



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**

**MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**RESPUESTAS DE DEFENSAS ESTIMULADAS POR INDUCTORES  
QUÍMICOS A *Podospaera pannosa* (Wallr.) Lévy. EN EL CULTIVO DE  
ROSA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**PRESENTA:**

**DANIEL DOMÍNGUEZ SERRANO**

**Tenancingo, Estado de México. Mayo de 2016**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**

**MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**RESPUESTAS DE DEFENSAS ESTIMULADAS POR INDUCTORES  
QUÍMICOS A *Podospaera pannosa* (Wallr.) Lévy. EN EL CULTIVO DE  
ROSA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**PRESENTA:**

**DANIEL DOMÍNGUEZ SERRANO**

**COMITÉ DE TUTORES**

**DR. RÓMULO GARCÍA VELASCO  
DRA. MARTHA ELENA MORA HERRERA  
DRA. MARTHA LIDYA SALGADO SICLAN**

**Tenancingo, Estado de México. Mayo de 2016**

La presente tesis titulada "Respuestas de defensas estimuladas por inductores químicos a *Podosphaera pannosa* (Wallr.) Lév. en el cultivo de rosa" fue realizada por Daniel Domínguez Serrano para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. La investigación fue supervisada y aprobada por el siguiente comité tutorial:

#### Tutor Académico

Dr. Rómulo García Velasco

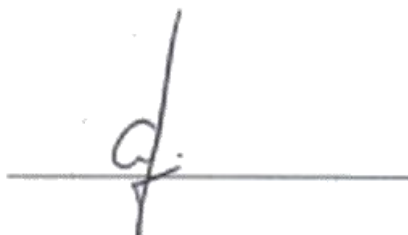
Firma  


#### Tutores adjuntos

Dra. Martha Elena Mora Herrera



Dra. Martha Lidya Salgado Siclan



Tenancingo, Estado de México. Mayo de 2016

## DEDICATORIA

### **A mi esposa:**

Nohemi de la Cruz Linares, por su comprensión y paciencia, pero sobre todo por el apoyo y motivación que me brindó en todo momento. Gracias por estar a mi lado. ¡Este logro es de los dos!

### **A mis hijos:**

Daniela Nohely Domínguez de la Cruz y Santiago Danilo Domínguez de la Cruz, que han sido mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que la vida nos depara un mejor futuro. ¡Gracias por el tiempo que a ustedes les pertenecía y que altruistamente me concedieron!

### **A mis padres:**

María de Lourdes Serrano Guadarrama y Martín Domínguez Lara, por los grandes esfuerzos que hicieron para ayudarme a salir adelante. ¡Muchos de mis logros se los debo a ustedes!

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios**, por haberme guiado a lo largo de mis estudios de Doctorado y por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad.

**A la Universidad Autónoma del Estado de México** a través del Centro Universitario Tenancingo, por las facilidades brindadas para la realización de esta investigación.

**Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el financiamiento de mis estudios de Doctorado.

**Al Doctor Rómulo García Velasco**, por su apoyo incondicional e invaluable dirección en la planeación, ejecución y culminación de esta investigación. Gracias por haber sido parte de mi formación profesional.

**A la Doctora Martha Elena Mora Herrera**, por su amistad y valiosas aportaciones durante mi trabajo de investigación.

**A la Doctora Martha Lidya Salgado Siclan**, por su generosa disposición de permitirme trabajar en su laboratorio y orientarme en la parte molecular de esta investigación. “Gracias por su confianza”

**Al Doctor Justino Gerardo Gonzalez Díaz**, por sus valiosos aportes en la parte estadística de este trabajo.

**A la M. en C. Grisel Domínguez Arizmendi**, por el apoyo brindado en el registro de la secuencia en el GenBank.

Finalmente, agradezco a todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron a la realización de esta tesis.

## RESUMEN

La cenicilla del rosal causada por *Podosphaera pannosa* es una de las enfermedades fungosas más comunes. En la presente investigación se planteó el uso del silicio, fosfito de potasio y quitosano como alternativas para el manejo de la enfermedad. Los objetivos del trabajo fueron: confirmar morfológica y molecularmente la identidad del agente causal de la cenicilla en rosal var. Samourai®, evaluar el efecto del silicio, fosfito de potasio, quitosano y acetato de dodemorf sobre la incidencia y severidad del patógeno, cuantificar su efecto en la longitud, diámetro de tallo y botón floral y determinar algunas respuestas de defensa en la actividad enzimática de la peroxidasa y polifenoloxidasas, así como en el contenido de compuestos fenólicos totales. Los resultados mostraron que *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary fue identificado como el agente causal de la cenicilla del rosal. La secuencia generada (GenBank No. KP902716) mostró similitud del 99 al 100 % con secuencias de la misma especie. Los tratamientos con fosfito de potasio, silicio y quitosano a dosis de 2, 3 y 2.5 mL L<sup>-1</sup> respectivamente, redujeron la incidencia y severidad de la enfermedad, pero sólo el fosfito de potasio y silicio presentaron un control similar al proporcionado por el fungicida acetato de dodemorf. El tratamiento con quitosano incrementó la longitud, diámetro de tallo y de botón floral con relación a los tratamientos con fosfito de potasio y silicio, pero no fue diferente del testigo. La actividad enzimática de la POX se incrementó significativamente en las plantas tratadas con silicio (46.7 %) a los 8 dai, pero a los 30 ddi se observaron incrementos significativos en los tratamientos con silicio (20.8 %), fosfito de potasio (16.7 %) y quitosano (12.5 %) con respecto al testigo. En la actividad enzimática de la PFO no se observaron cambios entre los tratamientos. Con respecto, al contenido de compuestos fenólicos totales, a los 30 ddi se observó un incremento significativo en las plantas tratadas con fosfito de potasio y acetato de dodemorf del 40.2 y 37.7 % respectivamente, contrastando con el testigo. Con base a los resultados, el fosfito de potasio, silicio y quitosano pueden ser alternativas para el manejo de la cenicilla del rosal en condiciones de invernadero.

## ASBTRACT

The rose powdery mildew caused by *Podosphaera pannosa* is one of the most common fungal diseases. In this research the use of silicon, potassium phosphite and chitosan as strategies for disease management was suggested. The aims of this work were to morphologically and molecularly confirm the identity of the causal agent of powdery mildew in rosebush var. Samourai<sup>®</sup>, evaluate the effect of silicon, potassium phosphite, dodemorph acetate chitosan and on the incidence and severity of the pathogen, quantify their effect on the length, diameter of stem and flower bud and determine some defense responses in the enzymatic activity of peroxidase and polyphenol oxidase, and the content of total phenolic compounds. The results showed that *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary was identified as the causal agent of powdery mildew of the rose bush. The generated sequence (GenBank No. KP902716) showed similarity of 99 to 100 % with sequences of the same species. Treatments with potassium phosphite, silicon and chitosan at doses of 2, 3 and 2.5 mL L<sup>-1</sup> respectively, reduced the incidence and severity of disease, but only potassium phosphite and silicon exhibited similar to that provided by the fungicide dodemorph acetate control. The treatment with chitosan increased the length, diameter of the stem and flower bud in relation to treatments potassium phosphite and silicon, but was not different from control. The enzymatic activity of the POX is significantly increased in plants treated with silicon (46.7 %) at 8 dai, but 30 ddi significant increases were observed in treatments with silicon (20.8 %), potassium phosphite (16.7 %) and chitosan (12.5 %) compared with the control. In the enzymatic activity of PFO no changes are observed between treatments. With respect, to the content of total phenolic compounds, 30 ddi a significant increase was observed in plants treated with potassium phosphite and dodemorph acetate of 40.2 and 37.7 % respectively, contrasting with the control. Based on the results, potassium phosphite, silicon, and chitosan may be alternatives for managing the rose powdery mildew under greenhouse conditions.

## CONTENIDO

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>ii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>iv</b>
<b>ASBTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1. La familia Rosaceae.....	<b>3</b>
2.2. Historia de las rosas .....	<b>3</b>
2.3. Taxonomía.....	<b>4</b>
2.4. Origen y distribución del rosal .....	<b>5</b>
2.5. Importancia de la <i>Rosa</i> spp.....	<b>6</b>
2.6. Enfermedades de la <i>Rosa</i> spp. ....	<b>7</b>
2.7. El mildiu polvoso ( <i>Podospaera pannosa</i> (Wallr.: Fr.) de Bary) .....	<b>8</b>
2.7.1. Clasificación taxonómica .....	<b>8</b>
2.7.2. Morfología .....	<b>8</b>
2.7.2.1. Estado anamorfo.....	<b>9</b>
2.7.2.2. Estado teleomorfo.....	<b>9</b>
2.7.3. Ciclo de la enfermedad.....	<b>10</b>
2.7.4. Condiciones ambientales para el desarrollo de <i>P. pannosa</i> .....	<b>12</b>
2.7.5. Sintomatología.....	<b>12</b>
2.7.6. Manejo de la cenicilla en <i>Rosa</i> spp. ....	<b>13</b>
2.7.6.1. Control cultural .....	<b>13</b>
2.7.6.2. Control químico .....	<b>14</b>
2.7.6.3. Control biológico.....	<b>15</b>
2.7.6.4. Otras alternativas .....	<b>17</b>
2.8. Uso del silicio .....	<b>18</b>
2.9. Uso del fosfito de potasio .....	<b>19</b>
2.10. Uso del quitosano .....	<b>21</b>
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>24</b>
<b>IV. HIPÓTESIS</b> .....	<b>26</b>



<b>V. OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
5.1. Objetivo general .....	<b>26</b>
5.2. Objetivos específicos .....	<b>26</b>
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>VII. RESULTADOS</b> .....	<b>28</b>
7.1. CAPÍTULO I. LA CENICILLA DEL ROSAL ( <i>Podospaera pannosa</i> ) .....	<b>28</b>
7.2. CAPÍTULO II. IDENTIFICACIÓN Y ALTERNATIVAS DE MANEJO DE LA CENICILLA DEL ROSAL .....	<b>54</b>
7.3. CAPÍTULO III. RESPUESTAS DE DEFENSA INDUCIDAS POR FOSFITO DE POTASIO, SILICIO Y QUITOSANO EN PLANTAS DE ROSAL INFECTADAS CON <i>Podospaera pannosa</i> . .....	<b>79</b>
<b>VIII. DISCUSIÓN GENERAL</b> .....	<b>100</b>
<b>IX. CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	<b>103</b>
<b>X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>104</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Principales municipios productores de rosa como flor de corte en el Estado de México.....	<b>7</b>
--	----------

### CAPÍTULO II.

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos evaluados en plantas de rosa var. Samourai® para el manejo de <i>Podosphaera pannosa</i> .....	<b>60</b>
<b>Cuadro 2.</b> Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) para la incidencia y severidad de la cenicilla ( <i>P. pannosa</i> ) en el cultivo de rosa.....	<b>66</b>
<b>Cuadro 3.</b> Efecto de los tratamientos en la longitud y diámetro de tallo floral en rosa variedad Samourai®.....	<b>67</b>
<b>Cuadro 4.</b> Efecto de los tratamientos en la longitud y diámetro de botón floral en tallos florales de rosa variedad Samourai®.....	<b>68</b>

### CAPÍTULO III

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos evaluados para el manejo de la cenicilla en plantas de rosal var. Samourai®.....	<b>84</b>
<b>Cuadro 2.</b> Escala de severidad para <i>P. pannosa</i> en rosal var. Samourai®.....	<b>85</b>
<b>Cuadro 3.</b> Efecto de los tratamientos sobre la actividad enzimática de la POX y PFO de plantas de rosal variedad Samourai® infectadas con <i>P. pannosa</i> .....	<b>89</b>
<b>Cuadro 4.</b> Efecto de los tratamientos sobre el contenido de fenoles totales en plantas de rosal variedad Samourai® infectadas con <i>P. pannosa</i> .....	<b>90</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Ciclo de la enfermedad de la cenicilla del rosal causado por *Podosphaera pannosa*. Tomado de (Agris, 2005).....**11**
- Figura 2.** Comparación entre el ácido fosfórico (fosfato) y ácido fosforoso (fosfito). En el ácido fosforoso el H está enlazado directamente con el P (Lovatt y Mikkelsen, 2006).....**20**
- Figura 3.** Estructura química de la quitina y del quitosano (Sandford, 1989).....**22**

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** A). Deformación de foliolos causados por *P. pannosa* en rosa var. Samourai®. B). Hojas y pedúnculo con signos del hongo. C). Conidióforo emergiendo de la célula madre de la hifa con catenulación de conidios. D). Conidios elipsoidales a doliformes con cuerpos de fibrosina. E). Patrón de germinación conidial sobre catáfilas de cebolla. F). Apresorios casi indistintos como protuberancias sobre las hifas.....**63**
- Figura 2.** Morfología de conidios de *P. pannosa*. Microscopía electrónica de barrido. A). Pared lisa del conidio, B y C). Parte terminal del mismo con anillos concéntricos tenues, D). Conidio parcialmente colapsado con ondulaciones longitudinales y transversales.....**64**
- Figura 3.** Cladograma de *Podosphaera pannosa*. *Leveillula taurica* fue la raíz. VG= Villa Guerrero, México.....**65**

### CAPÍTULO III

- Figura 1.** Efecto de los tratamientos sobre la severidad de *P. pannosa* en rosal variedad Samourai®. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, Tukey ( $P>0.05$ ).....**88**

## I. INTRODUCCIÓN

La *Rosa* spp., ha sido cultivada desde hace más de 2,000 años y se encuentra entre las especies ornamentales de mayor importancia económica a nivel mundial (Debener y Linde, 2009; Whitaker y Hokanson, 2009), ha sido cultivada para diferentes propósitos y actualmente un gran número de variedades se han desarrollado para plantas de jardín o como flor de corte y más recientemente como plantas de maceta (Yong, 2004; Bergougnoux *et al.*, 2007). En México, en el año 2012 se reportaron 712.25 ha cultivadas bajo invernadero con una producción de 5,559,218.51 t, representando un aporte económico para el país de \$ 1,225,457.39 miles de pesos, siendo el principal productor el Estado de México que aportó el 95 % de la producción nacional (SIAP, 2016).

A pesar de que el cultivo de rosa se consolida como una flor ornamental altamente valorada, se ve afectada por factores limitantes como las plagas y enfermedades que inciden en la productividad, calidad y por ende en la comercialización (Bélanger *et al.*, 1994). Entre los patógenos más importantes están los que atacan la parte aérea de la planta, como son: *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary, *Diplocarpon rosae* Wolf (Debener y Byrne, 2014), el Chromista *Peronospora sparsa* Berkeley, *Botrytis cinerea* Pers., *Pragmidium* spp., *Elsinoe rosarum* Jenkins & Bitanc. (Horts y Cloyd, 2007) y recientemente reportado en México *Passalora rosicola* (Pass) U. Braun (= *Cercospora rosicola*) (Ayala-Escobar *et al.*, 2014).

La cenicilla causada por *Podosphaera pannosa* (Syn. *Sphaerotheca pannosa*) es uno de los principales problemas de rosas en el mundo (Leus *et al.*, 2006; Scarito *et al.*, 2007) que ataca al cultivo tanto a cielo abierto como bajo invernadero para la producción de flor de corte (Linde y Debener, 2003; Leus *et al.*, 2006; Pasini *et al.*, 2007). Dicho patógeno forma un micelio blanco pulverulento que se desarrolla sobre las hojas, tallos y flores del hospedero, forma apresorios superficiales y haustorios que penetran a través de la cutícula e ingresan a las células epidérmicas, este hongo no alcanza a matar a su hospedero, pero utiliza sus nutrientes, reduce la fotosíntesis, incrementa la respiración y la transpiración (Agrios, 2005), lo que repercute en la

productividad y calidad ocasionando problemas en la comercialización y por lo tanto pérdidas económicas significativas (Yan *et al.*, 2006).

El control de la cenicienta se basa principalmente en la aspersión de fungicidas a intervalos de 7-14 días (Debener y Byrne, 2014). Pero, aplicaciones continuas de estos químicos incrementan los costos de producción y pueden generar selección de poblaciones resistentes de *P. pannosa* (Pasini *et al.*, 1997; Daughtrey y Benson, 2005); además la necesidad de minimizar el uso de fungicidas conduce a la búsqueda de nuevas alternativas de manejo, entre ellas el uso de inductores de defensa; tal es el caso del silicio, que ha mostrado su potencial para mejorar los componentes estructurales y bioquímicos de resistencia a enfermedades como la cenicienta en diferentes cultivos (Liang *et al.*, 2005; Botta *et al.*, 2011; Shetty *et al.*, 2012). Así mismo, los fosfitos tienen la capacidad de controlar enfermedades en diversos cultivos, actuando directamente sobre el patógeno e indirectamente mediante la estimulación de respuestas de defensa del hospedante (Deliopoulos *et al.*, 2010). Otra molécula inductora es el quitosano, un derivado de la desacetilación de la quitina, considerado como un biopolímero eficaz en la prevención de enfermedades fúngicas, al interferir directamente sobre el crecimiento de los hongos o mediante la activación de defensas en las plantas (Iriti *et al.*, 2011). A pesar de que estos compuestos han mostrado potencial en el control de enfermedades, la información de estos productos en el manejo de la cenicienta en plantas ornamentales, y especialmente sobre el cultivo de rosal, es limitada. Por lo anterior, se consideró pertinente profundizar el conocimiento del efecto de los inductores de resistencia como el silicio, fosfito de potasio y quitosano sobre la cenicienta del rosal.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. La familia Rosaceae

La familia Rosaceae es amplia y diversa, está representada aproximadamente por más de 100 géneros y 3,000 especies de diversas plantas, confinada principalmente a los climas templados (Pizano de Márquez, 2003). La familia tiene una gran variedad de formas arquitectónicas y contiene especies herbáceas, árboles y arbustos. Muchos miembros de la familia son de importancia económica y son fácilmente reconocibles por sus frutos comestibles (Janick, 2005) que son apreciados por su sabor, color y propiedades nutritivas, por ejemplo: manzana, fresa, frambuesa, pera, cereza, albaricoque, así mismo, en ornamentales están las rosas y la flor de cerezo (Hummer y Janick, 2009). Esta familia se dividió inicialmente en cuatro subfamilias de acuerdo al tipo de fruto y su desarrollo: Maloideae, Prunoideae, Spiraeoideae y Rosoideae (Leus, 2005), posteriormente se hace una reclasificación en tres subfamilias: Dryadoideae, Spiraeoideae y Rosoideae esta última subfamilia incluye al género *Rosa* (Potter *et al.*, 2007).

El hábito de crecimiento del género *Rosa* puede ser en posición vertical, rastrera o trepadora, las hojas son caducas y alternas, compuestas por un número impar de folíolos; a menudo cinco, aunque siete folíolos son típicos en *R. whichuraiana* Crép. y *R. multiflora* Thunb. Los tallos son leñosos y con espinas, aunque en algunas variedades las espinas pueden estar ausentes. Las flores pueden ser solitarias o en corimbo, son hermafroditas y varían en cuanto a forma y tamaño, después de la floración se forma el fruto llamado escaramujo, el cual contiene las semillas de la planta (Grant, 2001).

### 2.2. Historia de las rosas

Las rosas han existido durante millones de años y esto se evidencia por los especímenes fósiles encontrados que han sido estimados en alrededor de 30 a 40 millones de años y se han encontrado en EE.UU. y Europa. Hay evidencias de que las rosas fueron primitivamente cultivadas hace 4,000 o 5,000 años en el Norte de África (Horst y Cloyd, 2007). También se han encontrado semillas de rosal en Europa y se

estima que son de la época neolítica. Existen afirmaciones de que las rosas fueron cultivadas ampliamente en China alrededor del año 2,700 A.C. como plantas medicinales y los primeros registros históricos en tablillas cuneiformes mesopotámicas indican que el rosal se dio a conocer a los humanos hace unos 5,000 años, así mismo, se encontró una pintura en un antiguo palacio en Creta (Grecia) que se estima en alrededor de 3,700 años de antigüedad (Widrlechner, 1981). Actualmente, el género *Rosa* contiene más de 130 especies reconocidas que son nativas de diversas regiones climáticas (Cairns, 2000; Kim *et al.*, 2003). Un aproximado de 25,000 variedades de rosas se han desarrollado a través de las cruces entre especies de rosas (Simpson y Orgorzaly, 2001), aunque algunos autores han estimado hasta 40,000 cultivares (Grant, 2001).

### 2.3. Taxonomía

La clasificación más aceptada y actual de la *Rosa* se basa en el sistema de Rehder (1940) con algunas modificaciones (Wissemann, 2003) aunque aun está en discusión. El sistema actual consta de cuatro subgéneros: *Hulthemia* (1 especie), *Platyrhodon* (1 especie), *Hesperodos* (2 especies) y el cuarto subgénero *Rosa* (unas 180 especies) esta subdividido en diez secciones (Wissemann, 2003; Leus, 2005). Siete de estas secciones son de gran importancia *pimpinellifolia* (di- y tetraploide), *Chinensis* (*indicae*) (diploides), *Gallicanae* (tetraploide), *Cinnamomeae* incluyendo en ocasiones *Carolinae* (di- a octaploide) *Caninae* (tetra- a exaploide) y *Synstylae* (diploide). Las otras tres secciones (*Laevigatae*, *Banksiae* y *Bracteatae*) son muy pequeñas, contienen únicamente una o dos especies y tienen importancia limitada en rosas de jardín (Leus, 2005).

No obstante, recientes evidencias moleculares de un extenso estudio utilizando AFLPs para reconstruir la filogenia del género *Rosa* indican que varias modificaciones deben aplicarse a la clasificación de Rheder (1940) y Wissemann (2003). En base a la agrupación por el método de pares no ponderados con la media aritmética (UPGMA), parsimonia de Wagner y la inferencia bayesiana Koopman *et al.* (2008) sugirieron las siguientes modificaciones: 1). Los dos subgéneros *Hulthemia* y *Platyrhodon* (ambos con una especie) no merecen este estatus, sino que deben integrarse en el subgénero

*Rosa*, 2). La sección *Carolinae* (cinco especies) debe integrarse en *Cinnamomeae* (aproximadamente 80 especies) y 3). La única subsección apoyada en la sección *Caninae* es la subsección *Rubigineae* como un grupo monofilético. Las otras cinco subsecciones no son compatibles con los datos de Koopman *et al.* (2008).

Parte de la confusión taxonómica del género *Rosa* se origina a partir de la historia evolutiva complicada de las especies silvestres, combinado con una larga historia de cultivo y el entrecruzamiento de los genotipos seleccionados. La complejidad es derivada por varios factores, a menudo en combinación: (1) extensa hibridación tanto antigua como reciente (Wissemann y Ritz, 2005; Joly *et al.*, 2006); (2) ausencia de diferencias claras entre muchas de las especies, en parte debido a la reciente radiación (Wissemann y Ritz, 2005), (3) clasificación incompleta del linaje y (4) poliploidia (Joly *et al.*, 2006).

Una segunda fuente de confusión importante de señalar es causada por la división en muchas especies, basándose únicamente en caracteres morfológicos que a menudo son bajo presión de selección (Olsson *et al.*, 2000; Koopman *et al.*, 2008).

#### **2.4. Origen y distribución del rosal**

Se cree que el origen del rosal se encuentra en el continente asiático, específicamente en China. Sin embargo, los rosales fueron domesticados independientemente en Europa y China, se habla de ellos desde hace más de 4,000 años (Guoliang, 2003; Rusanov *et al.*, 2009). En su proceso de expansión el rosal llegó a la India, Persia, Grecia, Italia y España, países que conocieron al rosal a todo lo largo de su historia (Yong, 2004).

La distribución geográfica de los rosales modernos es el hemisferio norte, entre los 20 y 70 grados de latitud. Hoy en día el género se distribuye en las regiones templadas del hemisferio norte de Europa, Norteamérica, Oriente y Asia occidental, así mismo, en las áreas subtropicales de México, el cercano oriente (Irán e Irak), el noroeste de África (Marruecos y Etiopía) y Asia (sur de China) con la excepción de algunas regiones árticas y tropicales y algunas zonas de Asia central. Se reporta que *Rosa acicularis* Lindl. es considerada como la especie que se produce naturalmente en las regiones polares de Europa, Asia y Norteamérica (Zlesak, 2006). Un importante



centro de diversidad del género *Rosa*, hoy en día es Asia Central y suroccidental, incluyendo China y Turquía. En contraste con la distribución natural de las especies del rosal, éstas pueden ser producidas en todo el mundo y en todos los climas (Debener y Linde, 2009).

## **2.5. Importancia de la *Rosa* spp.**

La *Rosa* spp. es un cultivo de enorme importancia en la floricultura, se encuentra entre las plantas ornamentales más importantes del mundo, incluyen 200 especies y 30,000 cultivares que se han desarrollado para plantas de jardín o como flor de corte y más recientemente como plantas de maceta (Gudin, 2000; Bergougnoux *et al.*, 2007;). Entre otros usos, las flores se destinan para la producción de aceites aromáticos que son utilizados en la industria cosmética y perfumería (Guoliang, 2003; Hummer y Janick, 2009; Rusanov *et al.*, 2009) y en menor medida, para el consumo directo o la fabricación de diversos productos alimenticios como el té y la mermelada. Así mismo, los frutos (escaramujos) se han comenzado a utilizar por sus propiedades medicinales (Nybom, 2009).

