia de callos, los cuales crecen rápidamente hasta constituirse en grupos de protuberancias fácilmente distinguibles. En árboles de dos a tres años, los tumores pueden llegar a alcanzar diámetros superiores al de su hospedero (Arguedas, 2009).



Figura 4. Agallas o tumores originadas por *Agrobacterium tumefaciens* Montagu-Schell en rosal.

4.4.4.1 Ciclo de la enfermedad

A. tumefaciens es una bacteria en forma de bacilo, flagelada, habitante del suelo. Penetra a la planta a través de heridas frescas producidas durante las labores de trasplante o mantenimiento o por insectos y nematodos del sistema radical. Una vez dentro del hospedero, la bacteria lo estimula a producir una gran cantidad de células. Estas células continúan dividiéndose mucho más rápido de lo normal y aumentan considerablemente su tamaño. Por tanto, el área afectada se transforma en un tumor o agalla. Estas alteraciones producidas en las células pueden continuar dándose, aunque la bacteria ya no se encuentre presente. Cuando los tejidos superficiales de las agallas se deterioran y desecan, generalmente caen al suelo junto con la bacteria, completándose de este modo su ciclo (Arguedas, 2009).

Para su control el suelo debe esterilizarse, preferentemente con vapor, antes de la siembra. Las plantas con síntomas deben ser desechadas. El control biológico de la agalla es posible con *Agrobacterium radiobacter*, cepa K84 (Helpmefind, 2017).

4.4.5. Mosaicos foliares (de etiología viral:Virosis)

El síntoma más común consiste en líneas cloróticas discontinuas en zig-zag generalmente dispuestas asimétricamente con relación a la nervadura central (Fig. 5). Las alteraciones cromáticas pueden venir acompañada de crispamientos y deformaciones del limbo. En una misma plantación la severidad de los síntomas varía de un año a otro y no llega a afectar la totalidad del follaje, limitándose a algunas ramas o niveles de hojas situados sobre la misma rama, quedando las demás partes del vegetal aparentemente sanas. Aunque la influencia del virus sobre

el crecimiento de los individuos enfermos no sea siempre afectado, es evidente su presencia en el cultivo; algunos estudios han citado retrasos en la floración y reducción de la longevidad de las plantas. Se debe hacer análisis fitosanitarios cada dos o tres años cuando se introducen nuevas variedades (Helpmefind, 2017).



Figura 5. Mosaicos foliares (virosis) en rosal.

4.4.6 Mancha negra (*Diplocarpon rosae* Wolf)

Aparece como manchas púrpura redondeadas y marrones negruzco en las hojas, en las manchas en la periferia se desarrolla un conjunto de fibrillas que se ensancha y está rodeado por un halo amarillo y eventualmente decoloran toda la hoja. Incluso puede atacar los tallos que expresan decoloración en la corteza, formando marcas azules y negro oscuro. Las manchas negras son circulares con un borde perforado, y alcanzan un diámetro de 14 mm (Figura 6). Las plantas muy afectadas, sin embargo, no se mostrará el patrón circular, ya que se combinan para producir una masa grande, negra. Las manchas son una reacción de la planta al ataque del micelio del hongo que transporta pequeñas pústulas que son los cuerpos fructíferos del hongo, los acérvulos. Cada mancha 5 a 10 milímetros puede liberar hasta 30,000 esporas o conidias. El ataque sigue creciendo muy rápidamente y su ciclo es de una

semana. El más leve chapoteo (lluvia, riego) rompe los acérvulos causando la propagación del *Diplocarpon rosae* (Yokoya, 2012).

El tratamiento común de la enfermedad es eliminar las hojas afectadas y asperjar con soluciones antifúngicas. Algunos tallos de las rosas pueden llegar a ser afectados si no se trata, y causará un debilitamiento progresivo de la planta (Yokoya, 2012).



Figura 6. Mancha negra por *Diplocarpon rosae* Wolf en hojas de rosal.

4.4.7 *Botrytis cinerea* Pers. (Teleomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary)

Es el agente causal que provoca más daño al botón floral, origina la enfermedad denominada moho gris o tizón por *Botrytis* spp. (Fig. 7). Su desarrollo se ve favorecido por las bajas temperaturas y elevada humedad relativa, dando lugar a la aparición de un crecimiento fúngico sobre cualquier zona de crecimiento. Es necesario cuidar las posibles heridas originadas en las operaciones de poda, ya que son fácilmente afectadas por el patógeno. Para el control de la enfermedad resultan de gran importancia las prácticas preventivas y fumigaciones con productos a base de iprodione y pyrimethanil (Helpmefind, 2017).



Figura 7. Daños por *Botrytis cinerea* Pers.
Teleomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary en flor
de rosal.

Su fase sexual o teleomorfo es el ascomiceto *Botryotinia fuckeliana* mientras que su fase asexual es *Botrytis cinerea* (NCBI, 2017).

4.5 Clasificación taxonómica

La clasificación de *B. cinerea* se indica en el Cuadro 1:

Cuadro 1. Clasificación taxonómica actual de *B. cinerea*

Categoría	Nombre
Nombre común:	Moho gris
Nombre científico:	<i>Botrytis cinerea</i>
Supereino	Eucariota
Reino	Fungi
Subreino	Dicaria
Phylum	Ascomicotina
Subphylum	Pezyzomicotina
Clase:	Leotiomycetes
Orden:	Helotiales
Familia:	Sclerotiniaceae
Género:	Botrytis

Fuente: NCBI (2017).

4.5.1 Descripción morfología y ciclo de vida del hongo

El patógeno *B. cinerea* produce gran cantidad de micelio gris y varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, unicelulares, incoloros o de color gris. Los conidióforos y los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uvas. El hongo libera fácilmente sus conidios cuando el clima es húmedo, y luego, éstos son diseminados por el viento. El hongo a menudo produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro. Algunas especies producen, a veces, una fase perfecta de *Sclerotinia* spp., en la que las ascosporas se forman en un apotecio. *Botrytis cinerea* inverna en el

suelo en forma de esclerocios o de micelio, el cual se desarrolla sobre restos de plantas en proceso de descomposición. Al parecer, este hongo no infecta a las semillas, pero puede propagarse con las semillas contaminadas mediante esclerocios del tamaño de esas semillas o sobre restos de plantas a los que ha infectado. Las etapas de invernación también se propagan mediante cualquier cosa que mueva el suelo o los restos vegetales que pudieran portar esclerocios o micelio del hongo (Bayer, 2015). Este último requiere un clima húmedo y moderadamente frío (18 a 23° C) para que se desarrolle adecuadamente, esporule, libere y germinen sus esporas y para que produzca la infección (Figura 8).