Por otra parte, el rosal, es una de las especies ornamentales de mayor importancia económica a nivel mundial (Debener y Linde, 2009) con una producción anual estimada de 18 billones de tallos cortados, 60-80 millones de rosas en maceta y 220 millones de rosas para jardín (Pemberton *et al.*, 2003). El valor de producción estimado de las rosas de corte y de jardín en el mercado internacional hace 20 años fue de \$11.7 billones de dólares por año (Short y Roberts, 1991), mientras que, en 2008, se estimó en \$24 billones de euros. Más recientemente el valor de las rosas de corte en el mercado holandés fue de \$10 billones de euros (Ahmad *et al.*, 2010). Así, la industria de la rosa en una escala mundial tiene un impacto económico alrededor de los 10 billones de dólares (Debener y Byrne, 2014).

En México, los estados que se dedican a la producción de rosal de corte en invernadero son Guerrero, Jalisco, México y Querétaro, contando con una superficie sembrada de 0.25, 8, 680 y 24 ha, respectivamente, además es uno de los cultivos más rentables, el valor de la producción por hectárea para 2012 fue de 1,225,457.39 miles de pesos, siendo el principal productor el Estado de México que aportó el 95 %

de la producción nacional, sobresaliendo los municipios de Tenancingo y Villa Guerrero que destinaron una superficie de 170 y 390 ha (SIAP, 2016) (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Principales municipios productores de rosa como flor de corte en el Estado de México.

<b>Municipio</b>	<b>Superficie plantada (ha)</b>
Villa Guerrero	390
Tenancingo	170
Malinalco	45
Coatepec Harinas	31
Zumpahuacán	21
Donato Guerra	15
Ixtapan de la Sal	4
Valle de Bravo	4

## **2.6. Enfermedades de la *Rosa* spp.**

Una amplia gama de patógenos incluyendo bacterias, virus, nematodos, fitoplasmas y hongos atacan al cultivo de rosal en todas partes del mundo. Entre los patógenos más importantes, están los que atacan la parte aérea de la planta como: *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary, *Peronospora sparsa* Berkeley, *Diplocarpon rosae* Wolf., *Phragmidium* spp., *Botrytis cinerea* Pers., *Cercospora puderi* B.H. Davis y *Cercospora rosicola* Pass. y *Sphaceloma rosarium* (Pass.) Jenkins (Leus, 2005; Debener y Byrne, 2014). Estos patógenos reducen el crecimiento de la planta y en ocasiones provocan la muerte de la misma, así mismo, afectan drásticamente su valor ornamental causando mosaicos, distorsión, manchas, necrosis y abscisión de hojas y flores. También afectan el valor comercial, ya que la estética de una planta ornamental es clave para el mercado y la aceptación del consumidor, por lo tanto, se requiere de un buen manejo en el control de las enfermedades en el cultivo de rosal (Horst y Cloyd, 2007).

## 2.7. El mildiu polvoso (*Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary)

La cenicilla causada por *Podosphaera pannosa* (Syn. *Sphaerotheca pannosa*) es una de las enfermedades más importantes y destructivas en el mundo (Leus *et al.*, 2006; Scarito *et al.*, 2007; Debener y Byrne, 2014) que ataca al cultivo de rosal tanto a cielo abierto como bajo invernadero para la producción de flor de corte (Linde y Debener, 2003; Leus *et al.*, 2006; Pasini *et al.*, 2007).

Theophrastus reportó por primera vez a la cenicilla en el cultivo de rosal alrededor del año 300 A.C., pero Wallroth en 1819 fue el primero en describir al hongo causante de la enfermedad como *Alphitomorpha pannosa* (Horst y Cloyd, 2007). Posteriormente, en 1829 fue transferido al género Erysiphe y clasificado como *E. pannosa* (Wallr.) Fr., en este mismo año se describió el estado anamorfo como *Oidium leucoconium* Desm., y finalmente en 1851 fue descrito y reubicado en el género *Sphaerotheca*. Actualmente, debido a los cambios en la nomenclatura de hongos, el patógeno ahora es conocido como *Podosphaera pannosa* (Wallr. Fr.) de Bary (Braun y Takamatsu, 2000; Horst y Cloyd, 2007).

### 2.7.1. Clasificación taxonómica

*Podosphaera pannosa* es un patógeno biótrofo que forma parte de los ascomicetos, además heterotático, fenómeno que fue demostrado por Bender y Coyier (1985). La forma en que infecta el hongo sobre el cultivo es el estado asexual, identificado como; *Oidium leucoconium* Desem. (Lediuk *et al.*, 2010).

El patógeno *P. pannosa* se clasifica (NCBI, 2016):

Dominio: Eukaryota  
Reino: Fungi  
Filo: Ascomycota  
Sub Filo: Pezizozomycotina  
Clase: Leotiomycetes  
Orden: Erysiphales  
Familia: Erysiphaceae  
Género: *Podosphaera*  
Especie: *pannosa*

### 2.7.2. Morfología

### **2.7.2.1. Estado anamorfo**

El estado anamorfo *Oidium leucoconium* Desm. se caracteriza por poseer micelio primario blanco y micelio secundario denso, forma colonias de apariencia pulverulenta de color blanco a grisáceo (Lediuk *et al.*, 2010). Las hifas primarias son hialinas, de pared delgada y lisas, de 3 a 9  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun, 1987; Havrylenko, 1995; Braun y Cook, 2012; Félix-Gastélum *et al.*, 2014), mientras que las hifas secundarias son ásperas, escasamente ramificadas, de pared gruesa de 4.5 a 8  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun y Cook, 2012). Los apresorios hifales son casi indistintos como protuberancias. Los conidióforos (hialinos) emergen de la superficie de las células madres hifales, pueden encontrarse en la parte central de esta o no, son erectos y llegan a medir hasta 210  $\mu\text{m}$  de largo con células basales rectas, subcilíndricas de 40 a 80 x 7.5 a 12  $\mu\text{m}$ , seguida por 1 o 2 células más cortas formando conidios catenulados (Braun, 1987; Braun y Cook, 2012). Los conidios son hialinos de forma elipsoidal-ovoide a doliformes de 20 a 33 x 10 a 19  $\mu\text{m}$  (longitud/ancho) con tubos germinativos más o menos terminales a laterales, cortos o largos, simples y delgados de 4 a 5  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun, 1987; Braun y Cook, 2012).

### **2.7.2.2. Estado teleomorfo**

Con la llegada del invierno, el hongo forma casmotecios (Agrios, 2005), los cuales se encuentran inmersos en las capas miceliales, más o menos gregarios de 70 a 115  $\mu\text{m}$  de diámetro y raramente se encuentran más grandes, células peridiales irregularmente poligonal a redondeadas, de 8 a 25  $\mu\text{m}$  de ancho. Dichos casmotecios presentan apéndices miceloides en la parte inferior, por lo general no son muy numerosos, como micelio, simples, a menudo característicamente sinuosos, contorsionados y entrelazados entre sí y con el micelio, en ocasiones muy cortos, al menos más cortos que el diámetro del casmotecio, algunas veces rudimentarios, pueden verse apéndices más largos, pero raramente exceden 0.5 a 2(-3) veces el diámetro del casmotecio. Las ascas son hialinas, elipsoidales a ovoides (-subglobosas), de 70 a 100 x 50 a 80  $\mu\text{m}$  (longitud/ancho), sésiles, contienen (4-)8 ascosporas, de forma elipsoidales a ovoides (-doliformes) de 16 a 28 x 9 a 20  $\mu\text{m}$

(Homma, 1937; Braun, 1987; Havrylenko, 1995; Rankovic y Comic, 1997; Shin, 1999; Lee *et al.*, 2011; Braun y Cook, 2012).

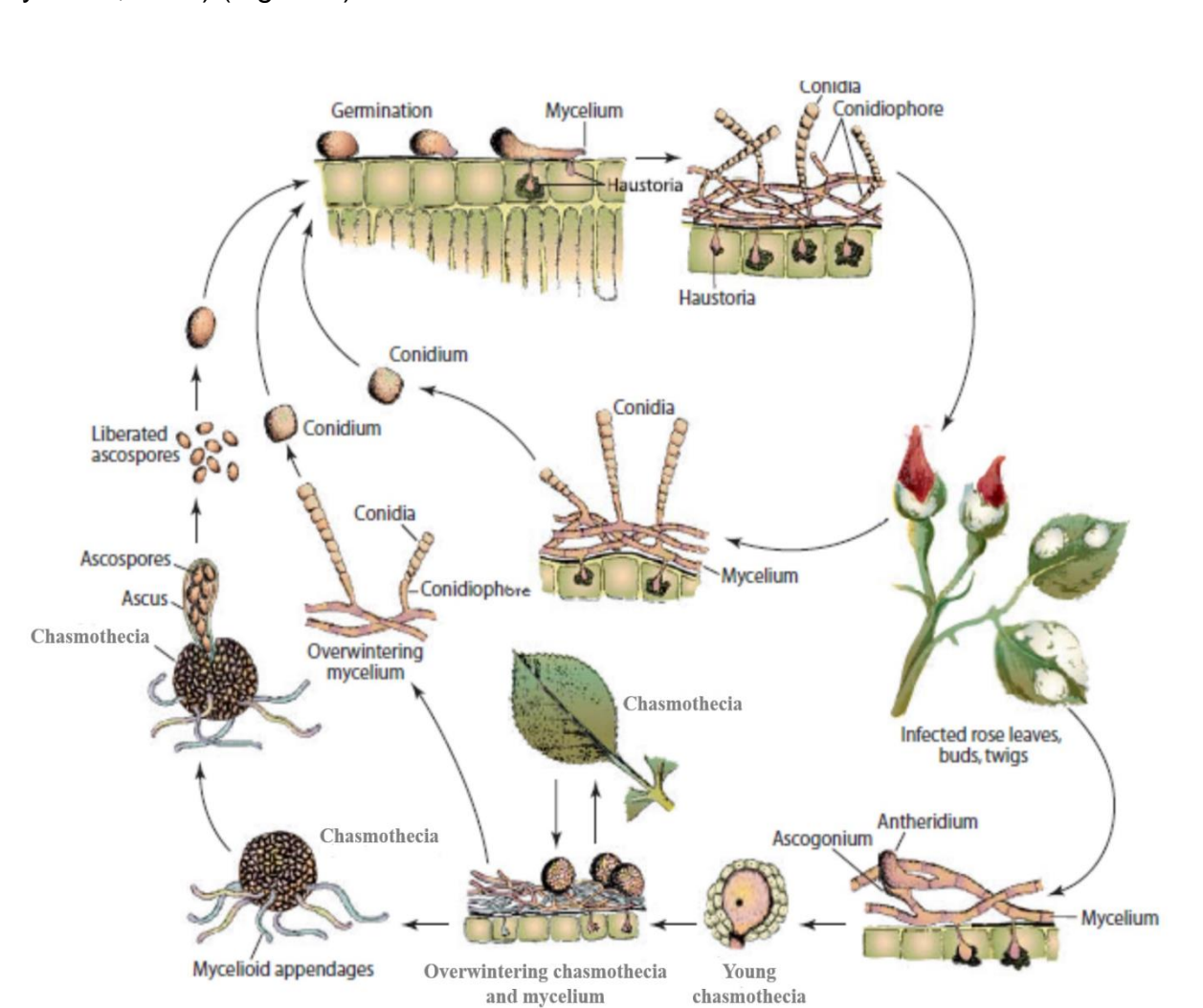
### **2.7.3. Ciclo de la enfermedad**

En rosales cultivados a cielo abierto, el hongo inverna principalmente en forma de micelio sobre las yemas, ocasionalmente forma casmotecios sobre hojas, pétalos y tallos (particularmente en torno a las espinas). En rosales cultivados bajo invernadero, el patógeno persiste exclusivamente en forma de micelio y conidios (Agrios, 2005).

Las ascosporas o conidios del hongo son diseminados fácilmente por el viento hacia los tejidos de las plantas, y si la temperatura y humedad relativa (HR) son altas, las esporas germinan, sin embargo, la germinación es retrasada si existe una película de agua sobre las hojas (Perera y Wheeler, 1975; Sivapalan, 1993). En el desarrollo asexual, los conidios comienzan a germinar a una temperatura de 20 °C con HR cerca del 100 %, 2 a 4 h después de haberse depositado sobre el tejido del hospedero; posteriormente, se produce en uno de los extremos del conidio, un tubo germinativo corto y dentro de las 6 h siguientes un apresorio inicial es formado, del cual se desarrolla una hifa que penetra directamente la cutícula y llega hasta las células epidérmicas en donde forma estructuras denominadas haustorios (Agrios, 2005). Dichas estructuras tienen un núcleo y están delimitados por una membrana fina que se introduce en el citoplasma de la célula epidermal, evento que ocurre entre 20 y 24 h (Horst y Cloyd, 2007). A pesar de que el citoplasma es empujado y deformado por el haustorio del hongo, la célula no se daña; el haustorio presenta una superficie a través de la cual puede absorber sustancias solubles de la célula del huésped, translocarlas al micelio en desarrollo y a las cadenas de conidios que se forman sobre la superficie de las hojas (Horst y Cloyd 2007; Whitaker y Hokanson, 2009).

Las hifas que forman el micelio se desarrollan para producir conidióforos erectos y cortos sobre el tejido, este proceso se inicia 48 h después de la germinación del conidio (Agrios, 2005). Los conidióforos iniciales se forman como pequeñas hinchazones sobre las hifas inmediatamente por encima de los núcleos, estos conidióforos se alargan y los núcleos se dividen, posteriormente 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 bajo condiciones óptimas puede formarse una cadena de conidios en tan solo 72 h después de la infección inicial, aunque se requieren normalmente entre 5 y 7 días. El conidio liberado madura y forma nuevas colonias que producen conidióforos y conidios; que provocan infecciones secundarias sucesivas (Horst y Cloyd 2007). En la fase sexual, el hongo es capaz de producir casmotecios con ascas elipsoidales a ovoides (-subglobosas) que contienen (4-)8 ascosporas, capaces de infectar el tejido del rosal e iniciar nuevos ciclos de la enfermedad (Braun y Cook, 2012) (Figura 1).



**Figura 1.** Ciclo de la enfermedad de la cenicilla del rosal causado por *Podosphaera pannosa*. Tomado de (Agrios, 2005).

#### **2.7.4. Condiciones ambientales para el desarrollo de *P. pannosa***

En el desarrollo de *P. pannosa*, dos factores estrechamente relacionados entre sí son la temperatura y la humedad relativa; aunque hay diferencia de estos datos entre autores. Por ejemplo, Longrée (1939) reportó que la temperatura mínima, óptima y máxima para el desarrollo de *P. pannosa* son 3 a 5, 21 y 33 °C, respectivamente. Así mismo, se ha documentado que los conidios pueden soportar largos periodos a 0 °C y sin pérdida de viabilidad, siempre que estén incubados en condiciones de humedad (Price, 1970). Otros autores, señalan que la germinación óptima de los conidios ocurre de 2 a 6 h después de la deposición de los conidios sobre el tejido con una temperatura de 21 a 23 °C y con 100 % de HR, temperaturas cerca de los 30 °C inhiben su germinación (Xu, 1999; Leus, 2005).

El ciclo completo de la infección se desarrolla en condiciones óptimas de temperaturas entre 15 y 25 °C y de 75 a 79 % de HR, condiciones que son suficientes para obtener tasas considerablemente altas de desarrollo de las estructuras de infección del hongo como; apresorio, haustorio, micelio, conidióforos y conidios (Kashimoto *et al.*, 2003). Otras contribuciones afirman que las condiciones favorables para la germinación de los conidios son 21 °C y 97 a 99 % de HR; mientras que la maduración y liberación se da a los 26.7 °C con 40 a 70 % de humedad en el día y por la noche 15.5 °C y 90 a 99 % de humedad permite la formación y germinación óptima de los conidios, así como la infección, varios ciclos repetitivos de estas condiciones son necesarios para el desarrollo de una epidemia (Horst y Cloyd, 2007).

#### **2.7.5. Sintomatología**

Todas las partes aéreas de la planta pueden ser infectadas por la cenicilla, aunque generalmente son las hojas y brotes jóvenes los más afectados (Rankovic y Comic, 1997; Xu, 1999; Eken, 2005). Los primeros indicios surgen sobre las hojas jóvenes como áreas ligeramente elevadas que a menudo presentan una coloración rojiza, donde posteriormente se forman los signos de la enfermedad que originan un crecimiento de polvo blanquecino, que aparecen tanto en el envés como en el haz de la hoja (Watkins, 1990). Cuando existen condiciones favorables, la colonización se extiende por toda la hoja, lo que provoca que parezca retorcida o curvada; es probable

que las hojas maduras no presenten los síntomas típicos de la enfermedad, pero pueden formarse áreas circulares e irregulares cubiertas por el desarrollo del hongo hasta causar desprendimiento prematuro (Horst y Cloyd, 2007) o bien el patógeno provoca menor distorsión sobre las hojas maduras pero con el tiempo se necrosan (Agrios, 2005; Whitaker y Hokanson, 2009). El hongo puede infectar también a las flores y crecer abundantemente sobre los pedicelos, sépalos y receptáculos, especialmente cuando el botón floral no ha abierto, por lo que las flores son de mala calidad (Leus, 2005). En algunos casos los botones infectados se necrosan y caen, y si la infección se produce en las flores, los pétalos crecen en forma irregular e incompleta (Whitaker y Hokanson, 2009). El daño también puede presentarse sobre los tejidos suculentos de los tallos jóvenes, especialmente en la base de las espinas donde se forman colonias pulverulentas; este crecimiento persiste aun en los tallos maduros (Agrios, 2005; Horst y Cloyd, 2007).

#### **2.7.6. Manejo de la cenicilla en *Rosa* spp.**

Algunas de las nuevas variedades de rosal que continuamente se desarrollan poseen resistencia al patógeno, sin embargo, pocas la conservan por tiempo prolongado, presuntamente por el desarrollo de nuevas razas de *P. pannosa* que rompen esta resistencia (Horst y Cloyd, 2007). Algunas de ellas son resistentes en algunas áreas geográficas, pero susceptibles en otras o incluso en la misma localidad; y son resistentes algunos años y susceptibles en otros (Agrios, 2005). Se reporta que las variedades Wichuraianas son las más resistentes al patógeno (Tlapal y Mendoza, 2002). Esta enfermedad es difícil de combatir con medidas individuales de manejo y solo se alcanzan niveles aceptables de control con la utilización combinada de varias de ellas.

##### **2.7.6.1. Control cultural**

Dentro de las medidas preventivas se encuentran las prácticas culturales adecuadas como son: la eliminación y destrucción de los brotes infectados durante la poda, así como de los restos de hojas y tallos sobre el suelo (Tlapal y Mendoza, 2002; Agrios, 2005; Horst y Cloyd, 2007). Así mismo, el manejo de la temperatura y humedad



contribuye en gran medida al control ya que el desarrollo de cenicilla es afectado adversamente por la presencia de láminas de agua sobre la superficie de las hojas (Yarwood, 1939; Perera y Wheeler, 1975; Sivapalan, 1993; Horst y Cloyd, 2007), pero este método no es recomendable en condiciones comerciales puesto que el exceso de agua en el follaje puede favorecer el desarrollo de otras enfermedades como el mildiu veloso (*Peronospora sparsa*) y la mancha negra del rosal (*Diplocarpon rosae*) (Pasini *et al.*, 1997). Otras medidas incluyen; evitar en lo posible el crecimiento tierno y succulento que resulta de una fertilización desequilibrada, con exceso de nitrógeno y escasez de potasio y evitar las corrientes de aire para impedir la dispersión del patógeno e iniciar la producción con material certificado libre de plagas y enfermedades (Pizano de Márquez, 2003).

#### **2.7.6.2. Control químico**

En rosales cultivados en invernadero, se espera que la enfermedad ocurra cuando la temperatura promedio está cerca a la óptima (21 °C) y la humedad es alta en la noche y baja durante el día; la enfermedad aparecerá de 3 a 6 días después, por lo que se deberá hacer una aplicación con fungicidas preventivos y repetirla cada siete días durante el tiempo que esas condiciones prevalezcan (Horst y Cloyd, 2007).

El manejo de la cenicilla del rosal se basa principalmente mediante la aplicación de fungicidas sintéticos (Passini *et al.*, 2007; Scarito *et al.*, 2007; Shetty *et al.*, 2012), aplicados a intervalos de 7 a 14 días para proteger el tejido inmaduro susceptible (Horst *et al.*, 1992; Xu, 1999). Los primeros fungicidas utilizados para el control de la enfermedad eran de contacto con múltiples sitios de acción, como los ditiocarbamatos, quinometionato y el azufre (Hollomon y Wheeler, 2002). Pero las estrategias de control químico evolucionaron con la introducción del primer fungicida sistémico de amplio espectro que fue el benomilo (Kamenidou, 2005), el cual inhibió la esporulación y deformó los conidióforos de *P. pannosa* (Price, 1970). No obstante, la traslocación del fungicida en el tejido fue limitado y aplicaciones sucesivas dieron como resultado la acumulación de residuos sobre el follaje, así mismo, se reportó la resistencia del patógeno al fungicida (Coyier, 1983). Otros grupos de fungicidas que han mostrado efectos positivos sobre el control de *P. pannosa* son los inhibidores de la desmetilación

y los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (Pasini *et al.*, 1997; Pasini *et al.*, 2007). Pero, repetidas aplicaciones de estos fungicidas puede causar fitotoxicidad, reducir la longitud de los tallos y al mismo tiempo originar selección de poblaciones resistentes (Pasini *et al.*, 1997; Daughtrey y Benson, 2005). Así mismo, se ha documentado que el grupo de las estrobilurinas (inhibidores de la respiración mitocondrial) como: azoxistrobin, cresoxim-metilo, piraclostrobina y trifloxistrobin proporcionan un control eficiente de la cenicilla (Daughtrey y Benson, 2005). Al respecto, Tjosvold y Koike (2001) reportaron que fungicidas como azoxistrobin (Heritage<sup>®</sup>) a dosis de 0.07 g L<sup>-1</sup>, cresoxim-metilo (Cygnus<sup>®</sup>) a dosis de 0.12 g L<sup>-1</sup> y trifloxistrobin (Compass<sup>®</sup>) a dosis de 0.15 g L<sup>-1</sup> mostraron un buen control de la enfermedad, sin causar fitotoxicidad ni pérdida de vigor en la planta.

### **2.7.6.3. Control biológico**

Se ha reportado que los agentes de control biológico atacan o son antagónicos a las estructuras vegetativas o reproductivas de miembros de Erysiphales (Bélanger *et al.*, 1994). Algunos hongos antagonistas y bacterias para el control de la cenicilla del rosal (Bélanger *et al.*, 1994; Eken, 2005; Elmhirst *et al.*, 2011) y al menos un insecto (*Thrips tabaci* Lind.) han sido reportados (Coyier, 1983). Yarwood (1943) observó que bajo condiciones de laboratorio un solo trips fue capaz de terminar con una colonia de 6 mm de diámetro en tres días. Sin embargo, estos insectos no se reprodujeron en cantidades significativas en condiciones de campo para influir sobre la importancia económica de la cenicilla. Al respecto, Coyier (1983) menciona que el *Thrips tabaci* no incrementa lo suficientemente para inhibir el potencial inóculo de *P. pannosa*.

Se han dado a conocer que varios hongos como *Ampelomyces quisqualis* Ces., *Cladosporium oxysporum* (Berk. & Curt.), *Tilletiopsis* sp. y *Verticillium lecanni* (Zimm.), entre otros, parasitan o son antagonistas de la cenicilla del rosal (Bélanger *et al.*, 1994; Ng *et al.*, 1997; Pasini *et al.*, 1997; Agrios, 2005). No obstante, los experimentos a gran escala con estos antagonistas han mostrado resultados infructuosos o no se han intentado a causa de la alta humedad relativa que se requiere para lograr el control, especialmente el caso de *A. quisqualis* y *Tilletiopsis*, que pierden su eficacia rápidamente por debajo del 90 % de HR (Philipp *et al.*, 1990).

Hajlaoui y Bélanger (1991) demostraron que *Stephanoascus flocculosus* Traquair, Shaw & Jarvis, *Stephanoascus rugulosus* Traquair, Shaw & Jarvis, y *Tilletiopsis washingtonensis* Niland, fueron efectivos contra la enfermedad bajo condiciones controladas, dichos autores encontraron que estos antagonistas inducen un rápido colapso de los conidios, conidióforos e hifas del patógeno a las 48 horas después de su aplicación, siendo *S. flocculosus* quien mostró una rápida colonización y a la vez se distinguió menos afectada por las condiciones climáticas en comparación con *S. rugulosus* y *Tilletiopsis washingtonensis*. Pero cuando se experimentó bajo condiciones comerciales *S. flocculosus* (anamorfo: *Sporothrix flocculosa*) ofreció un buen control de la enfermedad en variedades de rosal como Preference y Samantha el cual fue similar al compararlo con los fungicidas como el acetato de dodemorf (Meltatox) y azufre microfino (Micro-Niasul) (Bélanger *et al.*, 1994). Resultados similares se consiguieron con la aplicación de *A. quisqualis* quien mostró control de la enfermedad, siendo tan eficiente como el acetato de dodemorf (Pasini *et al.*, 1997). De igual manera Elmhirst *et al.* (2011) reportan que la aplicación de *Gliocladium catenulatum* (Prestop® WP) y *Bacillus subtilis* (Serenade® MAX™ y Rhapsody® ASO™) aportan un control igual al químico miclobutanil (Nova™ 40W).

Otro hiperparásito reportado a reducir la enfermedad es *V. lecanii*. En un estudio se comparó la eficacia de agentes de biocontrol (*A. quisqualis*, *Aphanocladium album* (Preuss) W. Gams, *S. rugulosus*, *Tilletiopsis minor* Nyland y cuatro cepas de *Verticillium lecanii*) a diferentes humedades relativas (70, 80, 90 y 100 %), los resultados mostraron que la mayoría de los agentes de biocontrol pierden su eficacia por debajo del 100 % de humedad relativa, pero solo una cepa de *V. lecanii* fue capaz de controlar la cenicilla del rosal con un 80 y 90 % de humedad relativa (Verhaar *et al.*, 1999). En otro estudio, la aplicación de *Tilletiopsis pallescens* Gokhale redujo significativamente la esporulación del patógeno en un 97-98 %, en comparación con una reducción del 47-57 % en plantas asperjadas con agua destilada (Ng *et al.*, 1997). Aun cuando este método de control parece ser prometedor, hasta ahora no se ha estudiado lo suficiente para su aplicación a gran escala (Agrios, 2005).

#### 2.7.6.4. Otras alternativas

También se han utilizado como estrategias de control el uso de polímeros formadores de una película, dichos productos han demostrado inhibir el desarrollo de la enfermedad, actuando probablemente como una barrera física o química a la penetración del patógeno (Hagiladi y Ziv, 1986; Ziv y Zitter, 1992).

Otro enfoque interesante es el uso de productos naturales como el bicarbonato de sodio y aceites. Horst *et al.* (1992) demostraron su eficacia en el control de la cenicilla cuando se aplicaron en forma individual, pero dicho control fue más efectivo con la combinación del bicarbonato de sodio (0.063 M) más aceite ultrafino (1.0 % v/v). Por su parte, Pasini y colaboradores (1997) reportaron que compuestos antifúngicos como el fosfato monopotásico (0.5 y 1.0 %), bicarbonato de sodio (0.5 %), vinagre de vino (5 y 10 %), aceite JMS Stylet, aceite de canola, extracto de Neem y sinerol proporcionan un buen control de la cenicilla del rosal. También se ha reportado que el uso de leche es eficaz para el control de la enfermedad; al respecto, Ah Chee *et al.* (2011) evaluaron la grasa anhidra de leche (0.7 %) y el aceite de soya (2 %) para el control de la cenicilla en rosal de maceta, ambos productos redujeron la severidad de la enfermedad de 2-5 % en relación al control químico (mayor a un 40 % de infección) y al testigo donde la severidad incremento hasta el 100 %.

Por otra parte, se ha documentado que algunos extractos de plantas han mostrado control de la enfermedad. Por ejemplo, Pasini *et al.*, (1997) reportó que la aplicación de Milsana<sup>®</sup>; un extracto concentrado de hojas de *Reynoutriu sachulinensis* Nakai, controló parcialmente la enfermedad. Sin embargo, se indica que los extractos de *R. sachulinensis* pueden actuar indirectamente mediante la inducción de reacciones de defensa de las plantas (Daayf *et al.*, 1995). En otro estudio, Newman y colaboradores (1999) analizaron bajo invernadero el efecto de alcaloides cuaternarios benzofenantridina (QBAs) en variedades de rosal como Gabriella, Royalty, Samantha y Sonia; demostraron que la aplicación de QBAs a dosis de 75, 150 y 300 mg L<sup>-1</sup> redujeron significativamente la infección de *P. pannosa* en un 60 %, siendo similar a los fungicidas comerciales como fenarimol (Rubigan<sup>®</sup>), pentahidrato de sulfato de cobre (Phyton 27<sup>®</sup>), y piperalin (Pripon<sup>®</sup>) que redujeron los síntomas de la infección en un 50, 75, y 85 %, respectivamente. También, Wojdyla (2001) demostró que el extracto

de pomelo a una concentración de 0.066 % fue tan eficiente en el control de la enfermedad como el químico triforina (estándar) aplicado al 0.027 %. Resultados similares se consiguieron con la aplicación C-Pro (dilución de extractos de semillas de pomelo) a dosis de 2,000 ppm en variedades de rosal como Cezzan y Jade™, dicho extracto inhibió significativamente el desarrollo de *P. pannosa*, alcanzando un buen control como el proporcionado con el fungicida comercial Penconazole (Topas 100®) (Toppe *et al.*, 2007).

## 2.8. Uso del silicio

El silicio es el segundo elemento más abundante en la tierra y es considerado como un nutriente esencial para el desarrollo de las plantas (Epstein, 1994). Es absorbido rápidamente por la raíz de las plantas en forma de ácido silícico (Ma y Yamaji, 2006), el cual se transporta a través del xilema a los tejidos vegetativos por medio de la transpiración y es depositado en los espacios intracelulares e intercelulares (Ma y Takahashi, 2002). Al respecto, Shetty *et al.* (2011) reportaron que la deposición de silicio se produce principalmente en el apoplasto, particularmente en las paredes celulares de la epidermis. Estudios previos han documentado la capacidad que tiene el silicio para responder al estrés biótico y abiótico, al actuar como una barrera física a la infección y también mediante la inducción de mecanismos de defensa de las plantas (Ma, 2004; Fauteux *et al.*, 2005).

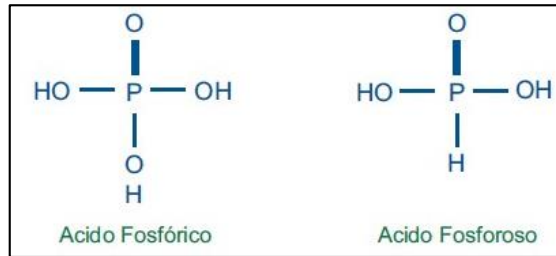
La aplicación de silicio ha reducido el desarrollo de la cenicienta en diferentes cultivos. Por ejemplo, en trigo la aplicación de silicio (1.7 mM) a la raíz redujo la severidad de *Blumeria graminis* DC. f.sp. *tritici* Em. Marchal hasta en un 80 % (Guével *et al.*, 2007). En calabaza (*Cucurbita pepo* L.) la aplicación de silicato de calcio redujo la severidad de *Podosphaera xanthii* U. Braun & N. Shishkoff solo en un 10 %, pero la combinación de silicio con fungicidas mejoró el control de la enfermedad, en comparación con el fungicida o silicio aplicados individualmente (Heckman *et al.*, 2003). El suministro de silicio en pepino (*Cucumis sativus* L.) producido en sistema hidropónico controló la cenicienta causada por *Podosphaera fuliginea* (Schltld.) Pollacci (Menzies *et al.*, 1991). Del mismo modo, la aplicación de silicio en cultivo hidropónico

de zinnia (*Zinnia elegans* Jacq.) retardo la aparición de la cenicilla causada por *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V.P. Gelyuta (Locke *et al.*, 2006).

Así mismo, en el cultivo de rosal se reportó que la aplicación de silicio redujo significativamente la severidad de *P. pannosa* hasta en un 57 % en rosas de maceta (Datnoff *et al.*, 2006) y al mismo tiempo incrementó el rendimiento (Voogt y Sonneveld, 2001). Igualmente, Shetty *et al.* (2012), documentaron que la aplicación de 3.6 mM de Si (100 ppm) suministrado en solución nutritiva, redujo la severidad de la enfermedad hasta un 48.9 % dependiendo del genotipo del hospedante. Estos reportes sugieren que la aplicación de silicio desempeña un papel importante en la supresión de la cenicilla del rosal, lo cual puede ser explicado por un incremento en la concentración de compuestos fenólicos antimicrobianos y flavonoides en respuesta a la infección por *P. pannosa* (Shetty *et al.*, 2011). También algunos estudios han demostrado que la protección inducida con silicio ante la cenicilla del rosal, está acompañada por un incremento en la formación de papilas y las células epidérmicas fluorescentes (FEC), así como la acumulación de calosa y peróxido de hidrógeno, este último, en el sitio de penetración en las células epidérmicas con respuesta de hipersensibilidad (Bélanger *et al.*, 2003; Shetty *et al.*, 2011; Shetty *et al.*, 2012).

## **2.9. Uso del fosfito de potasio**

El fósforo es un elemento esencial requerido por todos los organismos vivos, se combina rápidamente con otros elementos como oxígeno e hidrógeno. Cuando se oxida completamente, el fósforo se une con cuatro átomos de oxígeno para formar la conocida molécula de fosfato, pero, cuando no se oxida completamente un átomo de hidrógeno ocupa el lugar del oxígeno y la molécula resultante se denomina fosfito (Lovatt y Mikkelsen, 2006) (Figura 2).



**Figura 2.** Comparación entre el ácido fosfórico (fosfato) y ácido fosforoso (fosfito). En el ácido fosforoso el H está enlazado directamente con el P (Lovatt y Mikkelsen, 2006).

Los fosfitos exhiben un complejo modo de acción, ya que tienen la capacidad de controlar enfermedades en diversos cultivos, actuando directamente en el desarrollo del patógeno e indirectamente mediante la estimulación de respuestas de defensa de las plantas (Lovatt y Mikkelsen, 2006; Deliopoulos *et al.*, 2010; Lobato *et al.*, 2011; Eshraghi *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012). Los efectos directos incluyen la inhibición del crecimiento micelial y la síntesis de la pared celular (Wilkinson *et al.*, 2001; King *et al.*, 2010) así mismo, inhiben la fosforilación oxidativa en el metabolismo de los patógenos (McGrath, 2004). Por otra parte, los efectos indirectos involucran la estimulación de mecanismos de defensa de las plantas como la producción de fitoalexinas (Lovatt y Mikkelsen, 2006; Lobato *et al.*, 2011), deposición de calosa, especies reactivas de oxígeno y la inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis (Eshraghi *et al.*, 2011; Pilbeam *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012). Al respecto, se reporta que la aplicación de fosfito de potasio incrementa la actividad de proteínas inhibidoras de las poligalacturonasas (PGIPs) en los tejidos afectados (Olivieri *et al.*, 2012), dichas proteínas están asociadas con la pared celular de las plantas y actúan como proteínas de defensa al inhibir las poligalacturonasas de los patógenos, evitando la degradación de la pared celular (Di Mateo *et al.*, 2003).

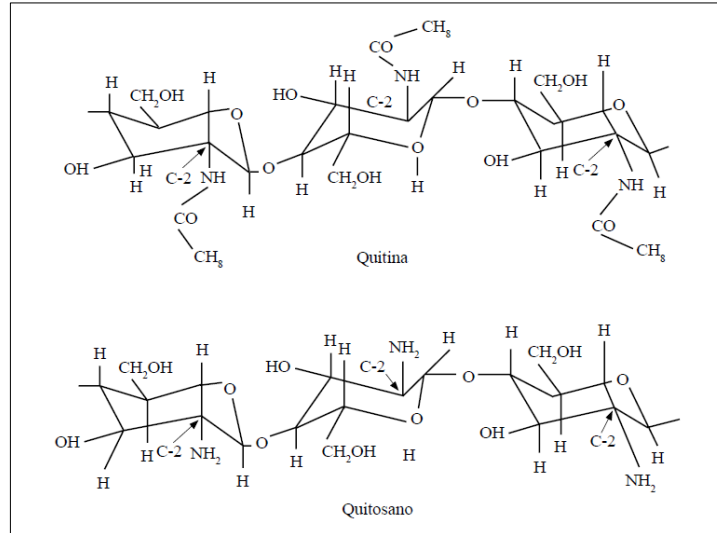
Los fosfitos se han utilizado comúnmente para el control de Oomycetes como *Peronospora sparsa* (McDonald *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2000; Kumar *et al.*, 2009; Deliopoulos *et al.*, 2010; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012), pero además su eficacia ha sido demostrada contra otras especies como: *Oidium* sp. (Yáñez *et al.*, 2012), *Erysiphe polygoni* D.C. (Salamanca-Carvajal y Alvarado-Gaona, 2012), *Penicillium expansum*

Link. (Amiri y Bompeix, 2011), *Phytophthora cactorum* (Lebert y Cohn) Scröt (Rebollar-Alviter *et al.*, 2010). Existen un gran número de reportes que demuestran su potencial en el manejo de enfermedades. Por ejemplo, la aplicación de fosfito de potasio indujo resistencia en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary (Machinandiarena *et al.*, 2012) y redujo significativamente la incidencia y severidad de *Oidium* sp. en pepino (*Cucumis sativus* L.) (Yañez *et al.*, 2012), en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) tuvo un efecto antifúngico inhibiendo la germinación de conidios de *Verticillium dahliae* Kleb. (Ribeiro *et al.*, 2006). En rosal var. Bingo White®, aplicaciones periódicas de fosfito de potasio redujeron la incidencia hasta un 35 % y la severidad en 6.3 % de *Peronospora sparsa*, con una efectividad biológica del 93.4 % contra el 14.8 % de un fungicida a base de cymoxanil + hidróxido de cobre + mancozeb (Chavarro-Carrero *et al.*, 2012). Cabe mencionar que el fosfito de potasio no es considerado como fungicida por lo que no se encuentra clasificado en alguna categoría toxicológica, siendo además inocuo al ambiente y a la salud humana (Delioupoulos *et al.*, 2010; Rebollar *et al.*, 2012).

## **2.10. Uso del quitosano**

La quitina es el segundo polímero más abundante en la naturaleza, se encuentra presente en la cutícula de los crustáceos, exoesqueleto de artrópodos y en las paredes celulares de los hongos (Pillai *et al.*, 2009). Por otra parte, el quitosano es un derivado de la desacetilación de la quitina, un polisacárido lineal que está compuesto por dos unidades estructurales distribuidas de manera aleatoria (distribución Bernouliana) a lo largo de la cadena, la N-acetil-D-glucosamina y la D-glucosamina, las cuales se encuentran unidas entre sí por enlaces del tipo  $\beta$  (1→4) glicosídicos (Moreno *et al.*, 2012) (Figura 3).





**Figura 3.** Estructura química de la quitina y del quitosano (Sandford, 1989).

Muchas son las aplicaciones de este polímero como son la descontaminación de residuos industriales, como floculante, en la biotecnología y la industria alimentaria, en las industrias biomédica y farmacéutica. Además, es un compuesto natural biodegradable, no tóxico, bioactivo, eficaz en la prevención de enfermedades al interferir directamente sobre el crecimiento de los hongos o mediante la activación de defensas en las plantas (Terry y Joyce 2004; Hernández-Lauzardo *et al.*, 2005; Iriti *et al.*, 2011), que están asociadas con el aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, activación de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), aposición de calosa, estallido oxidativo, respuesta hipersensible, síntesis del ácido abscísico (ABA), jasmonato, fitoalexinas y las proteínas relacionadas con la patogénesis (Iriti y Faoro, 2009).

La actividad fungicida del quitosano se ha estudiado, tanto *in vitro* (El Ghaouth *et al.*, 1992) como *in vivo* (Li y Yu, 2001; Yu *et al.*, 2007). Los resultados derivados de los estudios *in vitro*, fundamentalmente han estado relacionados con el crecimiento micelial, la esporulación, la germinación y la morfología de las hifas y esporas (Cheah *et al.*, 1997; Du *et al.*, 1998; Bautista-Baños *et al.*, 2004). Así mismo, como efecto fungistático, el quitosano a concentraciones de 2.5 y 3.0 % inhibió el crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. aislado de papaya (Bautista-Baños *et al.*, 2003). Mientras que en plántulas de *Vitis vinifera* L. el

crecimiento radial y el peso seco del micelio de *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. se redujo después de cinco días de incubación en medio de cultivo PDA + quitosano (chitogel) a concentraciones de 5 y 10 % (Ait Barka *et al.*, 2004). En cenicillas, existen algunos reportes como los descritos por Borkowski y Szwonek (2004), quienes reportaron que el quitosano presentó alta efectividad en el control de la cenicilla del tomate (*Oidium lycopersicum* Cooke & Masee), y cuando se aplicó sobre follaje de cebada (*Hordeum vulgare* L.), indujo resistencia contra *Blumeria graminis* (DC.) Speer. f. sp. *hordei* (Faoro *et al.*, 2008). Por su parte, Moret *et al.* (2009) reportaron que la aplicación de quitosano a concentraciones de 1 y 2.5 % redujeron la severidad de *Sphaerotheca fuliginea* Schlecht ex Fr. Poll. y *Erysiphe cichoracearum* DC. ex Merat en pepino (*Cucumis sativus* L.). Resultados similares fueron obtenidos por Iriti *et al.* (2011), quienes reportaron que la aplicación de quitosano (Kendal Cops®) a una concentración de 0.1 %, disminuyó la severidad (2.39 %) de *Erysiphe necator* Schwein. (syn. *Uncinula necator* Schwein.) comparando con el testigo (87.5 %) en el cultivo de vid (*Vitis* spp.).

Finalmente, es importante destacar que la efectividad del quitosano se ve influenciada por factores como: la concentración, el peso molecular, el grado de polimeración, el grado de acetilación, la naturaleza del hospedero, la composición de los nutrientes, las condiciones del ambiente y el periodo de incubación (Song *et al.*, 2002; Badawyl y Rabea, 2011; Zhang *et al.*, 2011).

### III. JUSTIFICACIÓN

Las plantas ornamentales constituyen un importante rubro en la economía de nuestro país, cultivándose numerosas especies, entre las que se encuentra el rosal (*Rosa* spp.). Actualmente, es una de las especies más conocidas, cultivadas y solicitadas como flor de corte; su incomparable belleza, la amplia variedad de sus colores, tonos y combinaciones, hacen que el rosal ocupe un lugar preponderante en la decoración y el gusto de los consumidores. Cabe mencionar que el Estado de México es el principal productor de rosa a nivel nacional, puesto que en el año 2012, aportó el 95 % de la producción nacional total, sobresaliendo los municipios de Tenancingo y Villa Guerrero que destinaron una superficie de 170 y 390 ha respectivamente.

Otra importancia del cultivo de rosal radica en el logro de alta calidad de tallos y botones para alcanzar buenos precios y mejorar su rentabilidad. No obstante, estas características se ven afectadas por los problemas fitosanitarios, especialmente ocasionados por hongos fitopatógenos que atacan la parte aérea de la planta; tal es el caso de la cenicilla causada por *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary, una de las enfermedades más destructivas que se presenta tanto en rosales cultivados al aire libre como en invernadero. Dicho patógeno infecta todas las partes aéreas de la planta y bajo condiciones favorables provoca la distorsión de hojas y defoliación prematura, lo que ocasiona pérdidas económicas significativas en la productividad, calidad y por ende en la comercialización. Con base a lo señalado anteriormente, en el cultivo de rosal se han utilizado diversos fungicidas para el manejo de la enfermedad, los cuales se aplican a intervalos de 7-14 días. Sin embargo, el uso de estos productos químicos en muchas ocasiones no alcanzan los niveles de protección esperados y aplicaciones continuas incrementan drásticamente los costos de producción y pueden generar selección de poblaciones resistentes del patógeno, por otra parte, el uso excesivo e indiscriminado de fungicidas ha comenzado a manifestar preocupación sobre su impacto a la salud humana y al ambiente. Por lo que surge la necesidad de minimizar el uso de fungicidas mediante la optimización de las dosis y la calendarización, así como la búsqueda de alternativas de manejo de la enfermedad que permitan

incrementar el rendimiento y la calidad; pero sobretodo sin incrementar los costos de producción. Finalmente debido a la importancia que tiene el cultivo y a la magnitud de las pérdidas causadas por la cenicilla, es indispensable encontrar esas alternativas que puedan ser incluidas en el manejo de la enfermedad sin que se afecte la calidad del rosal en la producción y que garantice la estabilidad del cultivo.

## IV. HIPÓTESIS

La aplicación de inductores de resistencia como el fosfito de potasio, silicio y quitosano reducirán la incidencia y severidad de *Podosphaera pannosa*, produciendo a nivel celular la actividad enzimática y contenido de fenoles totales, mientras que a nivel planta se darán cambios en el incremento de longitud y diámetro de tallo y botón floral en plantas de rosal var. Samourai®.

## V. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Determinar las respuestas de defensa estimuladas mediante la aplicación de silicio, fosfito de potasio y quitosano a *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr) de Bary, en el cultivo de *Rosa* spp.

### 5.2. Objetivos específicos

1. Recabar y analizar la información disponible sobre los principales aspectos relacionados con la cenicilla del rosal.
2. Confirmar la identidad morfométrica y molecular del agente causal de la cenicilla del rosal.
3. Evaluar el efecto del silicio, fosfito de potasio, quitosano y acetato de dodemorf sobre la incidencia y severidad del patógeno en estudio.
4. Cuantificar el efecto de la aplicación del silicio, fosfito de potasio y quitosano en la longitud y diámetro del tallo y botón floral en tallos de rosal var. Samourai®.
5. Determinar la actividad enzimática de la peroxidasa y polifenoloxidasas, así como el contenido de fenoles totales, en plantas de rosal infectadas por *Podosphaera pannosa*.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos de campo del presente estudio se llevaron a cabo bajo condiciones de invernadero en los meses de febrero a julio de 2014, en las instalaciones del Centro Universitario UAEM Tenancingo, ubicado en el km. 1.5 de la carretera Tenancingo-Villa Guerrero. Estado de México, en una Lat. N 18.96725 y Long. W -99.59268, a una altitud de 2020 msnm.

Los siguientes capítulos muestran la secuencia de la investigación para cubrir los objetivos:


**Capítulo 1. La cenicilla del rosal (*Podosphaera pannosa*):** en este capítulo se hizo revisión de literatura sobre los principales aspectos relacionados con la cenicilla de rosal, con lo que se cubre el objetivo específico número 1. Este capítulo está aceptado para su publicación en la Revista Agrociencia.

**Capítulo 2. Identificación y alternativas de manejo de la cenicilla del rosal:** Con este capítulo se cubren los objetivos específicos 2, 3 y 4. Este capítulo está publicado en la Revista Mexicana de Fitopatología 34(1): 22-42.

**Capítulo 3. Respuestas de defensa inducidas por fosfito de potasio, silicio y quitosano en plantas de rosal infectadas con *Podosphaera pannosa*.** Con este capítulo se cubre el objetivo específico 5 y no ha sido sometido para su publicación.

## VII. RESULTADOS

### 7.1. CAPÍTULO I. LA CENICILLA DEL ROSAL (*Podosphaera pannosa*)



Editorial del Colegio de Postgraduados

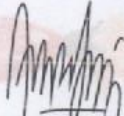
**Agrociencia**  
09 de mayo de 2016

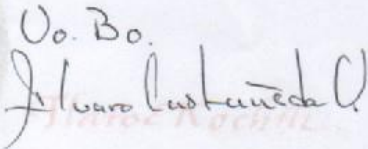
**M. C. Daniel Domínguez Serrano**  
Centro Universitario de Tenancingo  
Universidad Autónoma del Estado de México  
**Presente**

Me es grato informarle que la contribución anexa con clave: 15-126 de la cual usted es autor responsable, está aceptada para publicarla en Agrociencia; por tanto, nuestros editores han revisado la versión más reciente y le han dado el formato adecuado. Por separado se indican observaciones específicas que requieren la especial atención de usted.

Le agradeceré que con carácter de URGENTE atienda las observaciones indicadas (**de haberlas**) (se anexa versión editada por el Director de Agrociencia) y nos remita la información requerida en un plazo no mayor de 7 días a partir de la fecha de recepción, así como el formato de certificación de inédito en el que se indica que usted está de acuerdo con el contenido de dicha contribución y acepta que se publique en Agrociencia. De ser necesario, en el archivo PDF podrá marcar lo que a su juicio sean errores ortográficos o tipográficos en la versión formateada, pero sin incorporar nuevo texto, pues de hacerlo, podría obligar a enviar nuevamente la información a los árbitros y se retrasaría la publicación final.

Con gusto atenderé cualquier duda que surja al respecto.

  
El Director de Agrociencia  
Sergio S. González Muñoz Ph.D.

Uo. Bo.  


**CERTIFICACIÓN DE INÉDITO**

El suscrito, **Daniel Domínguez Serrano**, autor responsable de la contribución anexa, clave: 15-126 intitulada: **LA CENICILLA DEL ROSAL (*Podosphaera pannosa*)**, manifiesta que la información es totalmente inédita, y que todos los coautores (**de haberlos**) están de acuerdo con el contenido y el formato de la misma, y acepta publicarla.

  
El Autor

P.S. Favor de revisar metódicamente el texto firmado para detectar errores mecanográficos, ortográficos, datos erróneos, años equivocados, y demás detalles.