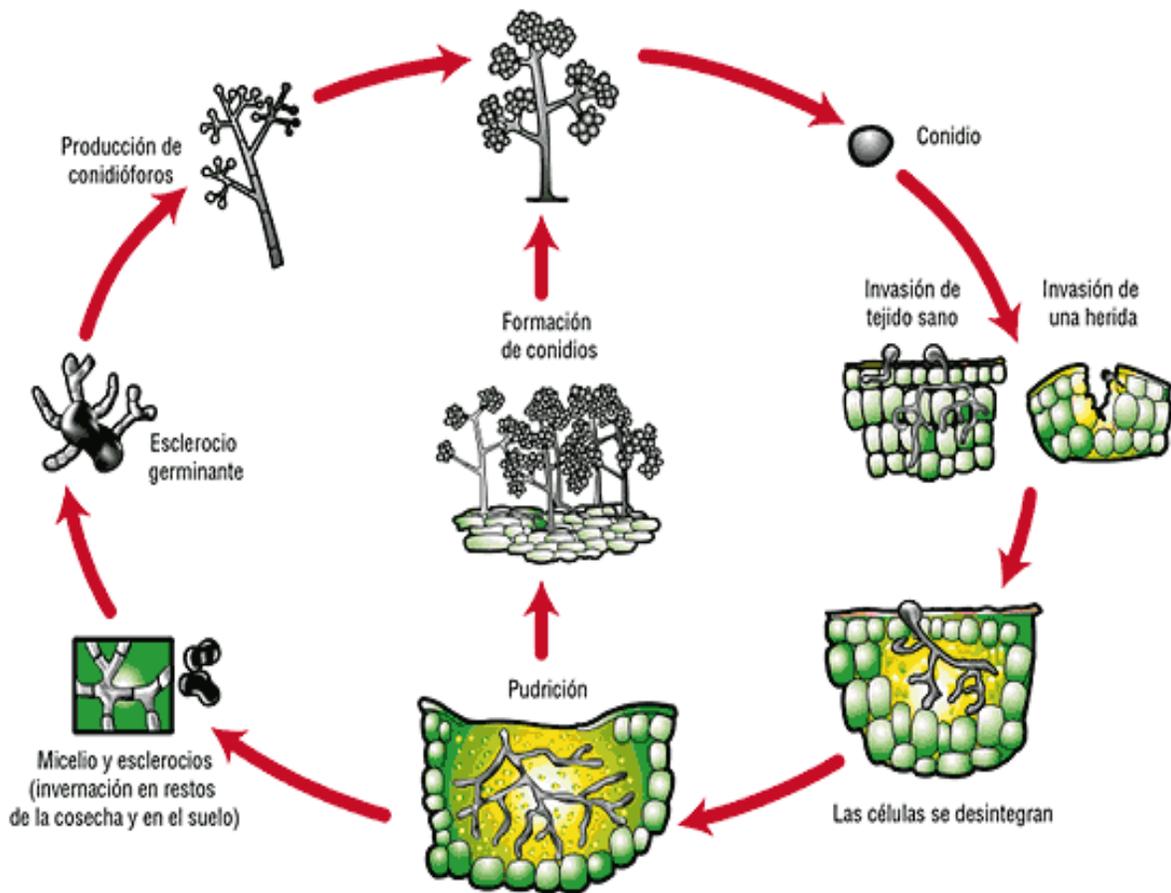


Figura 8. Ciclo de *Botrytis cinerea* Teleomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary según Bayer (2015).

El patógeno muestra actividad a bajas temperaturas y produce pérdidas considerables en productos almacenados durante largos periodos, aun cuando las temperaturas estén entre 0 y 10° C. Las esporas que han germinado rara vez penetran directamente en los tejidos que muestran un crecimiento activo, pero lo hacen en tejidos de la planta a través de heridas o después de que se han desarrollado durante un cierto tiempo y han formado micelio sobre los pétalos de flores senescentes, follaje moribundo de las plantas, escamas de bulbos muertos, etc. (Agrios, 1996).

Las especies de *Botrytis* causan comúnmente los llamados mohos grises. *B. cinerea* causa en ornamentales atizonamiento en los brotes y flores; se presentan generalmente en la mayoría de las flores, frutas y vegetales. En flores, las lesiones en el tallo se presentan de forma alargada hundida y oscura, pueden extenderse a través de éste hasta debilitarlo y ocasionar quebramiento. Bajo condiciones húmedas produce una capa fructífera con aspecto de moho gris sobre los tejidos afectados (Syngenta, 2015).

4.6 Extractos vegetales

El uso de extractos vegetales que se emplean como plaguicidas botánicos, constituye una estrategia de control dentro del MIP en la agricultura, pues ha sido demostrada su eficacia en la práctica, como también su capacidad de degradarse con facilidad sin dejar residuos contaminantes en el ambiente (Agrisan, 2017).

Para el manejo de plagas y deficiencias nutricionales en un cultivo, es importante tener en cuenta las prácticas culturales, fertilización equilibrada y la utilización de agroquímicos como una herramienta, pero debe descartarse como sistema único de control. Las plantas han sido capaces de protegerse de las plagas por sí mismas antes de que el hombre jugara un rol activo en protegerlas (Wilson, 1999). Se conoce que sintetizan gran variedad de metabolitos secundarios relacionados con los mecanismos de defensa. El proceso para obtener metabolitos secundarios de los extractos vegetales es variable; pueden ser extractos acuosos (Bautista, 2002) o polvos (Bautista, 2002), o utilizar otros disolventes para obtener diferentes compuestos, según su polaridad (Bautista, 2002). Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano. Entre estos compuestos

destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999). Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999). Montes (2000) evaluaron 206 especies vegetales contra 26 especies de hongos fitopatógenos, y encontraron que entre 32 y 51 % de las plantas evaluadas interactuaban con los hongos y causaban desde estimulación biológica hasta inhibición total. Si se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas son biodegradables e inocuos, y que en México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y más de 40 % de ellas son habitantes exclusivas del país (CONABIO, 1998), resulta conveniente explorar el potencial de empleo de sus extractos vegetales para controlar las enfermedades postcosecha.

4.7 Rovral

Es un fungicida de contacto, con capacidad de penetración en el tejido vegetal, sin ser sistémico. Afecta todas las fases del ciclo de desarrollo de los hongos patógenos. Impide la germinación de las esporas y bloquea el crecimiento del micelio e inhibe

la producción de los órganos fructíferos de esporas, evitando la dispersión de la enfermedad; varias funciones del hongo son afectadas produciendo cambios profundos en la infraestructura de la mitocondria y el retículo endoplásmico (FMC, 2018).

Su ingrediente activo, Ipodriona, pertenece a la familia de las Dicarboximidias, tiene amplio espectro de acción y actúa con excelente eficacia frente a moho gris (*Botrytis cinerea*), uno de los hongos que se encuentra presente en la plantas ornamentales. Puede aplicarse durante la floración, también se puede utilizar como tratamiento en post-cosecha debido a su espectro, de baja toxicidad y no mancha el follaje (FMC, 2018).