<p>• Oficina Central • Carretera # 9, Explota Avenida Hidalgo • • 56271, San Luis Huastla, Tlaxcala, Estado de México • • 01 (595) 928.4477 • 01 (595) 928.4013 •</p>	<p>• Colegio de Postgraduados • Campus Montecillo • Estadística • • Carretera México-Toluca, Km. 36.5, 56230, Montecillo • • Tlaxcala, Estado de México •</p>	<p>• Apartado Postal 189, 56100, Tlaxcala • • Apartado Postal 56, 56230, Chapingo • • <a href="mailto:editorial@cpqpaes.mx">editorial@cpqpaes.mx</a> •</p>
---	---	--

**Daniel Domínguez Serrano\***, **Rómulo García Velasco**, **Martha Elena Mora Herrera** y **Justino Gerardo González Díaz**, Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México, km 1.5 Carr. Tenancingo-Villa Guerrero, Tenancingo, Edo. México, CP 52400, México; **Martha Lidya Salgado Siclan**, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Edo. México, CP 50200, México. \*Correspondencia: danusso10@hotmail.com

## RESUMEN

En México, la rosa (*Rosa* sp.) es una especie ornamental con importancia económica y una de las más demandadas; entre las enfermedades que la afectan destaca la cenicilla. Esta enfermedad es causada por el biótrofo *Podosphaera pannosa* y repercute en la productividad, calidad, comercialización y costos de producción. Entre los fungicidas empleados para el control de la enfermedad destacan los inhibidores de la desmetilación y de la biosíntesis del ergosterol, así como, las estrobilurinas que inhiben la respiración mitocondrial; pero, algunos de estos fungicidas pierden su eficacia debido a la resistencia que va desarrollando el patógeno. Además, el desarrollo del patógeno está condicionado por diferentes aspectos bioecológicos y por la posible presencia de variabilidad genética; a pesar de que se cuenta con un grupo amplio de medidas, genéticas y biológicas, su control es insuficiente. Actualmente, existen alternativas como el uso de inductores de resistencia, entre ellos fosfito de potasio, silicio y Acibenzolar-s-metil, con potencial para controlar e inducir respuestas de defensa a patógenos como *Peronospora sparsa* y *Podosphaera pannosa* en el cultivo de rosa. En esta revisión se reunió y analizó la información actual sobre la cenicilla del rosal; que permita en un futuro tomar acciones importantes en contra de esta enfermedad.

**Palabras clave.** *Rosa* sp., *Podosphaera pannosa*, Erysiphales, ornamental.



## ABSTRACT

In Mexico, the rose (*Rosa* spp.) is an ornamental species with economic importance and one of the most demanded; among the diseases that affect it emphasizes powdery mildew. This disease is caused by biotrophic *Podosphaera pannosa* and affects productivity, quality, marketing and production costs. Among the fungicides used for controlling the disease include demethylation inhibitors and ergosterol biosynthesis and, strobilurins that inhibit mitochondrial respiration; but, some of these fungicides lose their effectiveness due to resistance that is developing the pathogen. In addition, pathogen development is influenced by different aspects bioecological and the possible presence of genetic variability; although it has a broad range of measures, genetic and biological control is insufficient. Currently, there are alternatives such as using resistance inductors, including phosphite potassium, silicon and acibenzolar-s-methyl, with potential for controlling and inducing defense responses to pathogens such as *Peronospora sparsa* and *Podosphaera pannosa* in rose cultivation. In this review we collected and analyzed current information on the rosebush powdery mildew; allowing in the future take important action against this disease.

**Keywords:** *Rosa* sp., *Podosphaera pannosa*, Erysiphales, ornamental.

## INTRODUCCIÓN

La floricultura en 2010 ocupó una superficie de aproximadamente 702.4 mil ha en el mundo (SAGARPA, 2012), la flor de corte es la de mayor volumen de comercialización y es seguida por las plantas en maceta. Los principales países productores de flor para corte son EE.UU., Japón y Holanda; este último genera cerca de 50 % de la producción mundial, en segundo lugar están Colombia y Ecuador; los cuales destinan una parte preponderante de su producción a la exportación. La producción de flores, se ha convertido en los últimos años en una opción productiva importante, ganando importancia en otros países, como Israel, Costa Rica, Kenia, Tailandia, China, Brasil, Argentina, México, Perú y Chile (Sotomayor, 2007).

El rosal (*Rosa* sp.), es una de las especies ornamentales de mayor importancia económica a nivel mundial (Bélanger *et al.*, 1994; Whitaker y Hokanson, 2009), ha sido

cultivada desde la antigüedad para diferentes propósitos. Actualmente, un gran número de variedades se han desarrollado para plantas de jardín o como flor de corte y más recientemente como plantas de maceta (Bergougnoux *et al.*, 2007). En México, en 2012 se reportaron 712.25 ha cultivadas bajo invernadero con una producción de 5,559,218.51 t, y un aporte económico para el país de \$ 1, 225,457.39 miles de pesos (SIAP, 2016).

El cultivo de rosa es susceptible a un gran número de enfermedades que repercuten significativamente sobre su rendimiento y valor comercial (Bélanger *et al.*, 1994). Entre los patógenos más importantes están los que atacan la parte aérea, como son: *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary, *Diplocarpon rosae* Wolf (Leus *et al.*, 2003; Debener y Byrne, 2014), el Chromista *Peronospora sparsa* Berkeley, *Botrytis cinerea* Pers., *Pragmidium* spp., *Elsinoe rosarum* Jenkins & Bitanc. (Horst y Cloyd, 2007) y recientemente reportado en México *Passalora rosicola* (Pass) U. Braun (= *Cercospora rosicola*) (Ayala-Escobar *et al.*, 2014).

La cenicilla causada por *Podosphaera pannosa* (Syn. *Sphaerotheca pannosa*) está considerada como una de las enfermedades más importantes de las rosas en el mundo (Leus *et al.*, 2006; Scarito *et al.*, 2007) tanto a cielo abierto como en invernadero para la producción de flor de corte (Linde y Debener, 2003; Leus *et al.*, 2006; Pasini *et al.*, 2007). Dicho patógeno forma un micelio blanco pulverulento que se desarrolla sobre las hojas, tallos y flores del hospedante, forma apresorios superficiales y haustorios que penetran a través de la cutícula e ingresan a las células epidérmicas. Este hongo no alcanza a matar a su hospedero, pero utiliza sus nutrientes, reduce la fotosíntesis, e incrementa la respiración y la transpiración (Agrios, 2005), ocasionando pérdidas económicas significativas, al repercutir en la productividad y calidad, así como en su valor en el mercado (Yan *et al.*, 2006). Aunado a esto, hay que considerar los altos costos de producción que se originan debido a las repetidas aplicaciones de fungicidas que se utilizan para controlar la enfermedad, las que a su vez pueden causar fitotoxicidad y provocar la selección de poblaciones resistentes del patógeno (Pasini *et al.*, 1997).

A la fecha existe un gran número de reportes sobre la cenicilla del rosal a nivel mundial, en México poco se ha trabajado con este patógeno, Yáñez-Morales *et al.*

(2009) reportaron estudios morfológicos del anamorfo de *Podosphaera pannosa* sobre *Prunus armeniaca* L. y *Rosa* sp., por su parte, Amano (1986) enlista a la misma especie en *Prunus persica* L. Batsch y *Rosa* sp. Recientemente se realizó el primer reporte formal de *P. pannosa* sobre ocho variedades de rosa en Sinaloa, México (Félix-Gastélum *et al.*, 2014). El objetivo de la presente revisión es recabar y analizar la información disponible sobre los principales aspectos relacionados con la cenicilla del rosal.

## HISTORIA

Theophrastus fue el primero en describir a la cenicilla en el cultivo de rosal alrededor del año 300 A.C., pero fue hasta 1819 que Wallroth, designó a este patógeno como *Alphitomorpha pannosa* (Horst y Cloyd, 2007). Posteriormente, en 1829 fue transferido al género *Erysiphe* y clasificado como *E. pannosa* (Wallr.) Fr, además se describió el estado anamorfo como *Oidium leucoconium* Desm., y finalmente en 1851 fue descrito y reubicado en el género *Sphaerotheca* (Robert *et al.*, 2005). El hongo continuo identificándose como *S. pannosa* (Wallr.:Fr.) Lév., pero algunos autores reconocieron la división de esta especie realizada en 1914 por Woronichine, en dos variedades, *S. pannosa* var. *rosae* que infecta a rosal y *S. pannosa* var. *persicae* que infecta al peral y el almendro. Durante mucho tiempo en Norteamérica existió controversia sobre la identidad del patógeno, considerado taxonómicamente como una especie distinta de la que prevalece en Europa. Algunos reportes indican que *Sphaerotheca humuli* (DC.) Burrill también infectaba a *Rosa* spp., y que las muestras procedentes de Norteamérica correspondían a *S. humuli*, mientras que en las de Europa se encontraba asociado a *S. pannosa* (Salmon, 1900; Horst y Cloyd, 2007). En tanto que, Blumer en 1967, mantuvo el concepto de estas dos especies, como causantes de la cenicilla del rosal, identificó a *S. pannosa* como *Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr.) Lind, sin embargo, no se consideró diferente de *S. humuli*. Al respecto, Coyier en 1961, comparó material fresco y de herbario a nivel mundial; determinó que *S. pannosa* y *S. humuli* no se diferencian claramente y que la cenicilla de los rosales en Estados Unidos es causado por *S. pannosa* var. *rosae* (Horst y Cloyd,

2007). Actualmente, debido a los cambios en la nomenclatura de hongos, el patógeno ahora es conocido como *Podosphaera pannosa* (Wallr. Fr.) de Bary (Sinónimo *Sphaerotheca pannosa*) (Saenz y Taylor, 1999; Braun y Takamatsu, 2000; Horst y Cloyd, 2007).

### **CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

*Podosphaera pannosa* es un patógeno biótrofo cuyo teleomorfo se ubica en los ascomicetos; es heterotálico, fenómeno que fue demostrado por Bender y Coyier (1985). La forma en que se presenta el hongo sobre el cultivo es el estado asexual, identificado como; *Oidium leucoconium* Desem (Lediuk *et al.*, 2010). Este patógeno pertenece al reino Fungi, filum Ascomycota, subfilum Pezizomycotina, clase Leotiomycetes, orden Erysiphales, familia Erysiphaceae, género *Podosphaera* y especie *pannosa* (NCBI, 2014).

### **CICLO DE LA ENFERMEDAD**

En rosales cultivados a cielo abierto, el hongo hiberna principalmente en forma de micelio sobre las yemas, ocasionalmente forma casmotecios sobre hojas, pétalos y tallos (particularmente entorno a las espinas). En rosas cultivadas bajo 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 condiciones altas de temperatura (21 °C) y humedad relativa (HR) del 100 %, las esporas germinan, sin embargo, la germinación disminuye si existe una película de agua sobre las hojas (Perera y Wheeler, 1975; Sivapalan, 1993). 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; posteriormente, se produce en uno de los extremos del conidio, un tubo germinativo corto y dentro de las 6 h siguientes se forma un apresorio inicial, del cual se desarrolla una hifa que penetra directamente la cutícula y llega hasta las células epidérmicas en donde forma estructuras denominadas haustorios (Agrios, 2005). Dichas estructuras tienen un núcleo y están delimitados por una membrana fina que se introduce en el citoplasma de la célula epidermal, evento que ocurre entre 20 y 24 h. A pesar de que el citoplasma

es empujado y deformado por el haustorio del hongo, la célula no se daña; el haustorio presenta una superficie a través de la cual puede absorber sustancias solubles de la célula del hospedante, las cuales se translocan al micelio en desarrollo y a las cadenas de conidios que se forman sobre la superficie de las hojas (Horst y Cloyd 2007; Whitaker y Hokanson, 2009).

Las hifas que forman el micelio se desarrollan para producir conidióforos erectos y cortos sobre el tejido, este proceso se inicia a las 48 h después de la germinación del conidio (Agrios, 2005). Los conidióforos iniciales se forman como pequeñas hinchazones sobre las hifas inmediatamente por encima de los núcleos, estos conidióforos se alargan y los núcleos se dividen, posteriormente 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 bajo condiciones óptimas de temperatura (21 °C) y HR (97 a 99 %) puede formarse una cadena de conidios en tan solo 72 h después de la infección inicial, aunque se requieren normalmente entre 5 y 7 días. El conidio liberado madura y forma nuevas colonias que producen conidióforos y conidios; que provocan nuevas infecciones (Horst y Cloyd 2007). En la fase sexual, el hongo es capaz de producir casmotecios con ascas elipsoidales a ovoides (-subglobosas) que contienen (4-)8 ascosporas, capaces de infectar el tejido del rosal e iniciar nuevos ciclos de la enfermedad (Whitaker y Honkanson, 2009).

## **EPIDEMIOLOGIA**

En variedades de rosal se reportan diferencias en niveles de susceptibilidad a *P. pannosa*. Los rosales rastreros, trepadores e híbridos tipo Té (tipo arbusto de flores grandes) son susceptibles, mientras que las rosas wichuraianas (arbusto trepador) presentan altos niveles de resistencia; otros reportes indican que cultivares de rosal Floribunda y Polyantha son más susceptibles que los híbridos Té. Por otra parte, es importante el estado de crecimiento del tejido al momento de la infección, ya que el hongo crece bien sobre el tejido joven, el desarrollo del patógeno se incrementa conforme se forman nuevos brotes y decrece cuando estos maduran (Horst y Cloyd 2007). Así mismo, el sombreado, la plantación estrecha, el crecimiento abundante de follaje o cualquier factor que reduzca la circulación de aire y promueva el incremento

de humedad son condiciones favorables para el patógeno (Linde y Shishkoff, 2003). En el desarrollo de *P. pannosa*, dos factores estrechamente relacionados entre sí son la temperatura y la humedad relativa. Se reporta que el ciclo completo de la infección se desarrolla en condiciones óptimas de temperaturas entre 15 y 25 °C y de 75 a 79 % de HR, condiciones que son suficientes para obtener tasas considerablemente altas de desarrollo de las estructuras de infección del hongo como; micelio, conidióforos, conidios, apresorios y haustorios (Kashimoto *et al.*, 2003). Por su parte, Longrée (1939) reportó que la temperatura mínima, óptima y máxima para el desarrollo de *P. pannosa* son 3 a 5, 21 y 33 °C, respectivamente, y humedad relativa del 97 a 99 %. Así mismo, se ha documentado que los conidios pueden soportar largos periodos a 0 °C sin pérdida de viabilidad, siempre que permanezcan en condiciones de humedad (Price, 1970). Otros autores, señalan que la germinación óptima de los conidios ocurre de 2 a 4 h después de la deposición de los conidios sobre el tejido con una temperatura de 20 a 23 °C y con 100 % de HR, temperaturas cerca de los 30 °C inhiben su germinación (Xu, 1999; Horst y Cloyd, 2007). Otras contribuciones afirman que las condiciones favorables para la germinación de los conidios son 21 °C y 97 a 99 % de HR; mientras que la maduración y liberación se da a los 26.7 °C con 40 a 70 % de humedad en el día y por la noche 15.5 °C y 90 a 99 % de humedad permite la formación y germinación óptima de los conidios, así como la infección, varios ciclos repetitivos de estas condiciones son necesarios para el desarrollo de una epidemia (Horst y Cloyd, 2007). La enfermedad también puede ser originada mediante el desarrollo sexual del hongo, el cual es característico de un ascomiceto, debido a que forma un cuerpo fructífero denominado casmotecio (Agris, 2005), dentro del cual se encuentran las ascas y de éstas las ascosporas que son liberadas y dispersadas por el viento para iniciar el proceso de infecciones primarias de la enfermedad.

## **SÍNTOMAS Y SIGNOS**

Los síntomas de la enfermedad se desarrollan rápidamente en las partes aéreas de la planta, aunque generalmente son las hojas y brotes los más afectados (Rankovic y Comic, 1997; Xu, 1999; Eken, 2005). Los primeros indicios surgen sobre las hojas jóvenes como áreas ligeramente elevadas que a menudo presentan una coloración

rojiza, donde posteriormente se forman los signos de la enfermedad que originan un crecimiento de polvo blanquecino, que aparece tanto en el envés como en el haz de la hoja (Watkins, 1990). Cuando existen condiciones favorables, la colonización se extiende por toda la hoja, lo que provoca que parezca retorcida o curvada; es probable que las hojas maduras no presenten los síntomas típicos de la enfermedad, pero pueden formarse áreas circulares e irregulares cubiertas por el desarrollo del hongo hasta causar su desprendimiento prematuro (Horst y Cloyd, 2007) o bien el patógeno provoca menor distorsión sobre las hojas maduras pero con el tiempo estas se necrosan (Agrios, 2005; Whitaker y Hokanson, 2009). Al respecto, Watkins (1990) menciona que las hojas maduras son resistentes a la cenicilla y por lo general no muestran desarrollo de los síntomas, o bien sólo pequeñas lesiones locales, sin embargo, cuando el daño es severo, el crecimiento de las hojas se reduce y afecta los procesos fotosintéticos, y por ende los botones florales presentan un crecimiento débil y retardado.

El hongo puede infectar también a las flores y crecer abundantemente sobre los pedicelos, sépalos y receptáculos, especialmente cuando el botón floral no se ha abierto, por lo que la infección produce flores de mala calidad (Horst y Cloyd, 2007). En algunos casos los botones infectados se necrosan y caen, y si la infección se produce en las flores, los pétalos crecen en forma irregular e incompleta (Whitaker y Hokanson, 2009). El daño también puede presentarse sobre los tejidos suculentos de los tallos jóvenes, especialmente en la base de las espinas donde se forman colonias pulverulentas; este crecimiento persiste aun en los tallos maduros (Horst y Cloyd, 2007). Agrios (2005) reporta que sobre los vástagos verdes y jóvenes aparecen manchas blancas constituidas por hifas del hongo que coalescen y llegan a cubrir totalmente los ápices en crecimiento; debido a la infección, estos ápices se arquean o encorvan. En ocasiones, el hongo infecta las yemas de las plantas y las coloniza antes de que puedan abrir, con ello, no llegan abrirse o abren inadecuadamente; la infección avanza hasta los verticilos florales, los cuales se decoloran, atrofian y finalmente mueren.

## MORFOLOGÍA

### Estado anamorfo

El estado anamorfo *Oidium leucoconium* Desm. se caracteriza por poseer micelio primario blanco y micelio secundario denso, forma colonias de apariencia pulverulenta de color blanco a grisáceo (Lediuk *et al.*, 2010). Las hifas primarias son hialinas, de pared delgada y lisas, de 3 a 9  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun, 1987; Havrylenko, 1995; Braun y Cook, 2012), mientras que las hifas secundarias son ásperas, escasamente ramificadas, de pared gruesa de 4.5 a 8  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun y Cook, 2012). En México, se reporta que el micelio presenta un diámetro promedio de 4.7 a 6  $\mu\text{m}$  (Félix-Gastélum *et al.*, 2014). Los apresorios hifales son casi indistintos como protuberancias, mientras que los conidióforos emergen de la superficie de las células madre hifales, pueden encontrarse en la parte central de ésta o no, son erectos y llegan a medir hasta 210  $\mu\text{m}$  de largo con células basales rectas, subcilíndricas de 40 a 80 x 7.5 a 12  $\mu\text{m}$ , seguida por 1 o 2 células cortas (Braun, 1987; Braun y Cook, 2012). Al respecto, Havrylenko (1995) menciona que los conidióforos son del tipo *Euoidium*, rectos, con cuerpos de fibrosina y célula basal cilíndrica de 50 a 80 x 10 a 12  $\mu\text{m}$ , seguido por 5 a 7 células cortas; características que se asemejan con las observaciones realizadas por Lediuk *et al.* (2010) pero con células basales cilíndricas de dimensiones de 40 a 55 x 7 a 10  $\mu\text{m}$ . Por su parte, Félix-Gastélum *et al.* (2014) reportaron igualmente conidióforos del tipo *Euoidium*, sin embargo, registraron de 2 a 5 y ocasionalmente 6 células subsiguientes. Posteriormente, los conidióforos producen conidios en cadena, elipsoidales-ovoide a doliformes de 20 a 33 x 10 a 19  $\mu\text{m}$  (longitud/ancho) con tubos germinativos más o menos terminales a laterales, cortos o largos, simples y delgados de 4 a 5  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun, 1987; Braun y Cook, 2012). No obstante, algunos autores difieren sobre la forma y dimensiones de los conidios (Homma, 1937; Havrylenko, 1995; Rankovic y Comic, 1997; Lediuk *et al.*, 2010; Félix-Gastélum *et al.*, 2014). Esta diversidad puede deberse a un gran número de factores incluyendo la humedad, el huésped, edad de las hojas del huésped y la temporada (Homma, 1937; Salmon, 1900). Así mismo influye la solución en que se observan las muestras.



### Estado teleomorfo

Con la llegada del invierno, el hongo forma casmotecios (Agrios, 2005), los cuales se encuentran inmersos en las manchas o capas miceliales, más o menos gregarios de 70 a 115  $\mu\text{m}$  de diámetro y raramente se encuentran más grandes, células peridiales irregularmente poligonal a redondeadas, de 8 a 25  $\mu\text{m}$  de ancho (Braun, 1987; Braun y Cook, 2012). Algunos autores reportan que las dimensiones del casmotecio están en un rango de 80 a 120  $\mu\text{m}$  de diámetro, pero, difieren sobre la dimensión de las células peridiales, que están en una categoría de 8 a 15  $\mu\text{m}$  de ancho (Homma, 1937; Havrylenko, 1995). No obstante, en Korea se reportó que los casmotecios presentaron dimensiones de 75 a 100  $\mu\text{m}$  de diámetro (Lee *et al.*, 2011), con células peridiales de 10 a 20  $\mu\text{m}$  de ancho (Shin, 1999). Mientras que en Yugoslavia, se reportan casmotecios con diámetros de 70 a 99  $\mu\text{m}$  (Rankovic y Comic, 1997). Dichos casmotecios presentan apéndices miceloides en la parte inferior, por lo general no son muy numerosos, como micelio, simples, a menudo característicamente sinuosos, contorsionados y entrelazados entre sí y con el micelio, en ocasiones muy cortos, al menos más cortos que el diámetro del casmotecio, algunas veces rudimentarios, pueden verse apéndices más largos, pero raramente exceden 0.5 a 2(-3) veces el diámetro del casmotecio (Braun y Cook, 2012). Por su parte, Shin (1999) detalla que los apéndices miceloides miden de 4 a 6  $\mu\text{m}$  de ancho, variables en longitud, usualmente 0.3 a 3 veces el diámetro del casmotecio, presentan 1 a 3 (-4) septas, septo basal de 10 a 20  $\mu\text{m}$  de distancia desde la base, lisos, moderadamente de pared gruesa, usualmente convirtiéndose de pared delgada en la parte apical, de color café claro en la base y tornándose hialina en la parte superior.

Las ascas son hialinas, elipsoidales a ovoides (-subglobosas), de 70 a 100 x 50 a 80  $\mu\text{m}$  (longitud/ancho), sésiles, contienen de 4 a 8 ascosporas, de forma elipsoidales a ovoides (-doliformes) de 16 a 28 x 9 a 20  $\mu\text{m}$  (Braun, 1987; Braun y Cook, 2012). Sin embargo, algunos autores difieren sobre la forma y dimensiones de las ascas y ascosporas (Homma; 1937; Havrylenko, 1995; Rankovic y Comic, 1997; Shin, 1999; Lee *et al.*, 2011).

## ESTUDIOS MOLECULARES REFERENTES A *Podosphaera pannosa*

Cook *et al.* (1997) no lograron distinguir los anamorfos de los géneros *Sphaerotheca* y *Podosphaera* mediante la observación de la superficie de los conidios con microscopía electrónica de barrido y afirmaron que la diferencia entre estos se basa únicamente sobre la planta huésped. Pero, resultados obtenidos mediante la secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal agruparon a ambos géneros en un mismo grupo, basándose en la longitud de los nucleótidos, que al mismo tiempo coincidió con el análisis filogenético (Takamatsu *et al.*, 1998), así mismo, Saenz y Taylor (1999) reportaron que la combinación de las características morfológicas y resultados moleculares, permitieron agrupar a los géneros *Sphaerotheca* y *Podosphaera* en un mismo grupo; dichos estudios apoyan la teoría de que ambos géneros son congéneres; concluyendo así, que todas las especies de *Sphaerotheca* pertenecen al género *Podosphaera*, por lo que el hongo anteriormente identificado como *S. pannosa* (Wallr.: Ex Fr.) Lév. ahora se denomina *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary (fam. Erysiphaceae, tribu Cystotheceae) (Braun y Takamatsu, 2000; Braun *et al.*, 2002).

En un estudio realizado en Colombia por Álvarez *et al.* (2001) se encontró que la amplificación de la región ITS del gen 5.8S del rADN con los primers ITS1 e ITS2, permitió confirmar la identidad de 16 muestras de *P. pannosa* con fragmentos de igual tamaño (295 pb); así mismo, corroboraron la identidad mediante enzimas de restricción (*AluI* y *HindI*) las cuales mostraron un patrón de bandas iguales para todas las muestras con cada enzima. Por su parte, Cunnington *et al.* (2003) diseñaron los oligos PMITS1 y PMITS2, mediante los cuales reafirmaron la identidad de *P. pannosa* sobre *Rosa* sp., *Eucalyptus populnea* F. Muell. y *Eucalyptus* sp. con 100 % de similitud para ambos hospederos. Así mismo, Jankovics *et al.* (2011) amplificaron la región ITS del rADN mediante PCR anidado con los oligos PMITS1 y PMITS2 para una primera reacción y los oligos ITS1F e ITS4 para una segunda, esto les permitió corroborar la identidad de *P. pannosa* en durazno (*Prunus persica* (L.) Batsch) con secuencias idénticas o similares del 99 % reportadas anteriormente por Saenz y Taylor (1999) y Mori *et al.* (2000).

En otro estudio realizado por Leus *et al.* (2006) se colectaron 26 muestras de *Podosphaera* sobre *Rosa* sp. y *Prunus* spp. y mediante análisis de secuencias de la región ITS del rADN por PCR anidado con los oligos ITS1F e ITS4 como primera reacción y los oligos ITS5 e ITS4 como segunda reacción, lograron identificar 24 secuencias correspondientes a *P. pannosa*, de las cuales un grupo de 18 secuencias fueron idénticas con las reportadas por Takamatsu *et al.* (2000). Igualmente se identificó a *P. pannosa* en México con una sola reacción mediante la utilización de los primers ITS1F e ITS4 en *Rosa* spp. (Félix-Gastélum *et al.*, 2014) y en Estados Unidos sobre Vinca (*Catharanthus roseus* (L) G. Don) (Romberg *et al.*, 2014). Mientras que en Francia con los primers ITS1 e ITS4 se obtuvo una secuencia de nucleótidos (Accesión No. JN654341) que reveló un 100 % de identidad con *P. pannosa* sobre *Prunus cerasus* (Hubert *et al.*, 2012). También se han reportado estudios con los oligos ITS5 y P3 con los que se ha conseguido confirmar la identidad de *P. pannosa* (Takamatsu *et al.*, 2000; 2010). Al respecto se corroboró la identidad de *P. pannosa* con la utilización de los oligos ITS5 y P3, al obtener una secuencia de 477 pb que se alineó en el GenBank con porcentajes de similitud por arriba del 98 % con accesiones; AF011322, AB022348 y AB525937 de *P. pannosa* previamente reportadas en *Rosa* spp. (Lee *et al.*, 2011).

## DIVERSIDAD GENÉTICA

Estudios sobre la interacción entre plantas de rosal y *P. pannosa*, han revelado que existen varias razas patogénicas del hongo y ambos loci de resistencia tanto cualitativos como cuantitativos están presentes en el huésped (Linde y Debener, 2003; Leus *et al.*, 2006). Mence y Hildebrandt (1966) probaron la resistencia y susceptibilidad de 17 variedades y seis especies de rosal a *P. pannosa*, así confirmaron la especialización biológica del hongo, al observar que los conidios obtenidos sobre *Rosa virginiana* Mill., infectaron rápidamente a *Rosa rugosa* Thunb. pero no se desarrollaron colonias en la mayoría de las variedades; por lo que sugirieron la existencia de dos razas, que difieren en el huésped y producción de conidios. En contraste Bender y Coyier (1984) obtuvieron nueve muestras de cenicilla de siete híbridos y dos variedades de *Rosa* sp., evaluaron la virulencia y reportaron como resultado la

identificación de cinco razas de *Podosphaera pannosa* con adaptación diferencial de sus hospedantes originales en Oregón, EUA.

Resultados estrechamente relacionados fueron descritos por Linde y Debener (2003) dichos autores utilizaron diez genotipos de rosal y ocho muestras monoconidiales de *P. pannosa*, los resultados indicaron la clasificación de ocho razas diferentes, lo que demostró que las poblaciones de *P. pannosa* exhiben una alta diversidad de genes de virulencia. Por su parte, Álvarez *et al.* (2001) realizaron estudios de patogenicidad con 16 muestras de *P. pannosa* y seis variedades de rosal, demostraron que en la variedad Tineke® no había esporulación con la muestra Sp6, pero causó enfermedad en las otras variedades; por otra parte, el resto de las muestras esporularon en todos los cultivares, lo que sugiere la presencia de al menos dos patotipos.

Es importante destacar que no en todos los ensayos se han diferenciado razas, Leus *et al.* (2002) obtuvieron muestras monospóricas de *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* a partir de colectas de diferentes localidades de Bélgica, los cuales fueron probados en siete genotipos de rosal con diferentes niveles de resistencia para examinar la posible existencia de patotipos; pero no encontraron evidencias de este fenómeno. Sin embargo, los mismos autores revelaron la existencia de patotipos de *P. pannosa*, al mostrar una respuesta diferencial en la virulencia cuando se probaron en rosal *in vitro*, así mismo, se observó que algunas muestras podían infectar también plántulas de *Prunus avium* L. (Leus *et al.*, 2003). Más tarde Leus *et al.* (2006) obtuvieron muestras monoconidiales de *P. pannosa* de *Rosa* sp. y *Prunus* sp. colectados en Bélgica, Alemania, Francia, Dinamarca, Israel y Holanda las cuales se caracterizaron en base a las reacciones diferenciales en genotipos *in vitro* de rosal y *Prunus avium* y por análisis de secuencias del ADN de la región ITS del rDNA; en los resultados se identificaron 24 muestras de *P. pannosa* con distinto grado de especificidad del hospedante; un primer grupo de 18 muestras fue altamente virulento sobre rosal y no, o muy poco virulento en *P. avium*, un segundo grupo de 4 muestras fue altamente virulento sobre ambos hospederos y un tercer grupo con 2 muestras que tenían secuencias idénticas a las del grupo 1, pero no infectaron al rosal.

## MANEJO DE LA ENFERMEDAD

El manejo de la cenicilla del rosal bajo invernadero se realiza principalmente mediante la aplicación de fungicidas sintéticos (Passini *et al.*, 2007; Scarito *et al.*, 2007; Shetty *et al.*, 2012), a intervalos de 7 a 14 días para proteger el tejido inmaduro susceptible (Xu, 1999). Los fungicidas del grupo de inhibidores de la desmetilación y los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (Pasini *et al.*, 1997; Pasini *et al.*, 2007) han mostrado efectividad biológica en el control de la cenicilla causada por *P. pannosa*; sin embargo, repetidas aplicaciones de estos fungicidas puede causar fitotoxicidad, reducir la longitud de los tallos y al mismo tiempo originar selección de poblaciones resistentes del patógeno (Pasini *et al.*, 1997; Daughtrey y Benson, 2005). Así mismo, se ha documentado que el grupo de las estrobilurinas (inhibores de la respiración mitocondrial) como: azoxistrobin, cresoxim-metilo, piraclostrobina y trifloxistrobin ejercen un control eficiente de la cenicilla (Daughtrey y Benson, 2005). Al respecto, Tjosvold y Koike (2001) reportaron que fungicidas como azoxistrobin (Heritage<sup>®</sup>) a dosis de 0.07 g L<sup>-1</sup>, cresoxim-metilo (Cygnus<sup>®</sup>) a dosis de 0.12 g L<sup>-1</sup> y trifloxistrobin (Compass<sup>®</sup>) a dosis de 0.15 g L<sup>-1</sup> mostraron un buen control de la enfermedad, sin causar fitotoxicidad ni pérdida de vigor en la planta.

Se ha reportado también que el desarrollo de la cenicilla es adversamente afectado por la presencia de una lámina de agua en la superficie de las hojas (Perera y Wheeler, 1975; Sivapalan, 1993); pero este método no es recomendable en condiciones comerciales puesto que el exceso de agua puede favorecer el desarrollo de otras enfermedades como el mildiu veloso (*Peronospora sparsa* Berkeley) y la mancha negra del rosal (*Diplocarpon rosae* Wolf.) (Gullino y Garibaldi, 1996; Pasini *et al.*, 1997).

También se han utilizado como estrategias de control el uso de polímeros formadores de una película, dichos productos han demostrado inhibir el desarrollo de la enfermedad, que actúan probablemente como una barrera física o química a la penetración del patógeno (Hagiladi y Ziv, 1986). Otro enfoque interesante es el uso de productos naturales como el bicarbonato de sodio y aceites como lo señalan Horst *et al.* (1992) y Pasini *et al.* (1997) quienes demostraron su eficacia en el control de la enfermedad.

Por otra parte, se ha reportado que algunos extractos de plantas como *Azadirachta indica* Adr. Juss., *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, *Macleaya cordata* (Willd) R. Br., y *Citrus paradisi* Macf. reducen significativamente la infección por *P. pannosa* (Pasini *et al.*, 1997; Newman *et al.*, 1999; Wojdyla, 2001; Toppe *et al.*, 2007). Así mismo, se documentó el uso de la grasa anhídrida de leche (0.7 %) y el aceite de soya (2 %) para el control la cenicienta sobre plantas de rosal en maceta; ambos productos redujeron la severidad de la enfermedad de un 2 a 5 % en relación al control químico (mayor a un 40 % de severidad) y al testigo donde la severidad incremento hasta el 100 % (Ah Chee *et al.*, 2011). Recientemente Seddigh *et al.* (2014) demostraron también que la aplicación con té de composta mostró un mayor porcentaje de control sobre la enfermedad con respecto al tratamiento químico con Penconazol (Topas®).

Actualmente, existen nuevas alternativas de manejo para el control de enfermedades como el uso de inductores de resistencia que pueden reducir la severidad del ataque por algún patógeno. Por ejemplo, Herrero *et al.* (2012) señalaron que la aplicación de Acibenzolar-S- methyl (Bion®) a dosis de 0.1 a 0.2 mg mL<sup>-1</sup>, proporcionan un control efectivo de la enfermedad. El uso del silicio también se ha utilizado para el control de algunas enfermedades, al respecto, Voogt y Sonneveld (2001) mencionaron que la aplicación de silicio en cultivo hidropónico redujo el desarrollo de la cenicienta en rosal e incrementó al mismo tiempo su rendimiento. Por su parte, Shetty *et al.* (2012) estudiaron cuatro genotipos de rosales en maceta con diferentes niveles de susceptibilidad a la enfermedad, las plantas fueron tratadas con una solución nutritiva de 3.6 mM de Si (100 ppm) suministrado como metasilicato de potasio, los resultados fueron favorables al disminuir la severidad de la enfermedad hasta en un 48.9 %. Así mismo, Torres *et al.* (2013) reportaron que la aplicación de ácido acetilsalicílico a dosis de 0.3 g L<sup>-1</sup> redujo la incidencia y severidad de la enfermedad en rosal variedad Classic Cezane®.

Del mismo modo, algunos hongos antagonistas y bacterias para el control de la cenicienta en rosal (Bélanger *et al.*, 1994; Eken, 2005; Elmhirst *et al.*, 2011) y al menos un insecto (*Thrips tabaci* Lind.) han sido reportados (Coyier, 1983). Se ha mencionado que varios hongos como *Ampelomyces quisqualis* Ces., *Cladosporium oxysporum*

(Berk. and Curt.), *Tilletiopsis* sp. y *Verticillium lecanii* (Zimm.), entre otros, parasitan o son antagonistas de la cenicilla del rosal (Bélanger *et al.*, 1994; Ng *et al.*, 1997; Pasini *et al.*, 1997; Agrios, 2005). No obstante, los experimentos a gran escala con estos antagonistas han mostrado resultados infructuosos o no se han intentado debido a los altos niveles de humedad relativa que se requiere para lograr el máximo control, especialmente el caso de *A. quisqualis* y *Tilletiopsis*, que pierden su eficacia rápidamente por debajo del 90 % de HR (Philipp *et al.*, 1990).

### RESISTENCIA A LA CENICILLA

Algunas de las nuevas variedades de rosal poseen resistencia a la enfermedad, pero, pocas tienen niveles altos de resistencia, presuntamente por el desarrollo de nuevas razas de *P. pannosa* que rompen esta resistencia (Horst y Cloyd, 2007). Algunas de ellas son resistentes en ciertas áreas geográficas, pero susceptibles en otras o incluso en la misma localidad; y son resistentes algunos años y susceptibles en otros (Agrios, 2005). Linde y Debener (2003) demostraron por primera vez la acción de un sólo gen de resistencia dominante (*Rpp1*) contra *P. pannosa* basado en inoculaciones repetidas con muestras monoconidiales. Este modelo basado en un sólo gen de resistencia dominante fue respaldado mediante el aislamiento de marcadores moleculares estrechamente ligados al gen *Rpp1* (Linde *et al.*, 2004). Al respecto, Xu *et al.* (2005) identificaron tres marcadores RGA22C, RGA4A y RGA7B, vinculados a un locus del gen de resistencia llamado *CRPM1* para la cenicilla del castaño rosa. Por su parte Li *et al.* (2003) introdujeron el gen *Ace-AMP1* sobre *Rosa hybrida* cv. Carefree Beauty®, gen que codifica para una proteína antimicrobiana, resultante en plantas transgénicas que mostraron una mayor resistencia a *P. pannosa* tanto en ensayos *in vitro* con hojas desprendidas como con plantas establecidas bajo invernadero.

Además de estos importantes genes, varias regiones QTL de importancia para la resistencia de la cenicilla han sido localizadas en mapas de ligamiento para ambas poblaciones de rosales tanto diploides y tetraploides (Crespel *et al.*, 2002; Dugo *et al.*, 2005; Linde *et al.*, 2006; Hosseini Moghaddam *et al.*, 2012). Sin embargo, factores de resistencia monogénicas puede conducir a lo que se llama ciclos de auge y caída (Thompson y Burdom, 1992), lo que hace que la resistencia sea inefectiva en un lapso

corto de tiempo. Por otra parte, el uso de genes de resistencia cuantitativos como alternativos a los genes de resistencia monogénica se ven obstaculizados por la naturaleza tetraploide de la mayoría de los rosales cultivados, por lo que una alternativa a la resistencia convencional, es utilizar estrategias de mejoramiento que utilicen genes de un solo dominante o QTLs o a su vez, locus de resistencia a mildiu (MLO); podrían ofrecer algunas ventajas (Kaufmann *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONES

El cultivo del rosal ha alcanzado gran importancia por la demanda creciente que existe para la exportación. Esto ha impulsado a los productores para producir en forma eficiente y con alta calidad para cubrir las exigencias del mercado internacional, sin embargo, uno de los problemas principales que impiden los estándares de exportación en México son los problemas fitopatológicos, como la cenicilla que es una de las enfermedades más importantes a nivel mundial tanto en rosales cultivados a cielo abierto como bajo invernadero, dicha enfermedad es una de las principales causas para que la flor no sea aceptada para su exportación.

Se debe profundizar en los aspectos epidemiológicos y de comportamiento de *Podosphaera pannosa*, puesto que en la actualidad la enfermedad ha mostrado una estrecha relación con las condiciones ambientales en cualquier época del año, lo que puede favorecer el surgimiento de nuevas razas patogénicas.

La identificación del agente causal a nivel de especie puede ser difícil y riesgosa, al considerar únicamente aspectos morfológicos, sobre todo en aquellas regiones donde no se detecta la fase teleomórfica, por lo que el desarrollo de métodos de identificación con la aplicación de técnicas moleculares es de suma importancia, así mismo, es necesario el estudio de otras regiones más específicas del genoma que puedan diferenciar entre poblaciones de *Podosphaera pannosa* cierta variabilidad genética que pueda existir.

Debido a la creciente demanda tanto de mercados nacionales como internacionales sobre el manejo de los cultivos es indispensable la adopción de un manejo integrado de la enfermedad con medidas preventivas como la selección de variedades, incorporación de nuevas medidas de control como el uso de inductores de



resistencia y extractos de plantas que sean inocuas con la naturaleza y con la salud humana, así mismo, que permitan reducir a un mínimo el número de aspersiones necesarias para el manejo de la enfermedad; de manera que pueda evitarse al mismo tiempo el surgimiento de razas del patógeno resistentes a las sustancias utilizadas para su control.

### LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. New York, USA. 922 p.
- Ah Chee, A., K. V. Wurms, and M. George. 2011. Control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) on rose (*Rosa* L. sp.) using anhydrous milk fat and soybean oil emulsions. N. Z. Plant Prot. 64: 195-200.
- Álvarez E., J. L. Claroz, J. B. Loke, y C. Echeverry E. 2001. Caracterización genética y patogénica en Colombia de *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*, agente causal del mildew polvoso en la rosa. Fitopatol. Colomb. 25: 7-14.
- Amano, K. 1986. Host range and geographical distribution of the powdery mildew fungi. Japan Scientific Societies Press. Tokyo, Japan. 741 p.
- Ayala-Escobar, V., A. Madariaga-Navarrete, A. Castañeda-Vildozola, V. Santiago-Santiago, y C. Nava-Díaz. 2014. Etiología de la mancha foliar en *Rosa* sp. Rev. Mex. Fitopatol. 32: S72.
- Bélanger, R. R., C. Labbé, and W. R. Jarvis. 1994. Commercial-scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. Plant Dis. 78: 420-424.
- Bender, C. L., and D. L. Coyier. 1984. Isolation and identification of races of *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. Phytopathology 74: 100-103.
- Bender, C. L., and D. L. Coyier. 1985. Heterothallism in *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. Trans. Br. Mycol. Soc. 84: 647-652.
- Bergougnoux, V., J. C. Caissard, F. Jullien, J. L. Magnard, G. Scalliet, J. M. Cock, P. Hugueney, and S. Baudino. 2007. Both the adaxial and abaxial epidermal layers of the rose petal emit volatile scent compounds. Planta 226: 853-866.
- Blumer, S. 1967. Echte Mehltaupilze (Erysiphaceae): ein Bestimmungsbuch für die in Europa vorkommenden Arten. Veb Gustav Fischer Verlag Jena. Germany. 436 p.

- Braun, U. 1987. A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). Schweizerbart Science Publishers. Stuttgart, Germany. 700 p.
- Braun, U., and R. T. A. Cook. 2012. Taxonomic manual of the *Erysiphales* (powdery mildews). CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Utrecht, Netherlands. 707p.
- Braun, U., and S. Takamatsu. 2000. Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula*, (Erysipheae) and *Cystotheca*, *Podospaera*, *Sphaerotheca* (Cystothecaceae) inferred from rDNA ITS sequences-some taxonomic consequences. *Schlechtendalia* 4: 1-33.
- Braun, U., R. T. A. Cook, A. J. Inman, and H. D. Shin. 2002. The taxonomy of the powdery mildew fungi. *In: Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise*. Bélanger, R. R., W. R. Bushnell, A. J. Dik, and T. L. W. Carver (eds.). APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. pp: 13-55.
- Cook, R. T. A., A. J. Inman, and C. Billings. 1997. Identification and classification of powdery mildew anamorphs using light and scanning electron microscopy and host range data. *Mycol. Res.* 101: 975-1002.
- Coyier, D. L. 1983. Control of rose powdery mildew in the greenhouse and field. *Plant Dis.* 67: 919-923.
- Crespel, L., M. Chirollet, C. Durel, D. Zhang, J. Meynet, and S. Gudín. 2002. Mapping of qualitative and quantitative phenotypic traits in *Rosa* using AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 105: 1207-1214.
- Cunnington, J. H., S. Takamatsu, A. C. Lawrie, and I. G. Pascoe. 2003. Molecular identification of anamorphic powdery mildews (Erysiphales). *Australasian Plant Pathol.* 32: 421-428.
- Daughtrey, M. L., and D. M. Benson. 2005. Principles of plant health management for ornamental plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 141-169.
- Debener, T., and D. H. Byrne. 2014. Disease resistance breeding in rose: current status and potential of biotechnological tools. *Plant Sci.* 228: 107-117.
- Dugo, M. L., Z. Satovic, T. Millán, J. I. Cubero, D. Rubiales, A. Cabrera, and A. M. Torres. 2005. Genetic mapping of QTLs controlling horticultural traits in diploid roses. *Theor. Appl. Genet.* 111: 511-520.

- Eken, C. 2005. A review of biological control of rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) by fungal antagonists. *Acta Hort.* 690: 193-196.
- Elmhirst, J. F., C. Haselhan, and Z. K. Punja. 2011. Evaluation of biological control agents for control of botrytis blight of geranium and powdery mildew of rose. *Can. J. Plant Pathol.* 33: 499-505.
- Félix-Gastélum, R., G. Herrera-Rodríguez, C. Martínez-Valenzuela, I. E. Maldonado-Mendoza, F. R. Quiroz-Figueroa, H. Brito-Vega, and S. Espinosa-Matías. 2014. First report of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) of roses in Sinaloa, Mexico. *Plant Dis.* 98: 1442.
- Gullino, M. L., and A. Garibaldi. 1996. Disease of roses: evolution of problems and new approaches for their control. *Acta Hort.* 424: 195-202.
- Hagiladi, A., and O. Ziv. 1986. Use of antitranspirants for control of powdery mildew on field grown roses. *J. Environ. Hort.* 4: 65-68.
- Havrylenko, M. 1995. Erysiphaceous species from Nahuel Huapi National Park, Argentina. Part I. *New Zeal. J. Bot.* 33: 389-400.
- Herrero, M. L., B. Toppe, and H. Eikemo. 2012. Evaluation of acibenzolar-S-methyl and other low-toxicity products for control of rose powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in greenhouses. *Acta Agric. Scand. B.* 62: 666-671.
- Homma, Y. 1937. *Erysiphaceae* of Japan. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* 38: 183-461.
- Horst, R. K., and R. A. Cloyd. 2007. *Compendium of rose diseases and pests*. Second Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 96 p.
- Horst, R. K., S. O. Kawamoto, and L. L. Porter. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Dis.* 76: 247-251.
- Hosseini Moghaddam, H., L. Leus, J. De Riek, J. Van Huylenbroeck, and E. Van Bockstaele. 2012. Construction of a genetic linkage map with SSR, AFLP, and morphological markers to locate QTLs controlling pathotype-specific powdery mildew resistance in diploid roses. *Euphytica* 184: 413-427.
- Hubert J., C. Fourrier, J. L. Fournié, and R. Ioos. 2012. First report of powdery mildew caused by *Podosphaera pannosa* on *Prunus cerasus* in France. *Plant Dis.* 96: 1375.

- Jankovics T., N. Dolovac, A. Bulajić, B. Krstić, T. Pascal, M. Bardin, P. C. Nicot, and L. Kiss. 2011. Peach rusty spot is caused by the apple powdery mildew fungus, *Podosphaera leucotricha*. *Plant Dis.* 95: 719-724.
- Kashimoto, K., Y. Matsuda, K. Matsutani, T. Sameshima, K. Kakutani, T. Nonomura, K. Okada, S. I. Kusakari, K. Nakata, S. Takamatsu, and H. Toyoda. 2003. Morphological and molecular characterization for a Japanese isolate of tomato powdery mildew *Oidium neolycopersici* and its host range. *J. Gen. Plant. Pathol.* 69: 176-185.
- Kaufmann, H., X. Qui, J. Wehmeyer, and T. Debener. 2012. Isolation, molecular characterization, and mapping of four rose *MLO* orthologs. *Front. Plant Sci.* 3: 1-13.
- Lediuk K. D., L. Lorenzo, y M. A. Damascos. 2010. Primer registro de *Podosphaera pannosa* (Ascomycota) sobre *Rosa canina* en Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 45: 231-233.
- Lee, S. H., K. S. Han, J. H. Park, and H. D. Shin. 2011. Occurrence of *Podosphaera pannosa* teleomorph on *Rosa rugosa* from Korea. *Plant Pathol. J.* 27: 398.
- Leus, L., J. Van Huylenbroeck, E. Van Bockstaele, and M. Höfte. 2002. Powdery mildew on roses: pathotype screening. *Acta Hort.* 572: 91-95.
- Leus, L., J. Van Huylenbroeck, E. Van Bockstaele, and M. Höfte. 2003. Bioassays for resistance screening in commercial rose breeding. *Acta Hort.* 612: 39-45.
- Leus, L., A. Dewitte, J. Van Huylenbroeck, N. Vanhoutte, E. Van Bockstaele, and M. Höfte. 2006. *Podosphaera pannosa* (syn. *Sphaerotheca pannosa*) on *Rosa* and *Prunus* spp.: characterization of pathotypes by differential plant reactions and ITS sequences. *J. Phytopathol.* 154: 23-28.
- Li, X., K. Gasic, B. Cammue, W. Broekaert, and S. S. Korban. 2003. Transgenic rose lines harboring an antimicrobial protein gene, *Ace-AMP1*, demonstrate enhanced resistance to powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*). *Planta* 218: 226-232.
- Linde, M., and T. Debener. 2003. Isolation and identification of eight races of powdery mildew of roses (*Podosphaera pannosa*) (Wallr.: Fr.) de Bary and the genetic analysis of the resistance gene *Rpp1*. *Theor. Appl. Genet.* 107: 256-262.

- Linde, M., A. Hattendorf, H. Kaufmann, and T. Debener. 2006. Powdery mildew resistance in roses: QTL mapping in different environments using selective genotyping. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1081-1092.
- Linde, M., L. Mattiesch, and T. Debener. 2004. *Rpp1*, a dominant gene providing race-specific resistance to rose powdery mildew (*Podosphaera pannosa*): molecular mapping, SCAR development and confirmation of disease resistance data. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1261-1266.
- Linde, M., and N. Shishkoff. 2003. Powdery mildew. *In: Encyclopedia of Rose Sciences*. Roberts, A.V., T. Debener, and S. Gudin (eds.). Elsevier Science. Oxford, USA. pp: 158-165.
- Longrée, K. 1939. The effect of temperature and relative humidity on powdery mildew of roses. Cornell University. New York, USA. 43 p.
- Mence, M. J., and A. C. Hildebrandt. 1966. Resistance to powdery mildew in rose. *Ann. Appl. Biol.* 58: 309-320.
- Mori, Y., Y. Sato, and S. Takamatsu. 2000. Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycologia* 92: 74-93.
- NCBI. National Center for Biotechnology Information. 2014. Taxonomy browser. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (consulta: enero 2015).
- Newman, S. E., M. J. Roll, and R. J. Harkrader. 1999. A naturally occurring compound for controlling powdery mildew of greenhouse roses. *HortScience* 34: 686-689.
- Ng, K. K., L. McDonald, and Z. K. Punja. 1997. Biological control of rose powdery mildew with the antagonist yeast *Tilletiopsis pallescens*. *HortScience* 32: 262-266.
- Passini, C., F. D'Aquila, M. Amoretti, and G. V. Zizzo. 2007. Control of powdery mildew of roses in greenhouse conditions. *Acta Hort.* 751: 247-249.
- Pasini, C., F. D'Aquila, P. Curir, and M. L. Gullino. 1997. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. *Crop Prot.* 16: 251-256.
- Perera, R. G., and B. E. J. Wheeler. 1975. Effect of water droplets on the development of *Sphaerotheca pannosa* on rose leaves. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64: 313-319.