4.8 Área Bajo la Curva (ABCPE)

El área bajo la curva del progreso de enfermedad mide la intensidad de la enfermedad a través del tiempo, por comparación durante años, sitios o estrategias de manejos de alguna enfermedad. El método trapezoidal es el más usado para estimar la ABCPE, y consiste en discretizar la variable tiempo (horas, días, semanas, meses o años) y calcular el promedio de la severidad entre cada par de puntos adyacentes.

Podemos considerar los puntos de muestreo en una secuencia $\{t_i\}$, donde el intervalo de tiempo entre dos puntos puede ser constante o variar y, también tiene asociado una medida del nivel de enfermedad $\{y_i\}$. Definamos $(y(0) = y_0)$ como el nivel inicial de infección o enfermedad en $(t=0)$ (la primera medición de severidad en nuestro estudio). $(A(t_k))$, la ABCPE en $(t=t_k)$, es la enfermedad total acumulada hasta $(t=t_k)$, dada por:

$$A_k = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

(Lozano-Andrade, 2017).

DONDE:

A_k = ABCPE

t_i : Intervalo de tiempo entre las fechas de muestreo

y_i : Representa el nivel de la enfermedad

N : Es el número total de lecturas o fechas de muestreo

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización del experimento

La investigación se realizó en el invernadero No. 3 de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada en el Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México; con una ubicación geográfica de -99.679 N, 19.415833 W y con altitud de 2,623 msnm.

5.2 Obtención de los extractos

Los extractos se obtuvieron de hojas de vid silvestre de la accesión E-200, ubicada en el invernadero 6 de la Facultad de Ciencias Agrícolas el método de extracción utilizado fue por percolación a partir del material macerado con etanol. Del follaje recolectado (250 g) se maceró en una licuadora. El macerado, se humedeció con 850 ml de etanol. Los extractos obtenidos se colocaron en frascos de color ámbar (1,000 mililitros) y se dejaron reposar por 8 días, para ser usado en los diferentes tratamientos.

5.3 Obtención del inóculo

La cepa de *B. cinerea* fue caracterizado y proporcionado por el laboratorio de Fitopatología del ICAMEX. El medio de cultivo utilizado para incrementar y reaislarlo fue AVA (avena-agar). La preparación del medio de cultivo consistió en remojar 15 g de avena en 150 ml de agua destilada por 24 h. Posteriormente se hirvió durante media hora y se filtró la infusión a través de una manta de cielo para clarificar la solución, después se centrifugó durante 20 minutos a 300 RPM. Nuevamente se

decantó para liberar de sólidos producto de la centrifugación. Se disolvió el agar en 100 ml de agua destilada ligeramente caliente y se disolvió extracto de levadura, a esta solución se añadió la infusión de avena centrifugada, se mezcló bien y se aforó con agua destilada a 250 ml, finalmente se colocó en un frasco de un litro y se procedió a esterilizar en el autoclave.

Concluido el esterilizado del medio de cultivo, se colocó en cajas petri dentro de la campana de flujo laminar, el hongo fitopatógeno se sembró directamente sobre el medio de cultivo adicionando una rodaja del medio con *B. cinerea* sobre la caja Petri y se incubó a 24 °C para inducir su crecimiento y esporulación. Una cantidad de 2.5×10^6 conidio/mL se utilizó para el establecimiento de los diferentes tratamientos.

5.4 Establecimiento del experimento

Se establecieron macetas con capacidad de 2 L de volumen de sustrato (2 bultos de tierra de monte por 1 bulto de agrolita). En cada maceta se sembró rosas de variedad Santa Fe. Se establecieron 4 tratamientos y un testigo a base de agua (Cuadro 2), cada uno constó de cuatro repeticiones bajo un diseño de bloques completos al azar. La aparición del botón floral a los 3 meses de edad en todas las plantas fue el inicio de la aspersión, de los diferentes tratamientos de extractos de vid. A las 24 horas posteriores de la aspersión de dosis de extracto, se realizó la inoculación de *B. cinerea* colocando una concentración de la cepa de 2.5×10^6 en agua destilada dentro de un atomizador de un litro y asperjandolo por toda la planta de rosa. Las evaluaciones se realizaron cada 4 días (Cuadro 3), en donde se

cuantificó la severidad que se expresó en cada botón. Al término de la evaluación, se determinó la severidad media ponderada expresada en cada tratamiento. La severidad se evaluó mediante una escala diagramática arbitraria que constó de siete clases (Figura 9) establecidas con base al porcentaje de tejido con síntomas de la enfermedad, no existen antecedentes de esta escala. La severidad media ponderada se determinó con base a la suma total que resulta de multiplicación del número de botones por el valor de la clase de escala, dividida entre el total de botones evaluados en cada repetición.

Cuadro 2. Dosificación de los diferentes tratamientos utilizados

DOSIS			
TRATAMIENTO	EXTRACTOS	AGUA DESTILADA	EXTRACTO (%)
Tratamiento 1	100 mL	0 mL	100%
Tratamiento 2	80 mL	20 mL	80%
Tratamiento 3	40 mL	60 mL	40%
Tratamiento 4	2.5 gm de iprodiona	100 mL	2.5%
Tratamiento 5	0 mL	100 mL	0%

Cuadro 3. Fechas de evaluación de la severidad

Fecha	Días Después de la aplicación (DDA)
18 de Julio 2017	0
21 de Julio de 2017	4
25 de Julio de 2017	7
28 de julio de 2017	11
01 de Agosto de 2017	14
04 de Agosto de 2017	18
08 de Agosto de 2017	21

5.5 Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones por tratamiento.

Las variables a evaluar fueron incidencia final y severidad por cada fecha de evaluación.

Para evaluar la severidad de *Botrytis* en flor de rosa se utilizó la escala diagramática ilustrada en la Figura 9.

0. Pétalos sin síntomas visibles (0% daño).

1. Inicio de síntoma caracterizado por manchas color rojiza hasta 2 mm, que cubren hasta un 5% de área total de los pétalos. No hay cambios de color ni signos visibles del hongo (Rango 0.1-5.0% daño).

2. Se observan manchas rojizas a color café por arriba de los 2 mm en los bordes de los pétalos; cubriendo hasta un 10% del área de la flor. Sin presencia de signos del hongo (Rango 5.1-10.0% daño).

3. Síntomas caracterizados por manchas color café y presencia de marchitamiento de pétalos. Las manchas cubren hasta un 25% del área de la flor. Se inicia la formación de signos (Rango 10.1-25.0% daño).

4. Las manchas cambian a color café oscuro que se extienden a lo largo del pétalo, cubriendo hasta un 50% del área foliar. Los signos del patógeno son evidentes (Rango 25.1-50.0% daño).