- Philipp, W. D., E. Beuther, D. Hermann, F. Klinkert, C. Oberwalder, M. Schmidtke, and B. Straub. 1990. Formulation of the powdery mildew hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* Ces. (In German). J. Plant Dis. Prot. 97: 120-132.
- Price, T. V. 1970. Epidemiology and control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) on roses. Ann. Appl. Biol. 65: 231-48.
- Ranković, B., and L. Čomić. 1997. Contribution to the knowledge of fungi of the genus *Sphaerotheca* in Yugoslavia. Mycotaxon 63: 301-305.
- Robert, V., G. Stegehuis, and J. Stalpers. 2005. The MycoBank engine and related databases. <http://www.mycobank.org> (consulta: enero 2015).
- Romberg, M. K., A. H. Kennedy, and M. Ko. 2014. First report of the powdery mildews *Leveillula taurica* and *Podosphaera pannosa* on rose periwinkle in the United States. Plant Dis. 98:848.
- Saenz, G. S., and J. W. Taylor. 1999. Phylogeny of the Erysiphales (powdery mildews) inferred from internal transcribed spacer ribosomal DNA sequences. Can. J. Bot. 77: 150-168.
- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2012. Garantizada la disponibilidad de flores para cubrir la demanda nacional. <http://sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/Paginas/2012B098.aspx> (consulta: noviembre 2014).
- Salmon, E. S. 1900. A monograph of the Erysiphaceae. Memoirs Torrey Botanical Club. New York, USA. 292 p.
- Scarito, G., A. Salamone, G. Vito Zizzo, and S. Agnello. 2007. Use of natural products for their control of powdery mildew of rose plants. Acta Hort. 751: 251-257.
- Seddigh, S., L. Kiani, B. Tafaghodinia, and B. Hashemi. 2014. Using aerated compost tea in comparison with a chemical pesticide for controlling rose powdery mildew. Arch. Phytopathol. Plant Protect. 47: 658-664.
- Shetty, R., B. Jensen, N. P. Shetty, M. Hansen, C. W. Hansen, K. R. Starkey, and H. J. L. Jørgensen. 2012. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. Plant Pathol. 61: 120-131.
- Shin, H. D. 1999. Teleomorph of *Sphaerotheca pannosa* on Durian Rose in Korea. Mycotaxon 72: 1-5.

- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2016. <http://www.siap.gob.mx> (consulta: enero 2015).
- Sivapalan, A. 1993. Effects of water on germination of powdery mildew conidia. *Mycol. Res.* 97: 71-76.
- Sotomayor, O. 2007. Mercado de las flores de corte. <http://www.odepa.cl/articulo/mercado-de-las-flores-de-corte-2/>. (consulta: noviembre 2014).
- Takamatsu, S., T. Hirata, and Y. Sato. 1998. Phylogenetic analysis and predicted secondary structures of the rDNA internal transcribed spacers of the powdery mildew fungi (Erysiphaceae). *Mycoscience* 39: 441-453.
- Takamatsu, S., T. Hirata, and Y. Sato. 2000. A parasitic transition from trees to herbs occurred at least twice in tribe *Cystothecaceae* (Erysiphaceae): evidence from nuclear ribosomal DNA. *Mycol. Res.* 104: 1304-1311.
- Takamatsu, S., S. Niinomi, M. Harada, and M. Havrylenko. 2010. Molecular phylogenetic analyses reveal a close evolutionary relationship between *Podosphaera* (Erysiphales: Erysiphaceae) and its rosaceous hosts. *Persoonia* 24: 38-48.
- Thompson, J. N., and J. J. Burdon. 1992. Gene-for-gene coevolution between plants and parasites. *Nature* 360: 121-125.
- Tjosvold, S. A., and S. T. Koike. 2001. Evaluation of reduced risk and other biorational fungicides on the control of powdery mildew on greenhouse roses. *Acta Hort.* 547: 59-70.
- Toppe, B., A. Stensvand, M. L. Herrero, and H. Ragnar Gislerød. 2007. C-Pro (grapefruit seed extract) as supplement or replacement against rose- and cucumber powdery mildew. *Acta Agric. Scand. B.* 57: 105-110.
- Torres V., S. P., J. Velandia M., y H. Murcia H. 2013. Aplicación alternada de ácido acetilsalicílico con fungicidas en el control de mildew polvoso en rosa. *Ciencia y agricultura* 10: 45-51.
- Voogt, W., and C. Sonneveld. 2001. Silicon in horticultural crops grown in soilless culture. *In: Silicon in Agriculture*. Vol. 2. Datnoff, L. E., G. H. Snyder, and G. H. Korndörfer (eds.). Elsevier Science. Amsterdam, Netherlands. pp: 115-131.

- Watkins, J. E. 1990. G90-979 Powdery mildew of roses. Historical Materials from University of Nebraska-Lincoln Extension. <http://digitalcommons.unl.edu/extensionhist/1259> (consulta: enero 2015).
- Whitaker, V. M., and S. C. Hokanson. 2009. Breeding roses for disease resistance. *In: Plant Breeding Reviews*. Vol. 31. Janick, J. (ed.). Board. New York, USA. pp: 277-324.
- Wojdyla, A. T. 2001. Grapefruit extract activity in the control of rose powdery mildew and black spot. *Meded. Fac. Landbouwkd. Toegep. Biol. Wet. Univ. Gent*. 66: 167-177.
- Woronichine, N. 1914. Quelques remarques sur le champignon du blanc de pecher. *Bull. Soc. Mycol. Fr*. 30: 391-401.
- Xu, Q., X. Wen, and X. Deng. 2005. Isolation of TIR and nonTIR NBS-LRR resistance gene analogues and identification of molecular markers linked to a powdery mildew resistance locus in chestnut rose (*Rosa roxburghii* Tratt). *Theor. Appl. Genet*. 11: 819-830.
- Xu, X. M. 1999. Effects of temperature on the length of the incubation period of rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*). *Eur. J. Plant Pathol*. 105: 13-21.
- Yan, Z., O. Dolstra, T. W. Prins, P. Stam, and P. B. Visser. 2006. Assessment of partial resistance to powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in a tetraploid rose population using a spore-suspension inoculation method. *Eur. J. Plant Pathol*. 114: 301-308.
- Yáñez-Morales, M. J., U. Braun, A. M. Minnis, and J. M. Tovar-Pedraza. 2009. Some new records and new species of powdery mildew fungi from Mexico. *Schlechtendalia* 19: 47-61.



## 7.2. CAPÍTULO II. IDENTIFICACIÓN Y ALTERNATIVAS DE MANEJO DE LA CENICILLA DEL ROSAL

REVISTA MEXICANA DE FITOPATOLOGÍA  
MEXICAN JOURNAL OF PHYTOPATHOLOGY



Revista Mexicana de Fitopatología  
Órgano Internacional de comunicación  
de la Sociedad Mexicana de Fitopatología

Noviembre 16, 2015

Estimado Dr. Daniel Domínguez Serrano  
PRESENTE

Me complace informarle que su escrito titulado "Identificación y alternativas de manejo de la cenicilla del rosal" ha concluido exitosamente el proceso de edición para su publicación como **Artículo Científico** en la Revista Mexicana de Fitopatología.

El costo de su publicación es \$3052.27 pesos 100/00 M/N, el cual corresponde a la traducción y edición del mismo, por lo que solicito le recupere a la Sociedad Mexicana de Fitopatología a través de su cuenta **Banamex 7270322**. En caso de transferencia electrónica utilizar la **CLABE 002180700472703221**.

Le reitero, a nombre de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, mi agradecimiento por su invaluable contribución científica y su compromiso con el desarrollo de nuestra disciplina.

Reciba un atento y cordial saludo,

Atentamente,

Dr. Gustavo Mora Aguilar  
Editor en Jefe

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

Co. Bo.  
J. L. Castañeda

**Daniel Domínguez Serrano\***, **Rómulo García Velasco** y **Martha Elena Mora Herrera**, Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México, km 1.5 Carr. Tenancingo-Villa Guerrero, Tenancingo, Edo. México, CP 52400, México; **Martha Lidya Salgado Siclan**, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Edo. México, CP 50200, México. \*Correspondencia: danusso10@hotmail.com

## RESUMEN

La cenicilla del rosal causada por *Podosphaera pannosa* afecta todas las partes aéreas de la planta, lo que repercute en su calidad como principal componente de la pérdida económica. En el presente trabajo, se confirmó la identidad del agente causal de la cenicilla en rosa y se evaluó el efecto del fosfito de potasio ( $K_3PO_3$ ), silicio, quitosano y acetato de dodemorf sobre la incidencia y severidad de la enfermedad, así como, su respuesta en la calidad de tallos florales. Se realizaron dos ensayos (febrero-abril y mayo-julio). Las características morfométricas y moleculares del agente causal de la cenicilla correspondieron a *Podosphaera pannosa*. El  $K_3PO_3$ , silicio y quitosano redujeron la incidencia y severidad con respecto al testigo para ambos ensayos; sin embargo, solo el  $K_3PO_3$  y silicio manifestaron un control similar al proporcionado por el fungicida acetato de dodemorf. El tratamiento con quitosano incrementó la longitud y diámetro del tallo y del botón floral en relación con  $K_3PO_3$  y silicio, pero no fue diferente del testigo en ambos ensayos. Con base a los resultados obtenidos, el  $K_3PO_3$ , silicio y quitosano pueden ser alternativas en el manejo de la cenicilla del rosal bajo condiciones de invernadero.

**Palabras clave:** *Podosphaera pannosa*, *Rosa* spp., severidad, incidencia, inductores.

## ABSTRACT

Rose powdery mildew caused by *Podosphaera pannosa* affects all aerial parts of the plant, which affects their quality as a major component of economic loss. In this work, the causal agent of powdery mildew of rose was identified and confirmed, the effect of potassium phosphite (K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>), silicon, chitosan and dodemorph acetate on the incidence and severity of the disease was evaluated, as well as their response in the quality of flower stalks. Two trials (February to April and from May to July) were performed. The morphometric and molecular characteristics of the causal agent corresponded to *Podosphaera pannosa*. The K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>, silicon and chitosan they reduced incidence and severity compared to the control for both assays, however, only the K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub> and silicon, exhibited a control similar to provided by the fungicide dodemorph acetate. The treatment with chitosan increased the length and diameter of the stem and flower bud in contrast to K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub> and silicon, but was not significant to the control in both tests. Based on the results, the K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>, silicon and chitosan are alternatives for the rosebush powdery mildew management under greenhouse conditions.

**Keywords:** *Podosphaera pannosa*, *Rosa* spp., severity, incidence, inductors.

## INTRODUCCIÓN

La *Rosa* spp., es una de las especies ornamentales de mayor importancia económica a nivel mundial (Debener y Linde, 2009) con una producción anual estimada de 18 billones de tallos cortados, 60-80 millones de rosas en maceta y 220 millones de rosas para jardín (Pemberton *et al.*, 2003). No obstante, es susceptible a un gran número de enfermedades (Horst y Cloyd, 2007) como la cenicilla causada por *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr) de Bary, una de las enfermedades más destructivas que se presenta tanto en rosas cultivadas al aire libre como en invernadero (Leus *et al.*, 2006; Suthaparan *et al.*, 2012). El hongo puede infectar todas las partes aéreas de la planta y bajo condiciones favorables provoca la distorsión de hojas y defoliación prematura (Shetty *et al.*, 2012), lo que ocasiona pérdidas económicas significativas en la productividad, calidad y por ende en la comercialización (Suthaparan *et al.*, 2010).

El control de *P. pannosa* se basa principalmente en la aspersión de fungicidas a intervalos de 7-14 días (Debener y Byrne, 2014). Aplicaciones continuas de estos químicos incrementan los costos de producción y pueden generar selección de poblaciones resistentes de *P. pannosa* (Daughtrey y Benson, 2005); además la necesidad de minimizar el uso de fungicidas conduce a la búsqueda de alternativas de control como el uso de inductores de defensa; tal es el caso del silicio, que ha mostrado su potencial para mejorar los componentes estructurales y bioquímicos de resistencia a enfermedades como la cenicilla en diferentes cultivos como pepino (Liang *et al.*, 2005), fresa y uva (Botta *et al.*, 2011) y en rosas para maceta (Shetty *et al.*, 2012). Así mismo, los fosfitos tienen la capacidad de controlar enfermedades en diversos cultivos, actuando directamente sobre el patógeno e indirectamente mediante la estimulación de respuestas de defensa del hospedante (Deliopoulos *et al.*, 2010); al respecto, se reportó que el fosfito de potasio induce resistencia en el cultivo de papa a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary (Machinandiarena *et al.*, 2012) y reduce significativamente la incidencia y severidad de *Oidium* sp. en pepino (*Cucumis sativus* L.) (Yañez *et al.*, 2012), en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) tuvo un efecto antifúngico inhibiendo la germinación de conidios de *Verticillium dahliae* Kleb. (Ribeiro *et al.*, 2006). Otra molécula inductora es el quitosano, un derivado de la desacetilación de la quitina, considerado como un biopolímero eficaz en la prevención de enfermedades fúngicas, al interferir directamente sobre el crecimiento de los hongos o mediante la activación de defensas en las plantas (Iriti *et al.*, 2011). Borkowski y Szwonek (2004), reportan que el quitosano presenta una alta efectividad en el control de la cenicilla del tomate (*Oidium lycopersicum* Cooke & Masee), y cuando se aplica sobre follaje de cebada (*Hordeum vulgare* L.), induce resistencia contra *Blumeria graminis* (DC.) Speer. f. sp. *hordei* (Faoro *et al.*, 2008). Por su parte, Moret *et al.* (2009) reportan que la aplicación de quitosano a concentraciones de 1 y 2.5% reducen la severidad de *Sphaerotheca fuliginea* Schlecht ex Fr. Poll. y *Erysiphe cichoracearum* DC. ex Merat en pepino (*Cucumis sativus* L.).

A pesar de que estos compuestos han mostrado potencial en el control de enfermedades, la información de estos productos en el manejo de la cenicilla en plantas ornamentales, y especialmente sobre el cultivo de rosa, es limitada. Por lo que

los objetivos de este estudio fueron verificar la identidad morfométrica y molecular del agente causal de la cenicilla del rosal, evaluar el efecto del silicio, fosfito de potasio, quitosano y acetato de dodemorf sobre la incidencia y severidad del patógeno en estudio y cuantificar su efecto en la longitud y diámetro del tallo y botón floral.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Caracterización morfométrica**

En abril de 2014 se colectaron en invernadero, hojas jóvenes de plantas de rosa var. Samourai® con síntomas y signos de cenicilla en el municipio de Tenancingo, México. Estructuras de la reproducción asexual como hifas, conidióforos y conidios, fueron desprendidos de la superficie de hojas jóvenes y con ellas se realizaron preparaciones permanentes y temporales con cinta Scotch en agua destilada e hidróxido de potasio al 3% (Braun y Cook, 2012), en estas se observaron y midieron en el microscopio compuesto (marca Carl Zeiss®) con el objetivo de 40X, las características morfométricas de 30 repeticiones para cada estructura: diámetro del micelio, tamaño y forma de los conidios, presencia de cuerpos de fibrosina en conidios, características del conidióforo (tamaño y forma del pie de la célula, posición del septo basal), forma de los apresorios sobre las hifas y la posición de los tubos germinativos conidiales, siguiendo la clave taxonómica de Braun y Cook (2012). Para la observación de los tubos germinativos conidiales se inocularon catáfilas de cebolla con conidios del hongo (To-anun *et al.*, 2005).

### **Microscopia electrónica de barrido (MEB)**

Fragmentos de hojas jóvenes (0.5 cm<sup>2</sup>) de rosa con signos de cenicilla se fijaron en glutaraldehído al 3% durante 24 h, posteriormente se lavaron con buffer de fosfato Sorensen's (0.2 M). Las muestras se deshidrataron mediante la inmersión en etanol a concentraciones graduales (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90%) por 40 min cada uno y al 100% tres veces por 20 min. Posteriormente se secaron con CO<sub>2</sub> en un desecador de punto crítico Samdri-780A® por 40 min, se montaron en portamuestras de cobre y se recubrieron con oro en una ionizadora JFC-1100® por 1 min. Finalmente, las

preparaciones se observaron y fotografiaron en un microscopio electrónico de barrido JEOL® JSM-6390.

### **Caracterización molecular**

La extracción de ADN se realizó a partir de hojas con signos del hongo, mediante el reactivo de extracción Plant DNAzol Reagent® (Invitrogen™) de acuerdo al protocolo descrito por el fabricante, con modificaciones para evitar el efecto de fenoles, por lo que se realizaron cinco lavados con 300 µL de etanol al 75%. La integridad del ADN se observó en un gel de agarosa (Ultrapure™) al 1%, las bandas de ADN se visualizaron en un transiluminador Syngene® modelo GVM20, la calidad y la concentración se determinaron en un biofotómetro Eppendorff® modelo D-5000-3000. El ADN obtenido se resuspendió en 50 µL de agua grado biología molecular y se almacenó a -20 °C para su uso posterior.

### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Para la prueba de PCR se utilizaron los primers ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') (Gardes y Bruns, 1993) e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 20 µL de la mezcla: 6.60 µL de agua estéril desionizada (Gibco®), 10 µL de 2X Phire Plant PCR Buffer (incluye 200 µM de cada dNTP y 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>), 1 µL de cada primer ITS1F e ITS4 a 10 pmol, 1 µL de ADN, 0.4 µL de DNA Polimerasa (Phire® Hot Start II). La amplificación se realizó en un termociclador MJ Research Thermal®, modelo PTC-100, de acuerdo al procedimiento descrito por Leus *et al.* (2006). El producto de la amplificación se verificó mediante electroforesis a 90 V por 30 min en gel de agarosa al 1% y tinción con 1 µL de bromuro de etidio, la visualización se realizó en un transiluminador Syngene®, modelo GVM20. El ADN se purificó con el kit comercial DNA Clean & Concentrator™-5 (Zymo Research®). Posteriormente, los fragmentos amplificados mediante la PCR fueron secuenciados en ambas direcciones en un analizador genético ABI Prism 3130XL. La secuencia obtenida fue alineada en la base de datos del National Center for Biotechnology Information. La secuencia se depositó en la base del GenBank. Un

cladograma se obtuvo utilizando el método Neighbor-Joining con el programa Mega 6.0.

### Experimentos en invernadero

En plantas de rosa var. Samourai<sup>®</sup>, cultivadas bajo condiciones de invernadero se realizaron dos ensayos: el primero en los meses de febrero-abril y el segundo de mayo-julio de 2014, ambos se condujeron bajo un diseño de bloques al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, se utilizaron 20 unidades experimentales; cada unidad experimental consistió de una parcela de 2.70 m de largo por 1 m de ancho con 27 plantas de rosa distribuidas en hilera. Mediante una poda se estimuló la producción de brotes de forma homogénea, sobre los cuales se evaluaron los tratamientos.

### Tratamientos

Estos fueron: fosfito de potasio, quitosano, silicio como inductores de resistencia; el fungicida acetato de dodemorf y un testigo (agua destilada) (Cuadro 1). Los tratamientos se asignaron al azar a cada unidad experimental, su aplicación inicio ocho días después de la poda, y posteriormente a intervalos semanales hasta llegar al punto de corte. La aplicación se realizó con una bomba de aspersion motorizada (Maruyama, MS072H) con boquilla de abanico, durante las primeras horas de la mañana, realizando una cobertura total del follaje (gasto 0.5 L por parcela).

**Cuadro 1.** Tratamientos evaluados en plantas de rosa var. Samourai<sup>®</sup> para el manejo de *Podosphaera pannosa*.

Tratamiento	Nombre comercial	Concentración	<sup>x</sup> mL L <sup>-1</sup>
Testigo	Agua destilada	-----	---
Fosfito de potasio	Nutriphite magnum <sup>®</sup>	2% N, 40% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 16% K <sub>2</sub> O	2
Quitosano	Biorend <sup>®</sup>	2.5% poly-d-glucosamina	2.5
Silicio	Armurox <sup>®</sup>	2% complejo de péptidos con silicio soluble	3
Acetato de dodemorf	Meltatox <sup>®</sup>	400 g i.a L <sup>-1</sup> de dodemorf	2

<sup>x</sup>Dosis recomendadas por el fabricante.

## **Variables**

Se seleccionaron 10 tallos al azar por unidad experimental para la evaluación de la incidencia y severidad de la enfermedad, longitud y diámetro del tallo y botón floral.

## **Evaluación de incidencia y severidad de *P. pannosa***

Para favorecer el desarrollo natural de la cenicilla durante el experimento se incrementó la temperatura (25-33°C) durante el día y la humedad relativa por la noche (70-90%) mediante el manejo de las ventilas del invernadero. La incidencia y severidad se evaluaron inmediatamente después de la aparición de los síntomas y signos, evaluaciones posteriores se realizaron semanalmente. El porcentaje de incidencia se calculó contabilizando el número de tallos con síntomas y signos con relación a los 10 tallos evaluados por unidad experimental.

La severidad de la enfermedad se determinó mediante la escala de Horsfall y Barratt (1945), con las clases: 0= No síntomas, 1= 1-2.5%, 2= 2.6-5%, 3= 6-10%, 4= 11-25%, 5= 26-50%, 6= 51-75% y 7= 76-100% de la superficie dañada de la hoja. Los valores se transformaron a porcentaje de severidad mediante la ecuación de Townsend y Heuberger:

$$P = \frac{\sum (n * v)}{(N * i)} * 100$$

Donde:  $P$ = porcentaje de daño;  $n$ = número de hojas por cada clase en la escala;  $v$ = grado respectivo de la escala;  $N$ = número total de hojas evaluadas y  $i$ = mayor grado de la escala.

Los datos de incidencia y severidad se transformaron a área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), aplicando el método de integración trapezoidal (Campbell y Madden, 1990), partiendo directamente de los porcentajes de los tallos y hojas enfermas en cada fecha de evaluación.

## **Evaluación de longitud y diámetro de tallo y de botón floral**

Al término del experimento se midió la longitud del tallo (cm), desde la base hasta el ápice del mismo. El diámetro se determinó con un vernier digital CALDI-6MP



mediante la toma de la lectura a un centímetro por arriba de la base del tallo. La longitud y diámetro del botón floral se midieron en punto de corte con vernier digital.

### **Análisis de datos**

Los datos de las variables fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ( $\alpha=0.05\%$ ) mediante el programa estadístico InfoStat, versión estudiantil 2015.

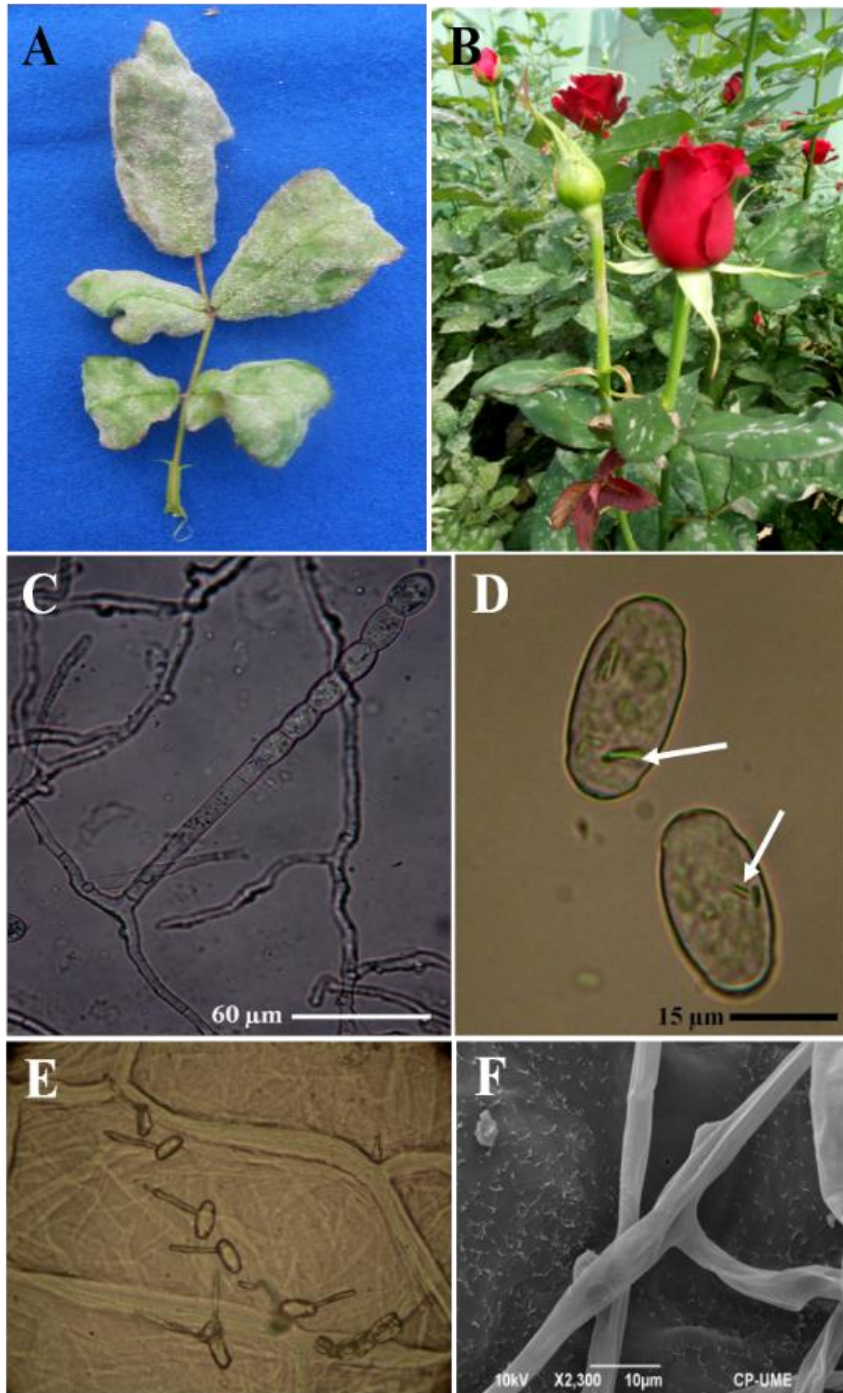
## **RESULTADOS**

### **Caracterización de síntomas**

Los síntomas se caracterizaron por el desarrollo esporádico de manchas de color rojizo a púrpura en el envés de las hojas; en el segundo ensayo las hojas fueron colonizadas totalmente por los signos del patógeno, lo que provocó la deformación de folíolos presentando una apariencia curvada y/o retorcida (Figura 1A). Algunos tallos y pedúnculos presentaron los signos de la enfermedad (Figura 1B).