5. Las manchas se presentan coloración café cubriendo los pétalos y el tallo. Los signos del patógeno son visibles (Rango 50.1-75.0%).

6. Hasta más de 75.1% de área de la flor presenta daños, con manchas colores café oscuro extendidos por todo el pétalo y se origina la formación de manchas de tejido seco. Los signos del hongo son abundantes (Rango 75.1>% daño).



Figura 9. Escala diagramática de severidad de *B. cinerea* Teleomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary en flor de rosal.

Al final del ensayo, se evaluó la incidencia de la enfermedad en cada tratamiento. La incidencia se determinó como el cociente que resultó de dividir el número de plantas afectadas por el total de plantas de cada repetición, multiplicado por 100.

El valor de la severidad de la enfermedad fue expresada en porcentaje considerando al punto medio de intervalo de cada rango para su análisis. Los valores de porcentaje de incidencia y severidad expresada en las hojas y botón floral de rosa se transformaron a logaritmo inverso para obtener la homogeneidad de las varianzas.

5.6 Análisis de los datos

Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA para determinar la posible diferencia significativa entre los tratamientos a una probabilidad de ≤ 0.05 . En los casos donde existió significancia estadística, se realizó la prueba de Tukey $\leq 0.05\%$ para la separación de medias.

5.7 Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE)

Se consideró el punto medio del intervalo de cada rango determinado para ser usado en el análisis ABCPE. Los valores de porcentaje de severidad expresada en las hojas y botones de rosa se transformaron con logaritmo inverso para obtener la homogeneidad de las varianzas.

Los valores transformados se usaron para calcular el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) (Madden *et al.*, 2006) de cada unidad experimental a través del programa R (Bivand *et al.*, 2008; R Core Team, 2012) usando la librería agricolae.

Los valores de la curva del progreso de la severidad se sometieron a un análisis de varianza para la comparación de nivel de daño entre tratamientos. El efecto de cada tratamiento de control fue determinando por medio del análisis de varianza (ANOVA) usando PROC GLM (SAS System ver. 9.2 Cary, N. C. USA). La separación de medias se realizó con la prueba de Tukey α 0.05%.

VI. RESULTADOS

El inóculo asperjado sobre las plantas en evaluación originó síntomas típicos del moho gris o tizón por *B. cinerea* en hojas y botón floral. La enfermedad se presentó en los 5 tratamientos a los 4 días después de la aplicación, indicativo de la agresividad del inóculo, e indicador de que las condiciones ambientales en donde se desarrolló el ensayo fueron adecuadas.

6.1 Severidad

El análisis de varianza para severidad expresada a los 4 días después de la aplicación indicó diferencia altamente significativa (Cuadro 4) por lo que al menos un tratamiento se comportó de forma diferente, y se procedió a la separación de medias.

Cuadro 4. Resultado de análisis de varianza para la variable severidad a los 4 días después de la primera aplicación.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F_c	P_r
					1%
Modelo	6	0.4022	0.0670	32.43	<.0001**
Error	8	0.0165	0.0020		
Total	14	0.4187			
C.V.	34.4				
Rep.	4	0.3981	0.0995	48.15	<.0001**
Trat.	2	0.0041	0.0020	1.00	0.4096 ^{Ns}

** Altamente significativo; ^{Ns}: no significativo

La separación de medias indicó que el tratamiento T3 presentó la mayor severidad de daño, siendo estadísticamente igual al concentrado de extracto de vid al 100% (Cuadro 5). Por otro lado, el tratamiento de vid al 80% originó la menor severidad de *Botrytis*, siendo estadísticamente igual al tratamiento químico y a testigo absoluto (agua).

Cuadro 5. Separación de medias para la variable severidad a los 4 días después de la aplicación.

Tratamiento	MED/T
Trat 3 concentrado 40%	10.9 a*
Trat 1 concentrado 100%	7.55 a
Trat 2 concentrado 80%	2.45 b
Trat 4 Químico (rovral)	2.45 b
Trat 5 Testigo	2.45 b

MED/T: severidad media por tratamiento

* Valores acompañados con la misma letra en la columna indican igualdad estadística. Tukey ($\alpha = 0.005$).

A los 7 días no se presentó diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 6). En términos numéricos, con el testigo químico se expresó la menor severidad de la enfermedad mientras que el concentrado al 40% expresó el mayor daño (Cuadro 7).

Cuadro 6. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 7 días después de la aplicación.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F _c	P _r
					1%
Modelo	7	0.1070	0.0152	0.96	0.4979 ^{Ns}
Error	12	0.1905	0.0158		
Total	19	0.2975			
C.V.	36.5155				
Anova ss					
Rep.	4	0.0873	0.0218	1.38	0.3000 ^{Ns}
Trat.	3	0.0196	0.0065	0.41	0.7464 ^{Ns}

^{N.s.}: no significativo

Cuadro 7. Valores medios para la variable severidad a los 7 días después de la aplicación.

Tratamiento	MED/T
Trat 3 concentrado 40%	14.25
Trat 2 concentrado 80%	10.9
Trat 1 concentrado 100%	10.9
Trat 5 testigo	7.55
Trat 4 Químico (rovral)	9.2

A los 11 días después de la aplicación, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 8). Sin embargo en términos numéricos, la mayor severidad se expresó en el concentrado al 100% (Cuadro 9), mientras que el testigo absoluto se presentó la menor severidad, efecto igual al observado en el muestreo previo.

Cuadro 8. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 11 días después de la aplicación.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F_c	P_r
Modelo	7	0.1868	0.0266	2.41	0.0869 ^{Ns}
Error	12	0.1331	0.0110		
Total	19	0.3200			
C.V.	23.7147				
Anova ss					
Rep.	4	0.0688	0.0172	1.55	0.2498 ^{Ns}
Trat.	3	0.118	0.0393	3.55	0.0480 ^{Ns}

N. s.: No significativo

Cuadro 9. Valores medios para la variable severidad a los 11 días después de la aplicación.

Tratamiento	MED/T
Trat 3 concentrado 40%	17.6
Trat 1 concentrado 100%	20.9
Trat 2 concentrado 80%	17.55
Trat 4 Químico (rovral)	17.55
Trat 5 Testigo	7.55

MED/T: media por tratamiento

El análisis de varianza indicó la no existencia de diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (Cuadro 10), por lo que no existió diferentes en términos estadísticos entre los diferentes tratamientos de control evaluados.

Cuadro 10. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 14 días después de la aplicación.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F_c	P_r
Modelo	7	0.2250	0.0321	1.25	0.3498 ^{Ns}
Error	12	0.3085	0.0257		
Total	19	0.5336			
C.V.	32.90				
Anova ss					
Rep.	4	0.1494	0.0373	1.45	0.2767 ^{Ns}
Trat.	3	0.0756	0.0252	0.98	0.4344 ^{Ns}

N. s.: no significativo

En el Cuadro 11, se observó que el tratamiento a base del concentrado de vid silvestre al 100% presentó la mayor severidad de la enfermedad a los 14 días después del trasplante. La menor cantidad de enfermedad se presentó en el testigo absoluto (agua). A pesar de existir una diferencia de 35% en el nivel de severidad entre el concentrado 80% y testigo químico con respecto al testigo, en términos estadísticos fueron similares.

Cuadro 11. Valores medios para la variable severidad a los 14 días después de la aplicación.

Tratamiento	MED/T
Trat 1 concentrado 100%	43.5
Trat 3 concentrado 40%	24.2
Trat 2 concentrado 80%	25.8
Trat 4 Químico (rovral)	25.8
Trat 5 Testigo	7.5

MED/T: media por tratamiento

El análisis de varianza a los 18 días después de la aplicación indicó la existencia de diferencia significativa (cuadro 12).

Cuadro 12. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 18 días después de la aplicación.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F _C	P _r
Modelo	7	0.5003	0.0714	3.06	0.0430*
Error	12	0.2803	0.0233		
Total	19	0.7807			
C.V.	27.32				
		Anova ss			
Rep.	4	0.3225	0.0806	3.45	0.0426*
Trat.	3	0.1778	0.0592	2.54	0.1058 ^{Ns}

* Altamente significativo; N. s.: No significativo

Los valores medios a los 18 días indicaron que el tratamiento con menos severidad expresada fue determinada en el testigo. Los extractos al 100 y 40% no mostraron efecto en reducir la expresión de la enfermedad, respecto al muestreo anterior (Cuadro 13), aunque en el extracto al 40% el incremento fue evidente en un 16% de la cantidad de tejido dañado. La severidad determinada con extracto al 100% el testigo, mantuvo su valor, es decir, no se observó un incremento en el daño.

Cuadro 13. Valores medios para la variable severidad a los 18 días después de la aplicación.

Tratamiento	MED/T
Trat 3 concentrado 40%	58.38 a*
Trat 1 concentrado 100%	43.4 a
Trat 2 concentrado 80%	30.05 ab
Trat 4 Químico (rovral)	33.4 ab
Trat 5 Testigo	7.5 b

MED/T: media por tratamiento

* Valores acompañados con la misma letra en la columna indican igualdad estadística. Tukey ($\alpha = 0.005$).

El análisis de varianza realizado en la severidad registrada a los 21 días después de la aplicación, indicó la existencia de diferencias significativas (Cuadro 14), por lo que al menos un tratamiento se comportó diferente en términos estadísticos.

Cuadro 14. Resultado del análisis de varianza para la variable severidad a los 21 días después de la aplicación.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F_c	P_r
Modelo	7	0.5906	0.0843	3.65	0.0239*
Error	12	0.2772	0.0231		
Total	19	0.8679			
C.V.	25.61				
Anova ss					
Rep.	4	0.4760	0.1190	5.15	0.0119*
Trat.	4	0.1146	0.0382	1.65	0.2295 ^{N. s.}

** Altamente significativo; ^{N. s.}: No significativo

La severidad determinada a los 21 días después de la aplicación indicó que el tratamiento testigo presentó la menor severidad de la enfermedad, con un continuo incremento desde los 7 días después de la aplicación, mientras que el concentrado al 100% presentó la mayor severidad, que fue estadísticamente diferente al concentrado del 80% y al testigo (Cuadro 15). Es pertinente mencionar que el

tratamiento químico expresó un nivel de severidad estadísticamente similar al concentrado al 80% y testigo.

Cuadro 15. Separación de medias para la variable severidad a los 21 días después de la aplicación.

Tratamiento	MED/T
Trat 1 concentrado 100%	75.05 a*
Trat 3 concentrado 40%	62.55 ba
Trat 4 químico (rovral)	40.05 bac
Trat 2 concentrado 80%	30.05 bc
Trat 5 Testigo	7.55 c

MED/T: media por tratamiento

* Valores acompañados con la misma letra en la columna indican igualdad estadística. Tukey ($\alpha = 0.005$).

En la Figura 10 se muestra el progreso de severidad a través del tiempo expresada en rosa variedad Santa Fe ante el efecto de diferentes concentraciones de extractos de vid silvestre.