### **Caracterización morfométrica**

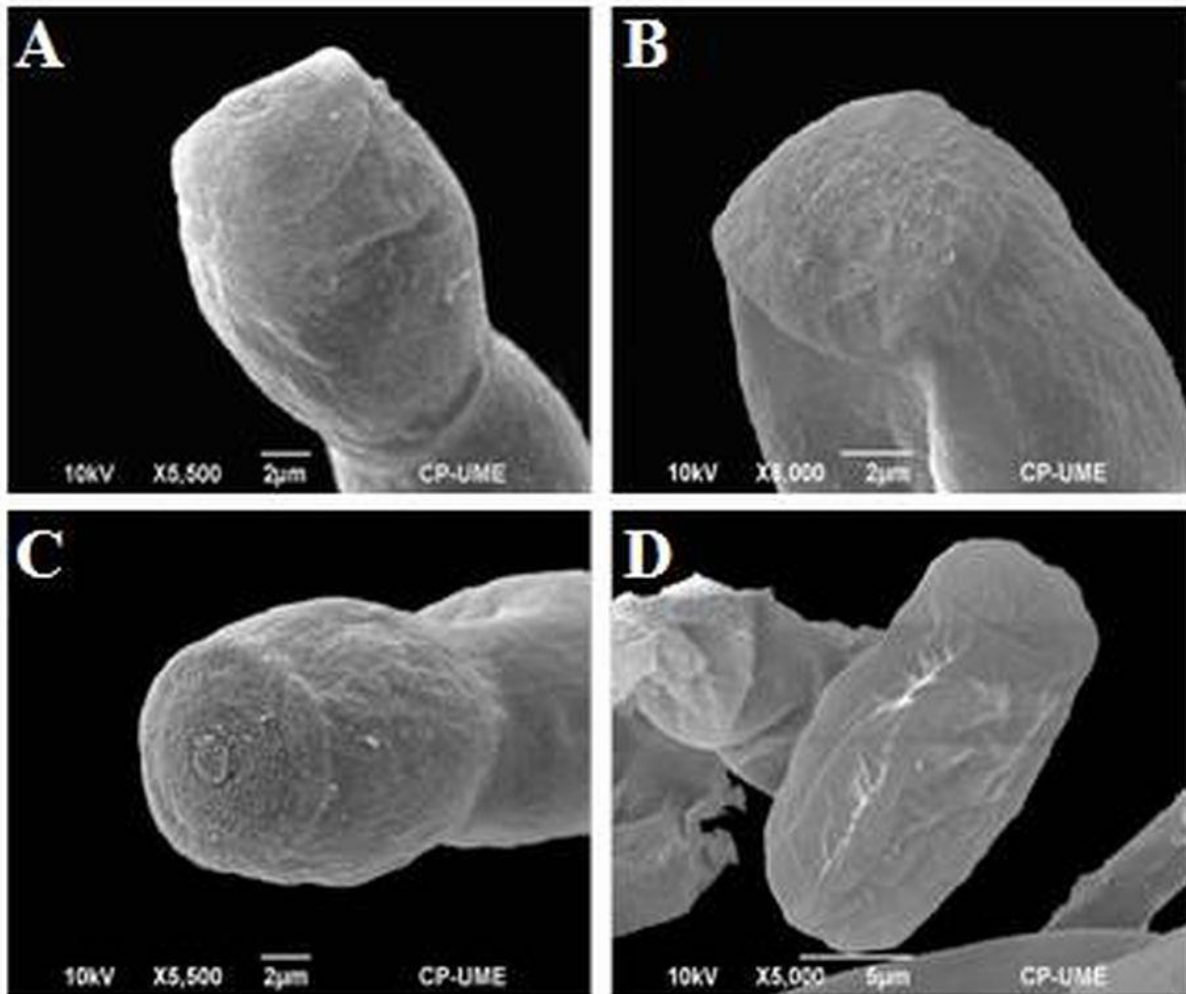
El agente causal de la enfermedad se caracterizó por producir micelio, superficial y hialino, de 3-8  $\mu\text{m}$  de diámetro; apresorios casi indistintos como protuberancias; conidióforos erectos, de hasta 115  $\mu\text{m}$  de largo, surgiendo de la superficie de las células madres hifales, central o no centralmente; células basales rectas, subcilíndricas, de 31-88 x 7-11  $\mu\text{m}$ , seguidas por 1-2 células basales cortas, formando conidios catenescentes, elipsoidales a doliformes, de 20-35 x 11-18.7  $\mu\text{m}$  con cuerpos de fibrosina; tubos germinativos  $\pm$  terminales a laterales, de 3.75-4  $\mu\text{m}$  de ancho, del tipo *Fibroidium*, subtipo *Orthotubus* (Figura 1C-1F). De acuerdo a lo anterior, las características corresponden a *P. pannosa*.



**Figura 1.** A). Deformación de folíolos causados por *P. pannosa* en rosa var. Samurai®. B). Hojas y pedúnculo con signos del hongo. C). Conidióforo emergiendo de la célula madre de la hifa con catenulación de conidios. D). Conidios elipsoidales a doliformes con cuerpos de fibrosina. E). Patrón de germinación conidial sobre catáfilas de cebolla. F). Apresorios casi indistintos como protuberancias sobre las hifas.

### Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La superficie de la pared de los conidios de *P. pannosa* fue lisa (Figura 2A), presentando en algunas ocasiones ondulaciones finas; en la parte terminal de los mismos, la cual representa la ubicación del septo que separa a los conidios cuando forman cadenas, se observaron anillos concéntricos tenues (Figura 2B y 2C). En conidios parcialmente colapsados, la pared externa presentó un arrugamiento que dio origen a líneas sinuosas longitudinales y transversales (Figura 2D).



**Figura 2.** Morfología de conidios de *P. pannosa*. Microscopía electrónica de barrido. A). Pared lisa del conidio, B y C). Parte terminal del mismo con anillos concéntricos tenues, D). Conidio parcialmente colapsado con ondulaciones longitudinales y transversales.

### Caracterización molecular

Mediante la amplificación por PCR con los primers ITS1F e ITS4, se obtuvo una secuencia de nucleótidos de 574 pb. Al comparar la secuencia de nucleótidos de este estudio (Número de depósito KP902716), con las depositadas en el GenBank, el análisis BLAST mostró un 100% de identidad con las accesiones AB525939 (*P. pannosa* en *Rosa multiflora*), AB022348 (*P. pannosa* en *Rosa* sp.), DQ139410 (*P. pannosa* en *Rosa* sp.) y KF753690 (*P. pannosa* en *Rosa* sp.) y 99% con las accesiones AF011323 (*P. pannosa* en *Rosa* sp.), AF298543 (*P. pannosa* en *Rosa* sp.), AB525938 (*P. pannosa* en *Rosa rubiginosa*), HQ852205 (*P. pannosa* en *Rosa rugosa*) y KM001668 (*P. pannosa* en *Rosa* sp.) (Figura 3).



**Figura 3.** Cladograma de *Podosphaera pannosa*. *Leveillula taurica* fue la raíz. VG= Villa Guerrero, México.

### Evaluación de incidencia y severidad de *P. pannosa*

El ABCPE de la incidencia varió significativamente ( $P > 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos. En el primer ensayo, las plantas tratadas con quitosano, silicio y fosfito de potasio presentaron índices bajos de incidencia significativamente diferentes respecto al testigo. Para el segundo ensayo, únicamente las plantas tratadas con silicio

y fosfito de potasio fueron significativamente diferentes ( $P>0.05$ ) al testigo. El mejor tratamiento para reducir la incidencia de la enfermedad fue el acetato de dodemorf el cual presentó un ABCPE de 70.0 y 1400.0 para el primer y segundo ensayo, respectivamente (Cuadro 2).

En lo que se refiere a la severidad, las plantas tratadas con quitosano, fosfito de potasio y silicio; mostraron una reducción del 60.3, 83.7 y 93.5% respectivamente, en el primer ensayo y 63.1, 77.2 y 73.9% en el segundo ensayo, esto comparando con el testigo (Cuadro 2). En ambos ensayos, las plantas tratadas con silicio y fosfito de potasio fueron estadísticamente iguales ( $P>0.05$ ) con el fungicida acetato de dodemorf, quien presentó la menor severidad.

**Cuadro 2.** Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) para la incidencia y severidad de la cenicilla (*P. pannosa*) en el cultivo de rosa.

Tratamiento	Incidencia		Severidad	
	febrero-abril <sup>x</sup>	mayo-julio <sup>y</sup>	febrero-abril <sup>x</sup>	mayo-julio <sup>y</sup>
Testigo	3517.5 <sup>A</sup>	2450.0 <sup>A</sup>	1246.9 <sup>A</sup>	1522.5 <sup>A</sup>
Quitosano	2415.0 <sup>B</sup>	1977.5 <sup>AB</sup>	495.3 <sup>B</sup>	561.8 <sup>B</sup>
Fosfito de potasio	1207.5 <sup>C</sup>	1610.0 <sup>BC</sup>	203.0 <sup>BC</sup>	347.4 <sup>BC</sup>
Silicio	568.8 <sup>CD</sup>	1680.0 <sup>BC</sup>	81.4 <sup>C</sup>	398.1 <sup>BC</sup>
Acetato de dodemorf	70.0 <sup>D</sup>	1400.0 <sup>C</sup>	7.0 <sup>C</sup>	203.9 <sup>C</sup>

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes, Tukey ( $P>0.05$ ),

<sup>x</sup> Primer ensayo, <sup>y</sup> Segundo ensayo.

### Evaluación de la longitud y diámetro del tallo y botón floral

El tratamiento con quitosano mostró un incremento en la longitud de tallos de 9.4% y 20.1% en el primer y segundo ensayo respectivamente, contrastando con el fosfito de potasio, que indujo la menor longitud con 66.7 y 64.7 cm para el primer y segundo ensayo respectivamente. Sin embargo, el tratamiento con quitosano no fue significativamente diferente respecto al testigo (Cuadro 3). En lo que respecta al diámetro del tallo, con el testigo se obtuvo el mayor diámetro con 8.0 mm y fue

estadísticamente diferente ( $P>0.05$ ) al diámetro de las plantas tratadas con fosfito de potasio (7.3 mm) en el primer ensayo. Para el segundo ensayo, las plantas tratadas con fosfito de potasio y silicio presentaron los menores diámetros del tallo con 6.4 mm, por otra parte, el tratamiento con quitosano mostró el mayor diámetro de tallo con 7.8 mm sin diferencias significativas ( $P>0.05$ ) respecto al testigo (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Efecto de los tratamientos en la longitud y diámetro de tallo floral en rosa variedad Samourai®.

Tratamiento	Longitud de tallo		Diámetro de tallo	
	febrero-abril <sup>x</sup>	mayo-julio <sup>y</sup>	febrero-abril <sup>x</sup>	mayo-julio <sup>y</sup>
	cm		cm	
Testigo	76.1 ±1.7 <sup>A</sup>	80.4±2.0 <sup>A</sup>	8.0±0.2 <sup>A</sup>	7.7±0.2 <sup>A</sup>
Quitosano	73.7 ±1.5 <sup>A</sup>	81.1±1.4 <sup>A</sup>	8.0±0.2 <sup>A</sup>	7.8±0.1 <sup>A</sup>
Acetato de dodemorf	71.3±1.4 <sup>B</sup>	70.5±1.1 <sup>B</sup>	7.9±0.1 <sup>A</sup>	7.0±0.2 <sup>B</sup>
Silicio	67.0±1.3 <sup>C</sup>	66.1±1.3 <sup>BC</sup>	7.5±0.1 <sup>AB</sup>	6.4±0.1 <sup>C</sup>
Fosfito de potasio	66.7±1.6 <sup>C</sup>	64.7±1.2 <sup>C</sup>	7.3±0.1 <sup>B</sup>	6.4±0.1 <sup>C</sup>

Los resultados son el promedio de 10 plantas por tratamiento. ± Error estándar. Valores con una letra en común no son significativamente diferentes, Tukey ( $P>0.05$ ). <sup>x</sup>Primer ensayo, <sup>y</sup>Segundo ensayo.

Respecto a la longitud de botón floral, el fosfito de potasio y silicio fueron significativamente diferentes ( $P>0.05$ ) con el resto de los tratamientos y presentaron la menor longitud de botón con 35.6 y 37.1 mm respectivamente, en el primer ensayo. Pero en el segundo ensayo, el quitosano mostró un incremento sobre la longitud del botón de hasta 29.5%, con relación al fosfito de potasio que indujo la menor longitud de botón con 34.6 mm (Cuadro 4). El diámetro de botón floral, con el tratamiento de fosfito de potasio fue de 21.6 mm para el primer y 21.2 mm en el segundo ensayo, y fué estadísticamente significativo ( $P>0.05$ ) con el quitosano que mostró diámetros de 27.8 y 26.5 mm para el primer y segundo ensayo respectivamente. Sin embargo, el

quitosano no presentó diferencia estadística con el testigo en ambos ensayos (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Efecto de los tratamientos en la longitud y diámetro de botón floral en tallos florales de rosa variedad Samourai®.

Tratamiento	Longitud de botón floral		Diámetro de botón floral	
	febrero-abril <sup>x</sup>	mayo-julio <sup>y</sup>	febrero-abril <sup>x</sup>	mayo-julio <sup>y</sup>
	mm		mm	
Testigo	45.2±0.6 <sup>A</sup>	44.0±0.6 <sup>A</sup>	27.2±0.6 <sup>A</sup>	26.2±0.4 <sup>A</sup>
Quitosano	45.2±0.5 <sup>A</sup>	44.8±0.7 <sup>A</sup>	27.8±0.3 <sup>A</sup>	26.5±0.5 <sup>A</sup>
Acetato de dodemorf	44.8±0.8 <sup>A</sup>	40.9±0.7 <sup>B</sup>	26.5±0.3 <sup>A</sup>	25.2±0.3 <sup>AB</sup>
Silicio	37.1±0.7 <sup>B</sup>	39.6±0.9 <sup>B</sup>	23.4±0.5 <sup>B</sup>	23.9±0.5 <sup>B</sup>
Fosfito de potasio	35.6±1.3 <sup>B</sup>	34.6±0.7 <sup>C</sup>	21.6±0.8 <sup>B</sup>	21.2±0.5 <sup>C</sup>

Los resultados son el promedio de 10 plantas por tratamiento. ± Error estándar. Valores con una letra en común no son significativamente diferentes, Tukey ( $P>0.05$ ). <sup>x</sup> Primer ensayo, <sup>y</sup> Segundo ensayo.

## DISCUSIÓN

En base a los resultados de la presente investigación se identificó a *Podospaera pannosa* (Wallr. Fr.) de Bary como el agente causal de la cenicilla del rosal, las características morfométricas fueron similares a las reportadas por Braun y Cook (2012). Sin embargo, el número de células basales que se observaron en este estudio fueron de 1-2 células cortas, lo que difiere con lo reportado por Havrylenko (1995) y Félix-Gastélum *et al.* (2014). Las diferencias pueden deberse a diversos factores incluyendo la temperatura y humedad, el hospedero (variedad), edad de las hojas y el periodo de muestreo (Salmon, 1900). Los primers ITS1F e ITS4 amplificaron un producto de 574 pb que corresponde a *P. pannosa*; de manera similar, Félix-Gastélum *et al.* (2014) y Romberg *et al.* (2014) utilizaron los mismos primers para la identificación y detección de *P. pannosa* en el cultivo de *Rosa* spp. y *Catharanthus roseus* (L) G. Don, respectivamente. La comparación de la secuencia de nucleótidos

obtenida (KP902716), con las depositadas en el GenBank, mostró una identidad del 99 al 100% con accesiones de *P. pannosa* presentes en *Rosa* sp. en México, Bélgica, EE. UU., Japón y Suiza (Saenz y Taylor, 1999; Mori *et al.*, 2000; Cunnington *et al.*, 2003; Leus *et al.*, 2006; Félix-Gastélum *et al.*, 2014), en *Rosa multiflora* Thunberg ex Murray de Japón, *Rosa rubiginosa* L. de Argentina (Takamatsu *et al.*, 2010) y en *Rosa rugosa* Thunb. de Korea (Lee *et al.*, 2011).

Con la aplicación de los inductores silicio (Si), fosfito de potasio ( $K_3PO_3$ ) y quitosano se obtuvo una reducción de la incidencia y severidad de la cenicilla en condiciones de invernadero; sin embargo, estos tratamientos no fueron efectivos como el fungicida acetato de dodemorf que mostró los valores más bajos de incidencia y severidad de la enfermedad en ambos ensayos. Su efecto se debe a que es un fungicida sistémico con absorción acropétala que actúa inhibiendo la síntesis del ergosterol y la síntesis de proteínas, afectando la permeabilidad de la membrana (Brent y Hollomon, 2007). Así mismo Benyagoub y Bélanger (1995), reportan que la aplicación de acetato de dodemorf afecta la integridad de las hifas, resultando en un colapso de conidióforos y conidios. Por otra parte, se reporta que la aplicación de acetato de dodemorf puede generar fitotoxicidad en plantas de rosa (Bélanger *et al.*, 1994), pero en nuestros resultados el fungicida mostró un excelente control de la enfermedad sin causar pérdida en el vigor de las plantas.

Dentro de los inductores, el tratamiento con Si a dosis de  $3 \text{ mL L}^{-1}$  redujo significativamente la incidencia y severidad de *P. pannosa* y fue estadísticamente igual con el fungicida acetato de dodemorf. Al respecto, Shetty *et al.* (2012), reportaron que la aplicación de 3.6 mM de Si (100 ppm) suministrado en solución nutritiva, reduce la severidad de *P. pannosa* hasta un 48.9% dependiendo del genotipo del hospedante, de igual forma Datnoff *et al.* (2006), demostraron que la aplicación de Si reduce significativamente la severidad de la cenicilla hasta en un 57% en rosas de maceta. Estos reportes sugieren que la aplicación de Si desempeña un papel importante en la supresión de la cenicilla del rosal, lo cual puede ser explicado por un incremento en la concentración de compuestos fenólicos antimicrobianos y flavonoides en respuesta a la infección por *P. pannosa* (Shetty *et al.*, 2011).



También se ha demostrado que la aplicación de Si tiene efectos benéficos sobre el crecimiento y calidad de las rosas (Hwang *et al.*, 2005; Reezi *et al.*, 2009). Sin embargo, en el presente estudio, la aplicación de Si indujo una reducción sobre la longitud y diámetro de los tallos y del botón floral, en relación con el testigo, lo cual puede estar relacionado con la dosis de aplicación, tal como lo reportan Reezi *et al.* (2009), quienes observaron que a dosis altas de Si (150 ppm), hubo notable reducción sobre la longitud y diámetro de tallos en rosa. Así también, se ha documentado que la aplicación de silicato de potasio (200 mg L<sup>-1</sup>) en girasol (*Helianthus annuus* L.) provoca la deformación de flores y retrasa el crecimiento (Kamenidou *et al.*, 2008), mientras que cuando se aplica silicato de sodio (150 mg L<sup>-1</sup>) disminuye la longitud de tallos y causa deformación en flores de gerbera (Kamenidou *et al.*, 2010). Otra posible explicación es que el suministro de Si en las plantas puede beneficiar en la mejora a la resistencia al estrés biótico o abiótico o altera la morfología de las mismas (Ma y Yamaji, 2006), tal como se observó en este estudio.

Los fosfitos se usan comúnmente para el control de oomicetes en diferentes cultivos, su eficacia ha sido demostrada contra numerosas especies, como, *Oidium* sp. (Yáñez *et al.*, 2012), *Erysiphe polygoni* D.C. (Salamanca-Carvajal y Alvarado-Gaona, 2012), *Penicillium expansum* Link. (Amiri y Bompeix, 2011), *Phytophthora cactorum* (Lebert y Cohn) Scröt (Rebollar-Alviter *et al.*, 2010) y *Peronospora sparsa* Berkeley (Rebollar-Alviter *et al.*, 2012). En este estudio, el tratamiento con K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub> a dosis de 2 mL L<sup>-1</sup> disminuyó significativamente la incidencia y severidad de *P. pannosa*. Resultados similares han sido reportados por Chavarro-Carrero *et al.* (2012), quienes demostraron que aplicaciones periódicas de fosfito de potasio sobre rosa variedad Bingo White® reducen la incidencia hasta un 35% y la severidad en 6.3% de *P. sparsa*, con una efectividad biológica del 93.4% contra el 14.8% de un fungicida a base de cymoxanil + hidróxido de cobre + mancozeb. Es importante destacar que el éxito que tienen los fosfitos en el control de algunas enfermedades se debe a su acción sistémica, por lo que actúan en todas las partes de la planta. Varios autores reportan que el fosfito exhibe un complejo modo de acción, actuando directamente en el desarrollo del patógeno, inhibiendo el crecimiento del micelio y la síntesis de la pared celular (King *et al.*, 2010), o indirectamente mediante la estimulación de respuestas de

defensa de las plantas como la producción de fitoalexinas (Lovatt y Mikkelsen, 2006; Lobato *et al.*, 2011), deposición de calosa, especies reactivas de oxígeno y la inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis (Eshraghi *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012).

Se ha documentado que además del efecto fungistático, los fosfitos pueden incrementar floración, rendimiento, tamaño de fruta, total de sólidos solubles y concentración de antocianinas en algunos cultivos (Lovatt y Mikkelsen, 2006). Sin embargo, en este estudio el fosfito de potasio redujo la longitud y diámetro de tallos y de botón floral respecto al testigo, esto en ambos ensayos, lo cual pudo deberse a la dosis de aplicación, debido a que existe evidencia que demuestra que a altas concentraciones de fosfitos se induce fitotoxicidad, lo cual afecta el rendimiento (Lovatt y Mikkelsen, 2006). Resultados similares fueron reportados por Yáñez *et al.* (2012), quienes documentaron que la aplicación de sales minerales incluyendo al fosfito de potasio, no mostraron efectos significativos que repercutieran en la longitud y el número de hojas en plantas de pepino.

Por otra parte el quitosano, un polisacárido catiónico de alto peso molecular extraído de la desacetilación de los exoesqueletos de cangrejos, es un biopolímero biodegradable y no tóxico, eficaz en la prevención de enfermedades de hongos al interferir directamente en su desarrollo (Bautista-Baños *et al.*, 2006) o en la activación de procesos biológicos en tejidos del hospedante (Bautista-Baños *et al.*, 2006; Iriti *et al.*, 2011). En este trabajo la aplicación de quitosano a 0.013% disminuyó la incidencia hasta un 31.2 y 19.3% en el primer y segundo ensayo respectivamente, la severidad también fue reducida en 60.3% en el primer y 63.1% en el segundo ensayo con relación al testigo. Wojdyla (2001), reportó que la aplicación de quitosano a una concentración de 0.025 a 0.2% redujo el desarrollo de la cenicilla del rosal en un rango de 43.5 a 85.4% similar al tratamiento químico con triforine (0.03%). Cuando se aplicó contra *P. sparsa* su eficacia varió del 50 a 73% y al utilizarlo contra *Botrytis cinerea* Pers: Fr. a concentraciones de 0.1 y 0.2% se redujo la severidad en un 5 y 35%, respectivamente. Resultados relacionados indican que aplicaciones semanales de quitosano (Biochikol 020 PC), incrementan la tolerancia contra *Diplocarpon rosae* Wolf de un 18 a 60%, pero en crisantemo a una concentración de 0.01 a 0.05% el control de *Oidium*

*chrysanthemi* DC. fue de 69 a 79%, mientras que con *Puccinia horiana* Henning fue de 54 a 97% (Wojdyla, 2004).