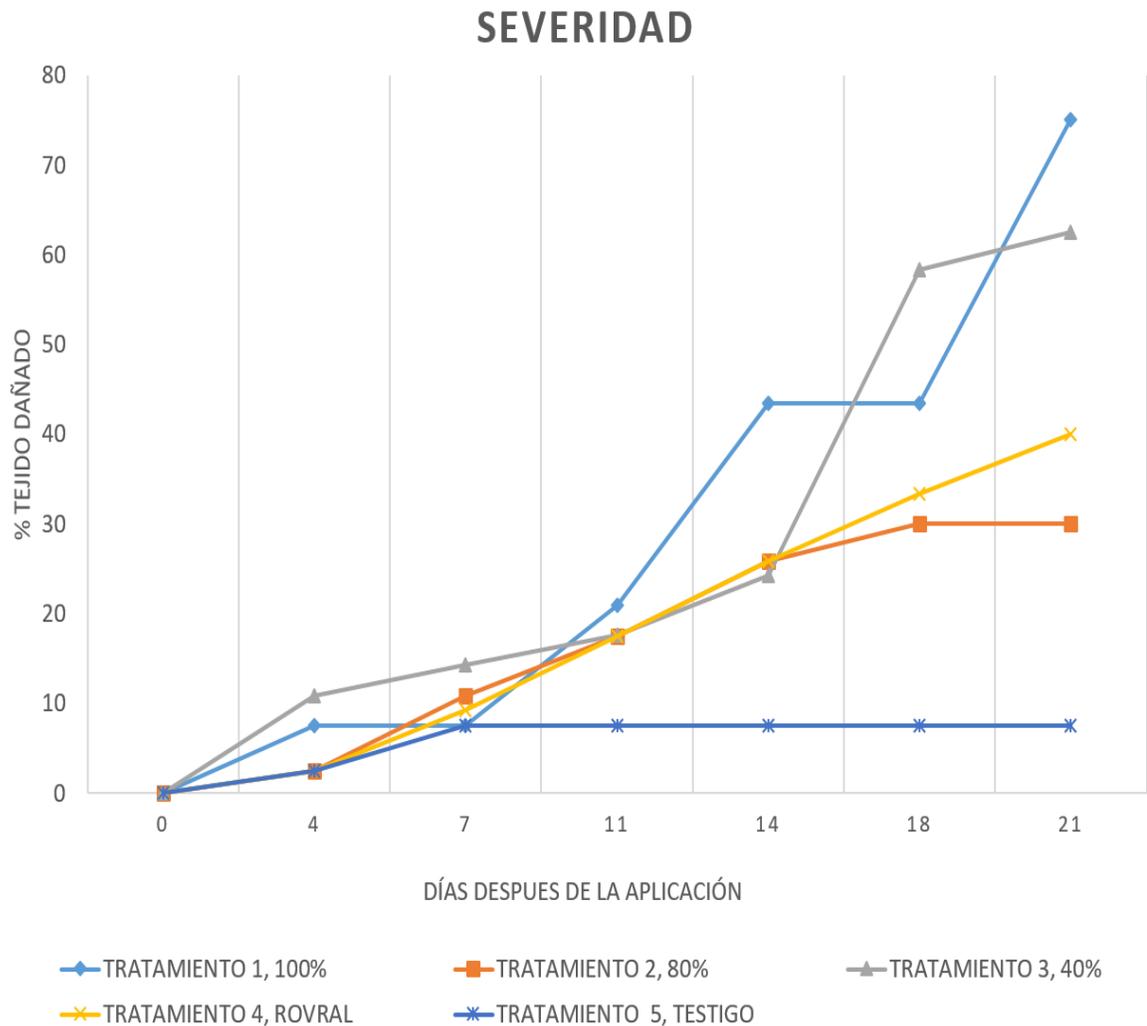


Figura 10. Curva de progreso de severidad a través del tiempo.

6.2 Incidencia final

El análisis de varianza indicó la no diferencia significativa entre los tratamientos. La mayor incidencia de tizón por *Botrytis* se presentó en el testigo aunque con menor

daño o severidad, en términos numéricos, seguido del concentrado al 40%. La menor incidencia, se presentó en la concentración del 80% (Fig. 11). Aunque estadísticamente todos los tratamientos fueron iguales.

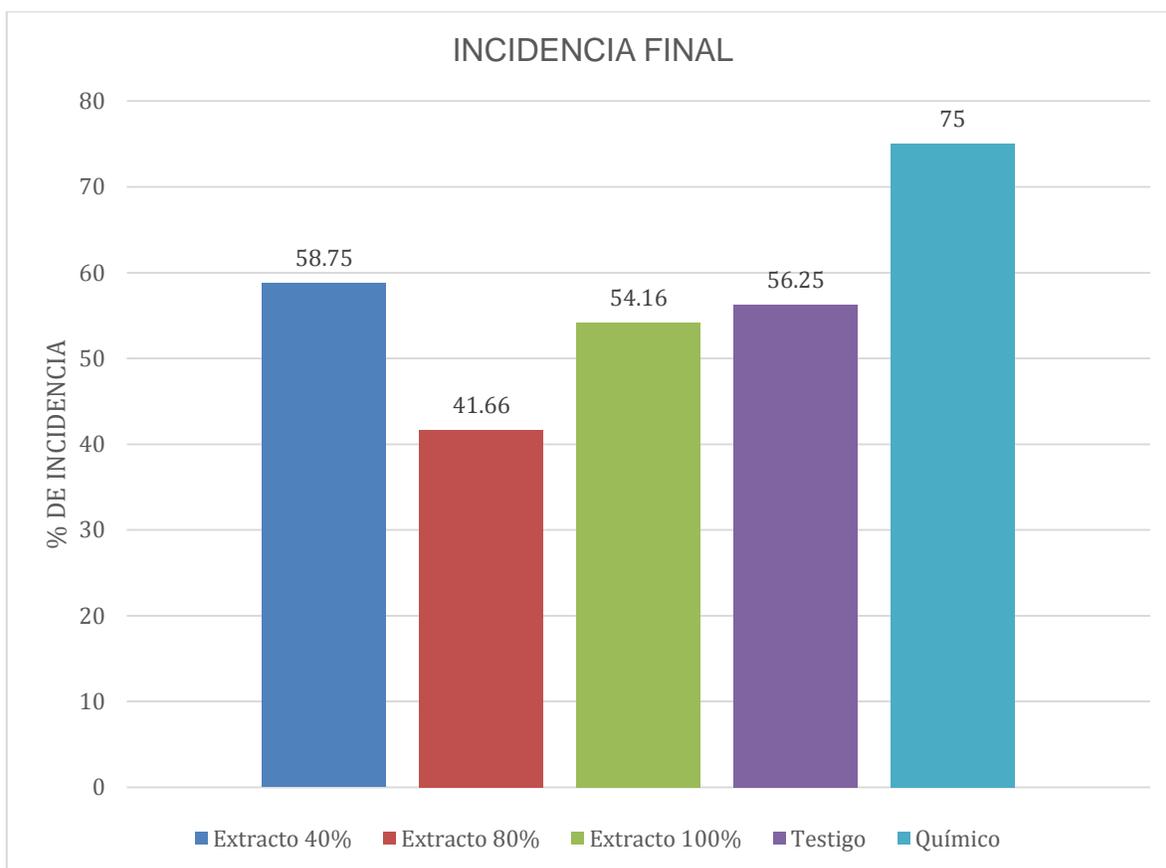


Figura 11. Resultado de Incidencia final (%) determinada en los diferentes tratamientos.

6.3 Área bajo la curva

El análisis de varianza para el ABC de progreso de la severidad en los diferentes tratamientos evaluados, indicó la existencia de diferencia significativa (Cuadro 16).

Cuadro 16. Resultados de análisis de varianza para la variable área bajo la curva del progreso de severidad de Tizón por *Botrytis* en los diferentes tratamientos evaluados.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F_c	P_r
Modelo	7	86.01	12.28	3.37	0.0315*
Error	12	43.77	3.64		
Total	19	129.78			
C.V.	24.02				

*Diferencia significativa al 0.05%

Se observó que el tratamiento con menor área bajo la curva fue el testigo, sin tratamiento de control, seguido del tratamiento químico y del concentrado al 80%. La mayor área bajo la curva se determinó en el concentrado al 40% (Cuadro 17).

Cuadro 17. Área bajo la curva del progreso de severidad.

Tratamiento	ABCPSEV
Trat 3 Concentrado 40%	10.18 a*
Trat 1 concentrado 100%	9.53 ab
Trat 2 concentrado 80%	7.50 ab
Ttrat 4 Químico	7.15 ab
Trat 5 Testigo	5.36 b

ABCSEV: Área bajo la curva del progreso de la severidad

*Valores acompañados con la misma letra en la columna indican igualdad estadística, Tukey ($\alpha = 0.005$).

VII. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con los extractos de vid silvestre, originaron la menor curva de progreso de la enfermedad con respecto al testigo químico, es decir, existe un retraso en el desarrollo de la enfermedad; se observó una acción antifúngica al evitar el desarrollo de síntomas con el concentrado al 80% por lo que es factible de ser considerada dentro del manejo de enfermedades del cultivo de rosa. A la fecha no existe un producto a base de extracto de vid en el mercado Mexicano (Agroquímicos de México, 2017). Además, estos compuestos no generan residuos en el ambiente porque tienen la capacidad de degradarse con facilidad (Agrisan, 2017).

Una de las características que se deben indagar sobre el extracto de vid es su contenido de flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999). En rosal, el efecto contra el desarrollo de *Botrytis* spp. se expresó con la dosis de 80%, contrario a lo reportado por López-Ramírez (2018) que menciona que el mejor control del hongo fue con la dosis de 100% de extracto en gladiolo.

Es posible que los extractos de vid ejerzan un efecto en la estimulación de los mecanismos de resistencia en rosal, debido a que la planta mantuvo el mismo nivel de severidad a través del tiempo con el extracto al 80%, lo que sugiere un efecto fungicida al contrarrestar el efecto del hongo en la lesión, así como un posible efecto antiesporulante tal como lo menciona Apolonio-Rodríguez *et al.* (2017), ya que no

hubo aparición de nuevas lesiones que se reflejara en un cambio del valor de la severidad de una fecha a otra, además de considerar un posible efecto estimulante sobre las defensas de rosal, y defensa innata de la planta considerando que han sido capaces de protegerse de las plagas por sí mismas antes de que el hombre jugara un rol activo en protegerlas (Wilson, 1999).

Se observó que el tratamiento al 100% mostró niveles mayores de severidad durante las diferentes fechas de muestreo, por el contrario, los tratamientos que expresaron la menor severidad fueron la concentración al 80% y el testigo, indicativo que expresaron alguna inhibición del desarrollo del hongo, que impacta en la expresión de los síntomas de la enfermedad en la planta.

El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999), en la inhibición de la producción de órganos fructíferos de esporas, se evita la dispersión de la enfermedad, la aparición de nuevas lesiones y menor severidad.

Contrario a lo reportado por López-Ramírez (2018) en el que se esperaba que a una mayor dosis una mayor inhibición en el daño por la enfermedad, en el caso de rosal variedad Santa Fe se encontró que el supuesto anterior no se ajusta, ya que únicamente la dosis al 80% fue la que redujo el daño. También, es de llamar la

atención, que en el testigo se presentó menor daño pero permitió una mayor incidencia de la enfermedad, por lo que a una mayor dosis (100%) no evito el desarrollo de nuevas infecciones en otras partes de la planta.

Reportes referentes al efecto del extracto de vid (Apolonio- Rodríguez *et al.*, 2017) y Rovral (Iprodiona) (FMC, 2018) indican que impiden la germinación de las esporas al bloquear el crecimiento del micelio e inhibir la producción de los órganos fructíferos de esporas, evitando la dispersión de la enfermedad; y por lo tanto el desarrollo de la severidad, varias funciones del hongo son afectadas produciendo cambios profundos en la infraestructura de la mitocondria y el retículo endoplásmico.

El hecho de presentar una menor curva de progreso de la enfermedad permite inferir el efecto de retraso en el desarrollo de los síntomas, por lo que el uso continuo de extractos al 80% durante la etapa de crecimiento de la rosa permitirá reducir la pudrición de la flor por *B. cinerea*, tanto en producción de invernadero y en postcosecha. Cowan (1999) indicó que el proceso para obtener metabolitos secundarios de los extractos vegetales en los productos derivados de las plantas han mostrado un efecto inhibitorio en *B. cinerea*.

En este sentido, Álvarez (2012) menciona que los extractos de fresa presentaron potencial para ser utilizados en el control de *B. cinerea* en postcosecha, al reducir aproximadamente un 40% la producción de biomasa en *In vitro*, además inhibieron la formación de esporas del hongo, una parte importante del ciclo de vida e infección del hongo, así como reducir la enfermedad en frutos de fresa en postcosecha.

Otro posible mecanismo de acción de los extractos de vid son la toxicidad que expresan los fenoles en microorganismos, que se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos (Cowan, 1999). Con base a lo anterior, los extractos de vid silvestre es un recurso filogenético de México que presenta una utilidad adicional para el desarrollo de la agricultura alternativa nacional, en especial para el área florícola del sureste del Estado, además de una potencial y posible fuente de ingreso para los productores que cuenten o siembren plantas de vid silvestre; además los extractos pueden ser considerados una opción natural de reemplazo al uso de sustancias químicas que no dañan al ambiente.

VIII. CONCLUSIÓN

Los extractos obtenidos de hojas de vid silvestre (*Vitis* ssp.) al 80% mostraron actividad antifúngica en *B. cinerea* en rosal variedad Santa Fe bajo condiciones de invernadero, así como la menor curva de progreso de la enfermedad e incidencia.

Los extractos de vid silvestre representan una alternativa biológica para el control de *Botrytis cinerea* en rosal.

Con extractos de vid es necesario profundizar la investigación para determinar otros efectos que ejerzan en los cultivos florícolas, como es la estimulación de mecanismos de resistencia.

IX. RECOMENDACIONES

En los diferentes tratamientos de extractos se observó menor incidencia de plagas insectiles, respecto al testigo específicamente pulgón, por lo que se sugiere evaluar su efecto hacia los insectos.

X. BIBLIOGRAFÍA

Agrisan. 2017. Programa de Manejo Para Cultivo de Flores con Tecnologías Limpias.

Pág. 39 Disponible en: www.agrisan.com. Consultado el 4 de Julio 2017.

Agrios, G. N. 1996 Fitopatología. Ed. Limusa S.A. México. Disponible en:

<https://infoagronomo.net/fitopatologia-gn-agrios-pdf/>. Consultado el 17 de agosto de 2017.

Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. New York, USA.

922 p. Disponible en. www.redalyc.org/pdf/302/30248292010.pdf Consultado el 17 de Agosto del 2017.

Agroquímicos de México. 2017. Disponible en:

https://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/company_index

Consultado el 23 de Abril 2018.

Álvarez, T. 2012. Biocontrol de *Botrytis cinerea* a partir de extractos fenólicos de

fresa. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán. Disponible en

<http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/1234589/12245> Consultado el 23 de

Febrero de 2018.

Apolonio-Rodríguez I, Franco-Mora O., Salgado-Siclan M.L., Aquino-Martinez, J. C. 2017. *In vitro* Inhibition of *Botrytis cinerea* with extracts of wild grapevine (*Vitis* spp.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 170-185.

Arguedas, M. 2009. Plagas y enfermedades forestales. Kurú: *Revista Forestal (Costa Rica)* 6 (16): 25 pp. Consultado el 7 de Junio 2017.

Bayer, 2015. Ciclo de *Botrytis cinerea*. Disponible en: https://www.google.com.mx/search?q=botrytis+cinerea+ciclo+de+vida&rlz=1C1CHZL_esMX745MX745&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKewju_86LypvXAhUqiVQKHT7uCj4QsAQIJQ&biw=1600&bih=794#imgrc=lyaPu1kOz4o7GM. Consultado el 31 de octubre de 2015.

Bautista, S. 2002. Antifungal screening of plants of the state of Morelos, México against four fungal postharvest pathogens of fruits and vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 18: 26 p. Consultado el 7 de Junio 2018.

Bender, C. L. and Coyier, D. L. 1985. Heterothallism in *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 84: 647-652. Consultado el 8 de Junio 2018.

Berkeley, J. M. 1862. Fungi on rose leaves. *Gardener's Chronicle*: 307-308. Disponible en: <file:///E:/mildiu.pdf>. Consultado el 1 de Agosto 2017.

Bivand, R., Pebesma E. and Gómez-Rubio, V. 2008. Applied spatial data analysis with R. Springer, New York. 374 pp.

Castaño, J. 2002. Principios básicos de epidemiología. Editorial Trillas 253 p.
Disponibile en <https://es.slideshare.net/savvspiner/principios-basicosdeepidemiologia>. Consultado el 3 de Julio de 2017.

CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) 1998. La diversidad biológica de México. “Estudio de país” Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030202>. Consultado el 4 de Febrero 2018.

Cowan, M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 10.
Disponibile en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030202>. Consultado el 4 de Febrero 2018.

Domínguez-García, F. 1993. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. 9ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 821 p.

FMC. 2018. FMC agroquimicos Disponible en <http://www.fmcagroquimica.com.mx/rovral>. Consultado el 14 de Febrero de 2018.

Helpmefind. 2017. Disponible en <http://www.helpmefind.com/rose/index.php>. Consultado el 15 de Agosto de 2017.

Horst, R. K., and Cloyd, R. A. 2007. Compendium of Rose Diseases and Pests. Second Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.

Infoagro, 2018. Cultivo de rosa. Disponible en http://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_rosa.asp. Consultado el 14 de Febrero de 2018.

Ibarra, G. J. 1999. Comparación de dos cortes y tres tipos de poda y su influencia en las características agronómicas de rosas. *Agraria* 15(2): 68 p.

Kamoun, S. 2003. Molecular genetics of pathogenic Oomycetes. *Eukaryotic Cell*. Disponible en. <file:///E:/mildiu.pdf>. Consultado el 2 de Agosto de 2017.

López-Ramírez, F. 2018. Control de *Botrytis* sp. (Telomorfo: *Botryotinia fuckeliana*) en gladiolo Var. Borrega roja con extracto de vid silvestre. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. 59 pág.

Lozano-Andrade, C. N. 2017. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad en R.

Disponible en: <http://rparamicrobiologos.blogspot.mx/2013/11/audpc-en-r.html>.

Consultado el 2 de Diciembre de 2017.

Madden, L.V., Hughes, G. and van den Bosch, F. 2006. The study of plant disease

epidemics. APS press. American phytopathological society. St Paul, Minnesota,

USA. Pág. 506.

Montes, R. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis

retrospectivo de investigaciones. Revista Mexicana de fitopatología 18.

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030202>. Consultado el

4 de Febrero 2018.

NCBI (National Center of Biotechnology Information). 2017. Disponible en:

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=40559&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock)

[40559&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=40559&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock). Consultado 09 de Agosto

de 2017.

NCBI. (National Center of Biotechnology Information). 2014. Taxonomy browser.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>. Consultado 20

de Enero 2018.

Pardo, V. 1995 Hongos fitopatógenos de Colombia. Medellín, Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/rt/printerFriendly/.../50620. Consultado el 15 de agosto de 2017.

Perera, R. G., and Wheeler, B. E. J. 1975. Effect of water droplets on the development of *Sphaerotheca pannosa* on rose leaves. Trans. Br. Mycol. Soc. 64: 313-319.

R Core Team. 2012. A language for modeling and environment for statistical computing. R Foundation for Statical Computing, Viena Austris. Disponible en: URL: <http://www.R-proyect-org/>; Fecha de consulta: 9 de Diciembre 2017.

SICA (Sistema Integral de Control Agroalimentario). 2007. Disponible en: <http://www.sica.gov.ec/cadenas/flores/index.html>. Consultado el 3 de Julio de 2017.

Soto-Alvarado, R. y García-Frías, A. 2009. El Estado de México confirma su liderazgo en floricultura. Nuestros Rincones y Tradicionales Pág. 2(20-21). Disponible en: <http://www1.edomex.gob.mx/revistareconocer/rec66/pdf/20-21.pdf>. Consultado el 11 de Febrero de 2018.

Syngenta. 2015. Control de Botrytis (*Botrytis cinerea*) y Mildiu vellosa (*Peronospora sparsa*) en el cultivo de rosa (*Rosa* sp Variedad Forever youn G) mediante el

uso de *Trichoderma harzianum* Rifai. Disponible en:
<http://www.syngenta.com.co/framecentsolProbBiol.asp?cod=18&pais=1>.
Consultado el 5 de Agosto de 2017.

Yong, A. 2014. El cultivo del rosal y su propagación. San José de las Lajas, La Habana. Cultivos tropicales. 53 p. Consultado el 16 de febrero 2018.

Yokoya, K. 2012. Resistance of roses to pathotypes of *Diclocarpon rosae*. *Annals of Applied Biology*. 136 p. Consultado el 5 de Noviembre 2018.

Watkins, J. E. 1990. G90-979 Powdery mildew of roses. Historical Materials from University of Nebraska-Lincoln Extension. Disponible en:
<http://digitalcommons.unl.edu/extensionhist/1259>. Consultado el 11 de Julio 2017.

Whitaker, V. M., and Hokanson, S. C. 2009. Breeding roses for disease resistance. In: Janick, J. (ed). *Plant Breeding Reviews*. Vol. 31. Board. New York, USA. pp: 277-324. Disponible en: www.redalyc.org/pdf/302/30248292010.pdf. Consultado el 5 de Julio 2017.

Wilson, C. 1999. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Journal Plant Disease*, 81: 210 p.

XI. ANEXOS



Ilustración 1. Flor de rosal variedad Santa Fe



Ilustración 2. Síntomas iniciales de *Botrytis* en rosal variedad Santa Fe.



Ilustración 3. Daño causado por *Botrytis* en rosal variedad Santa Fe.



Ilustración 4. Pudrición en flor, tallos y hojas en rosal variedad Santa Fe.



Ilustración 5. Botón floral afectado por pudrición en rosal variedad Santa Fe.



Ilustración 6. Órgano cubierto por moho gris.



Ilustración 7. Pedúnculo momificado.



Ilustración 8. Botón afectado por pudrición.



Ilustración 9. Pudrición en toda la planta de rosal, variedad Santa Fe.



Ilustración 10. Desarrollo del hongo.



Ilustración 11. Daño ocasionado por pudrición en botón floral de rosal.



Ilustración 12. Pudrición en rosal.