En el presente estudio queda evidenciado que aplicaciones de quitosano incrementan la longitud y diámetro de tallo y de botón floral en relación con el silicio y fosfito de potasio. Algunos reportes han demostrado la eficacia del quitosano para proteger plántulas contra plagas y enfermedades, mejorar la germinación de semillas, promover el crecimiento de plantas y por ende aumentar el rendimiento del cultivo. En ornamentales, la aplicación de quitosano influyó positivamente en gladiola (*Gladiolus* spp.) al incrementar la brotación de cormos, mayor número de flores por espiga y extendió la vida de florero (Ramos-García *et al.*, 2009), en cormos de fresias (*Freesia* spp.) mostró una rápida emergencia y disminuyó su ciclo vegetativo (Startek *et al.*, 2005), mientras que en orquídeas (*Dendrobium phalaenopsis* Fitzg.) influyó en el crecimiento de brotes meristemáticos en cultivo de tejidos (Nge *et al.*, 2006) y en *Lilium* spp. mostró un incremento en la vida de florero cuando los tallos fueron sumergidos o asperjado con una solución de quitosano + nano partícula coloidal pura AG + ion (Kim *et al.*, 2005). Otras evidencias, tales como la descrita por Ohta *et al.* (2001), quienes reportaron que semillas de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) sumergidas en quitosano al 1% durante una hora y su aplicación en suelo aumentó significativamente el número de flores y la longitud y diámetro del tallo.

## CONCLUSIONES

La caracterización morfométrica y molecular, confirmaron que *Podosphaera pannosa* es el agente asociado con la cenicilla del rosal en el municipio de Tenancingo, México. Las aplicaciones con silicio y fosfito de potasio redujeron la incidencia y severidad de *Podosphaera pannosa*, por lo que se consideran alternativas viables que pueden ser incorporadas en el manejo integrado de esta enfermedad. El quitosano puede ser una alternativa en el manejo del cultivo de rosa puesto que tiene efectos positivos sobre la longitud y diámetro del tallo y botón floral. El acetato de dodemorf mostró un excelente potencial para el control de *P. pannosa* y buena selectividad en el cultivo.

## LITERATURA CITADA

- Amiri A and Bompeix G. 2011. Control of *Penicillium expansum* with potassium phosphite and heat treatment. *Crop Protection* 30:222-227.
- Bautista-Baños S, Hernández-Lauzardo AN, Velázquez-del Valle MG, Hernández-López M, Ait Barka E, Bosquez-Molina E and Wilson CL. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25:108-118.
- Bélanger RR, Labbé C and Jarvis WR. 1994. Commercial-scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. *Plant Disease* 78:420-424.
- Benyagoub M and Bélanger RR. 1995. Development of a mutant strain of *Sporothrix flocculosa* with resistance to dodemorph-acetate. *Phytopathology* 85:766-770.
- Borkowski J and Szwonek E. 2004. Powdery mildew control on greenhouse tomatoes by chitosan and other selected substances. *Acta Horticulturae* 633:435-438.
- Botta A, Sierras N, Marín C and Piñol R. 2011. Powdery mildew protection with Armurox: An improved strategy for silicon application. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 1:1032-1039.
- Braun U and Cook RTA. 2012. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Utrecht, The Netherlands. 707p.
- Brent KJ and Hollomon DW. 2007. Fungicide resistance in crop pathogens. Second Edition Fungicide Resistance Action Committee. Brussels, Belgium. 56p.
- Campbell CL and Madden LV. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley and Sons Inc. New York, USA. 532p.
- Chavarro-Carrero EA, García-Velasco R, González-Díaz JG, González-Cepeda LE y Jiménez-Ávila LJ. 2012. Uso del fosfito de potasio para el manejo de *Peronospora sparsa* Berkeley en *Rosa* spp. *Fitopatología Colombiana* 36:53-56.
- Cunnington JH, Takamatsu S, Lawrie AC and Pascoe IG. 2003. Molecular identification of anamorphic powdery mildews (Erysiphales). *Australasian Plant Pathology* 32:421-428.
- Datnoff LE, Nell TA, Leonard RT and Rutherford BA. 2006. Effect of silicon on powdery mildew development on miniature potted rose. *Phytopathology* 96:S28.

- Daughtrey ML and Benson DM. 2005. Principles of plant health management for ornamental plants. *Annual Review of Phytopathology* 43:141-169.
- Debener T and Byrne DH. 2014. Disease resistance breeding in rose: Current status and potential of biotechnological tools. *Plant Science* 228:107-117.
- Debener T and Linde M. 2009. Exploring complex ornamental genomes: The rose as a model plant. *Critical Reviews in Plant Science* 28:267-280.
- Deliopoulos T, Kettlewell PS and Hare MC. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. *Crop Protection* 29:1059-1075.
- Eshraghi L, Anderson J, Aryamanesh N, Shearer B, McComb J, Hardy GESTj and O'Brien PA. 2011. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology* 60:1086-1095.
- Faoro F, Maffi D, Cantu D and Iriti M. 2008. Chemical-induced resistance against powdery mildew in barley: The effects of chitosan and benzothiadiazole. *Biocontrol* 53:387-401.
- Félix-Gastélum R, Herrera-Rodríguez G, Martínez-Valenzuela C, Maldonado-Mendoza IE, Quiroz-Figueroa FR, Brito-Vega H and Espinoza-Matías S. 2014. First report of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) of roses in Sinaloa, México. *Plant Disease* 98:1442.
- Gardes M and Bruns TD. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118.
- Havrylenko M. 1995. Erysiphaceous species from Nahuel Huapi National Park, Argentina. Part I. New Zeal. *New Zealand Journal of Botany* 33:389-400.
- Horsfall JG and Barratt RW. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35:655.
- Horst RK and Cloyd RA. 2007. *Compendium of rose diseases and pests*. Second Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 96p.
- Hwang SJ, Han-Min P and Jeong BR. 2005. Effects of potassium silicate on the growth of miniature rose 'Pinocchio' grown on rockwool and its cut flower quality. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 74:242-247.

- Iriti M, Vitalini S, Di Tommaso G, D'Amico S, Borgo M and Faoro F. 2011. New chitosan formulation prevents grapevine powdery mildew infection and improves polyphenol content and free radical scavenging activity of grape and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17:263-269.
- Kamenidou S, Cavins TJ and Marek S. 2008. Silicon supplements affect horticultural traits of greenhouse-produced ornamental sunflowers. *HortScience* 43:236-239.
- Kamenidou S, Cavins TJ and Marek S. 2010. Silicon supplements affect floricultural quality traits and elemental nutrient concentrations of greenhouse produced gerbera. *Scientia Horticulturae* 123:390-394.
- Kim JH, Lee AK and Suh JK. 2005. Effect of certain pre-treatment substances on vase life and physiological character in *Lilium* spp. *Acta Horticulturae* 673:307-314.
- King M, Reeve W, Van der Hoek MB, Williams N, McComb J, O'Brien PA and Hardy GE. 2010. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Genetics and Genomics* 284:425-435.
- Lee SH, Han KS, Park JH and Shin HD. 2011. Occurrence of *Podosphaera pannosa* Teleomorph on *Rosa rugosa* from Korea. *Plant Pathology Journal* 27:398.
- Leus L, Dewitte A, Van Huylenbroeck J, Vanhoutte N, Van Bockstaele E and Höfte M. 2006. *Podosphaera pannosa* (syn. *Sphaerotheca pannosa*) on *Rosa* and *Prunus* spp.: Characterization of pathotypes by differential plant reactions and ITS sequences. *Journal of Phytopathology* 154:23-28.
- Liang YC, Sun WC, Si J and Römheld V. 2005. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. *Plant Pathology* 54:678-685.
- Lobato MC, Machinandiarena MF, Tambascio C, Dosio GAA, Caldiz DO, Daleo GR, Andreu AB and Olivieri FP. 2011. Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *European Journal of Plant Pathology* 130:155-163.
- Lovatt CJ and Mikkelsen RL. 2006. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do?. *Better crops With Plant Food* 90:11-13.
- Ma JF and Yamaji N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science* 11:392-397.

- Machinandiarena MF, Lobato MC, Feldman ML, Daleo GR and Andreu AB. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 169:1417-1424.
- Moret A, Muñoz Z and Garcés S. 2009. Control of powdery mildew on cucumber cotyledons by chitosan. *Journal of Plant Pathology* 91:375-380.
- Mori Y, Sato Y and Takamatsu S. 2000. Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycologia* 92:74-93.
- Nge KL, Nwe N, Chandkrachang S and Stevens WF. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Science* 170:1185-1190.
- Ohta K, Asao T and Hosoki T. 2001. Effects of chitosan treatments on seedling growth, chitinase activity and flower quality in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. 'Kairyuu Wakamurasaki'. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 76:612-614.
- Pemberton HB, Kelly JW and Ferare J. 2003. Pot rose production. Pp:587-593. *In*: Roberts AV, Debener T and Gudin S (eds.). *Encyclopedia of rose science*. Academic press. Oxford, USA. 1450p
- Ramos-García M, Ortega-Centeno S, Hernández-Lauzardo AN, Alia-Tejacal I, Bosquez-Molina E and Bautista-Baños S. 2009. Response of gladiolus (*Gladiolus* spp) plants after exposure corms to chitosan and hot water treatments. *Scientia Horticulturae* 121:480-484.
- Rebollar-Alviter A, Silva-Rojas HV, López-Cruz I, Boyzo-Marín J and Ellis MA. 2012. Fungicide sprays programs to manage downy mildew (dryberry) of blackberry caused by *Peronospora sparsa*. *Crop Protection* 42:49-55.
- Rebollar-Alviter A, Wilson LL, Madden LV and Ellis MA. 2010. A comparative evaluation of post-infection efficacy of mefenoxam and potassium phosphite with protectant efficacy of azoxystrobin and potassium phosphite for controlling leather rot of strawberry caused by *Phytophthora cactorum*. *Crop Protection* 29:349-353.
- Reezi S, Babalar M and Kalantari S. 2009. Silicon alleviates salt stress, decreases malondialdehyde content and affects petal color of salts-tressed cut rose (*Rosa x hybrida* L.) 'Hot Lady'. *African Journal of Biotechnology* 8:1502-1508.

- Ribeiro JPM, Vilela RML, Borges PR, Rossi CF, Rufino AD and De Padua MA. 2006. Effect of potassium phosphite on the induction of resistance in cocoa seedlings (*Theobroma cacao* L.) against *Verticillium dahliae* Kleb. *Ciência e Agrotecnologia* 30:629-636.
- Romberg MK, Kennedy AH and Ko M. 2014. First report of the powdery mildews *Leveillula taurica* and *Podosphaera pannosa* on rose periwinkle in the United States. *Plant Disease* 98:848.
- Saenz GS and Taylor JW. 1999. Phylogeny of the Erysiphales (powdery mildews) inferred from internal transcribed spacer ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany* 77:150-168.
- Salamanca-Carvajal M y Alvarado-Gaona A. 2012. Efecto de la proteína harpin y el fosfito de potasio en el control del mildew polvoso (*Erysiphe polygoni* D.C.) en tomate, en Sutamarchán (Boyacá). *Ciencia y Agricultura* 9:65-75.
- Salmon ES. 1900. A monograph of the Erysiphaceae. Torrey Botanical Club. New York, USA. 292p.
- Shetty R, Fretté X, Jensen B, Shetty NP, Jensen JD, Jørgensen HJL, Newman MA and Christensen LP. 2011. Silicon-induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology* 157:2194-2205.
- Shetty R, Jensen B, Shetty NP, Hansen M, Hansen CW, Starkey KR and Jørgensen HJL. 2012. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. *Plant Pathology* 61:120-131.
- Startek L, Bartkowiak A, Salachna P, Kaminska M and Mazurkiewicz-Zapalowicz K. 2005. The influence of new methods of corm coating on freesia growth, development and health. *Acta Horticulturae* 673:611-616.
- Suthaparan A, Stensvand A, Solhaug KA, Torre S, Mortensen LM, Gadoury DM, Seem RC and Gislerød HR. 2012. Suppression of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in greenhouse roses by brief exposure to supplemental UV-B radiation. *Plant Disease* 96:1653-1660.



- Suthaparan A, Stensvand A, Torre S, Herrero ML, Pettersen RI, Gadoury DM and Gislérød HR. 2010. Continuous lighting reduces conidial production and germinability in the rose powdery mildew pathosystem. *Plant Disease* 94:339-344.
- Takamatsu S, Niinomi S, Harada M and Havrylenko M. 2010. Molecular phylogenetic analyses reveal a close evolutionary relationship between *Podosphaera* (Erysiphales: Erysiphaceae) and its rosaceous hosts. *Persoonia* 24:38-48.
- To-anun C, Kom-un S, Sunawan A, Fangfuk W, Sato Y and Takamatsu S. 2005. A new subgenus, *Microidium*, of *Oidium* (Erysiphaceae) on *Phyllanthus* spp. *Mycoscience* 46:1-8.
- White TJ, Bruns TS, Lee S and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp:315-322. *In*: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White TJ (eds.). *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press. San Diego, USA. 1990p.
- Wojdyla AT. 2001. Chitosan in the control of rose diseases: 6-year-trials. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Series Biological Sciences* 49:243-252.
- Wojdyla AT. 2004. Chitosan (biochikol 020 PC) in the control of some ornamental foliage diseases. *Communications in Agricultural Applied Biology Science* 69:705-715.
- Yáñez JMG, León RJF, Godoy ATP, Gastélum LR, López MM, Cruz OJE y Cervantes DL. 2012. Alternativas para el control de la cenicilla (*Oidium* sp.) en pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3:259-270.

### **7.3. CAPÍTULO III. RESPUESTAS DE DEFENSA INDUCIDAS POR FOSFITO DE POTASIO, SILICIO Y QUITOSANO EN PLANTAS DE ROSAL INFECTADAS CON *Podosphaera pannosa*.**

**Daniel Domínguez Serrano\***, **Rómulo García Velasco** y **Martha Elena Mora Herrera**, Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México, km 1.5 Carr. Tenancingo-Villa Guerrero, Tenancingo, Edo. México, CP 52400, México; **Martha Lidya Salgado Siclan**, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Edo. México, CP 50200, México. \*Correspondencia: danusso10@hotmail.com

#### **RESUMEN**

*Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr.) de Bary es uno de los mayores problemas fitosanitarios en el cultivo de rosal, su manejo se basa con fungicidas en continuas aplicaciones que tienden a generar poblaciones insensibles a estos productos. La búsqueda de alternativas es indispensable. Por lo tanto, se estudió el efecto del silicio, fosfito de potasio, quitosano y acetato de dodemorf en la severidad de la enfermedad, así como las respuestas de defensa inducidas a la infección con *P. pannosa*. El experimento se realizó en condiciones de invernadero bajo un diseño de bloques al azar. Las plantas tratadas con quitosano, silicio y fosfito de potasio mostraron una reducción de la severidad del 49.3, 64.8 y 67.4 % respectivamente, con respecto al testigo. La actividad enzimática de la POX se incrementó significativamente en las plantas tratadas con silicio (46.7 %) a los 8 dai, pero a los 30 ddi se observaron incrementos significativos en los tratamientos con silicio (20.8 %), fosfito de potasio (16.7 %) y quitosano (12.5 %) con respecto al testigo. En la actividad enzimática de la PFO no se observaron incrementos significativos con ninguno de los tratamientos. Mientras que el contenido de compuestos fenólicos totales, se incrementó significativamente en las plantas tratadas con fosfito de potasio (40.2 %) a los 30 ddi, con respecto al testigo. Los tratamientos con silicio, fosfito de potasio y quitosano redujeron la severidad de la cenicilla del rosal mediante el incremento de la POX y el

contenido de compuestos fenólicos, por lo tanto, pueden ser utilizados como una medida eficaz en el manejo de la enfermedad.

**Palabras clave:** Inductores, severidad, peroxidasa, polifenoloxidasa, compuestos fenólicos.

### **ABSTRACT**

*Podospaera pannosa* is one of the main phytosanitary problems in rose cultivation, because its management is based on continuous fungicide applications which tends to generate insensitive to these products. Thus, search for alternatives is crucial. Therefore, the effect of silicon, potassium phosphite, chitosan and dodemorf acetate in the severity of the disease and induced defense responses to infection with *P. pannosa* was studied. The experiment was conducted under greenhouse conditions under a randomized block design. Plants treated with chitosan, silicon and potassium phosphate showed a reduction in the severity of 49.3, 64.8 and 67.4 % respectively, compared with the control. The enzymatic activity of the POX is significantly increased in plants treated with silicon (46.7 %) at 8 dai, but 30 ddi significant increases were observed in treatments with silicon (20.8 %), potassium phosphite (16.7 %) and chitosan (12.5 %) compared with the control. In the enzymatic activity of PFO no significant increases were observed with either treatment. While the content of total phenolic compounds is significantly increased in plants treated with potassium phosphite (40.2 %) 30 ddi compared with the control. Treatments with silicon, potassium phosphite and chitosan reduced the severity of powdery mildew of rose by increasing the POX and the content of phenolic compounds, therefore, they can be used as an effective measure in the management of the disease.

**Keywords:** Inductors, severity, peroxidase, poliphenoloxidase, phenolic compounds.

## INTRODUCCIÓN

La cenicilla del rosal causada por *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr) de Bary, es una de las enfermedades más importantes y destructivas a nivel mundial (Scarito *et al.*, 2007; Suthaparan *et al.*, 2012). Este patógeno infecta todas las partes aéreas de la planta y bajo condiciones favorables provoca la distorsión de hojas y defoliación prematura (Shetty *et al.*, 2012), lo que ocasiona pérdidas económicas significativas en la productividad, calidad y por ende en la comercialización (Yan *et al.*, 2006; Suthaparan *et al.*, 2010). Entre los fungicidas empleados para el control de la enfermedad destacan los inhibidores de la desmetilación y de la biosíntesis del ergosterol (Pasini *et al.*, 1997; Pasini *et al.*, 2007), así como, las estrobilurinas que inhiben la respiración mitocondrial (Daughtrey y Benson, 2005). Sin embargo, aplicaciones continuas de estos fungicidas pueden causar fitotoxicidad, reducir la longitud de los tallos, originar selección de poblaciones resistentes del patógeno (Pasini *et al.*, 1997; Daughtrey y Benson, 2005) y daños al ambiente y a la salud humana (Jones *et al.*, 2014).

Lo anterior conduce a la búsqueda de alternativas de manejo como el uso de inductores químicos que estimulan los mecanismos naturales de defensa de las plantas a través de la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) (Lucas, 1999). Varios inductores se han utilizado para inducir SAR, tales como el silicio que ha mostrado potencial para mejorar componentes estructurales y bioquímicos a enfermedades. Por ejemplo, se reportó que la aplicación de silicio (3.6 mM) en *Rosa hybrida*, aumentó la concentración de ácidos fenólicos y flavonoides antimicrobianos en respuesta a la infección de *P. pannosa*. Así mismo, se observó un incremento en la expresión de genes que codifican enzimas clave en la ruta de los fenilpropanoides (fenilalanina amonio liasa, cinamil alcohol deshidrogenasa y chalcona sintasa) (Shetty *et al.*, 2011). Igualmente Chérif *et al.* (1994), demostraron que la aplicación de silicio activó los mecanismos de defensa en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) contra *Phytophthora* spp., mostrando una mayor actividad de quitinasas, peroxidasa y polifenoloxidasas y un aumento de la acumulación de compuestos fenólicos. En plantas de pepino infectadas con *Sphaerotheca fuliginea* (Schlechtend.:Fr.) Pollacci se observó un incremento en la producción de fitoalexinas flavonoides (Fawe *et al.*, 1998). Así mismo,

los fosfitos tienen la capacidad de estimular los mecanismos de defensa de las plantas (Deliopoulos *et al.*, 2010), tales como la producción de fitoalexinas (Lobato *et al.*, 2011), especies reactivas de oxígeno (ROS), la inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis (PRs), el reforzamiento de la pared celular mediante la lignificación y deposición de calosa (Guest y Grant, 1991; Eshraghi *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012; Pilbeam *et al.*, 2011) y el incremento de otras enzimas de defensa tales como la quitinasa, peroxidasa, polifenoloxidasas y  $\beta$ -1,3-glucanasa (Lobato *et al.*, 2008, 2011).

Otro inductor es el quitosano un derivado de la desacetilación de la quitina, considerado como un biopolímero capaz de inducir mecanismos de defensas contra diversos patógenos (Iriti *et al.*, 2011). Las respuestas de defensa elicidadas por quitosano incluyen el incremento de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, activación de las MAP-quinasas, aposición de callosa, estallido oxidativo, la respuesta hipersensible (HR), la síntesis de ácido abscísico (ABA), jasmonato, fitoalexinas, proteínas relacionadas con la patogénesis (Iriti y Faoro, 2009) y deposición de compuestos fenólicos (Bautista-Baños *et al.*, 2006; Faoro *et al.*, 2008). Al respecto, Iriti *et al.* (2010) reportaron que la resistencia inducida en plantas tratadas con quitosano está asociada con el incremento de fitoalexinas polifenólicas debido a la estimulación de la ruta fenilpropanoide. Así mismo, la elicitación de esta ruta de biosíntesis se ha informado y se correlaciona con el incremento de la actividad y nivel de transcripción de la fenilalanina amonio-liasa y chalcona sintasa (NandeeshKumar *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009; Falcón-Rodríguez *et al.*, 2009). Por su parte, Xiao-juan *et al.* (2008) reportaron que el quitosano incrementa la actividad peroxidasa, polifenoloxidasas, contenido de flavonoides y lignina.

En este estudio se evaluó el silicio, fosfito de potasio y quitosano en *Rosa* spp. var. Samorurai® contra la infección de *Podosphaera pannosa*. Además, se cuantificó la actividad enzimática de la peroxidasa, polifenoloxidasas y el contenido de fenoles totales.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente estudio se realizó en el invernadero experimental del Centro Universitario Tenancingo de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicado en el km 1.5 de la carretera Tenancingo-Villa Guerrero, Estado de México, en los 18° 57' N y 99° 35' O, a una altitud de 2066 m.

### **Material biológico e inoculación**

Como material biológico se utilizaron plantas de rosal var. Samourai<sup>®</sup>, cultivadas bajo condiciones de invernadero y plantadas a una hilera. Para favorecer el desarrollo natural de la cenicilla durante el experimento se incrementó la temperatura (25-33 °C) durante el día y la humedad relativa por la noche (70-90 %) mediante el manejo de las ventilas del invernadero (Domínguez *et al.*, 2016).

### **Experimento en invernadero**

El experimento se llevó a cabo en los meses de mayo a julio de 2014, y se estableció bajo un diseño de bloques al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, se utilizaron 20 unidades experimentales; cada unidad experimental consistió de una parcela de 2.70 m de largo por 1 m de ancho con 27 plantas de rosal distribuidas en hilera. Mediante una poda se estimuló la producción de brotes de forma homogénea, sobre los cuales se evaluaron los tratamientos.

### **Tratamientos**

Estos fueron: fosfito de potasio, quitosano y silicio como inductores de resistencia, el fungicida acetato de dodemorf como control estándar y un testigo tratado únicamente con agua destilada (Cuadro 1). Los tratamientos se asignaron al azar a cada unidad experimental, su aplicación inició ocho días después de la poda, y posteriormente a intervalos semanales hasta llegar al punto de corte. La aplicación se realizó con una bomba de aspersion motorizada (Maruyama, MS072H) con boquilla de abanico, durante las primeras horas de la mañana, realizando una cobertura total del follaje (gasto 2 L por tratamiento).

## Variables evaluadas

Se seleccionaron 10 tallos al azar por unidad experimental, a los cuales se les midió la severidad 30 días después de establecida la infección (ddi) por *Podospaera pannosa*; además, se tomaron y etiquetaron al azar 3 tallos y de su parte media se colectaron folíolos maduros para cuantificar la actividad enzimática de la peroxidasa (POX), polifenoloxidasas (PFO) y contenido de fenoles totales 8 días antes de la infección (dai) y 30 días después de la infección (ddi).

**Cuadro 1.** Tratamientos evaluados para el manejo de la cenicienta en plantas de rosal var. Samurai®.

Tratamiento	Nombre comercial	Concentración	* mL L <sup>-1</sup>
Testigo	Agua destilada	-----	---
Fosfito de potasio	Nutriphite magnum®	2 % N, 40 % P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 16% K <sub>2</sub> O	2
Quitosano	Biorend®	2.5 % poly-d-glucosamina	2.5
Silicio	Armurox®	2 % complejo de péptidos con silicio soluble	3
Acetato de dodemorf	Meltatox®	400 g i.a L <sup>-1</sup> de dodemorf	2

\* Dosis recomendadas por el fabricante.

## Evaluación de la severidad de *P. pannosa*.

Para determinar la severidad de la enfermedad se utilizó la escala de Horsfall y Barratt (1945), con ocho categorías (Cuadro 2). Posteriormente, los valores se transformaron a porcentaje de severidad mediante la ecuación de Townsend y Heuberger (1943):

$$P = \frac{\sum (n * v)}{(N * i)} * 100$$

Donde: *P*= porcentaje de daño; *n*= número de hojas por cada clase en la escala; *v*= grado respectivo de la escala; *N*= número total de hojas evaluadas y *i*= mayor grado de la escala.

**Cuadro 2.** Escala de severidad para *P. pannosa* en rosal var. Samourai®.

Categoría	Severidad (%)
0	No síntomas
1	1-2.5
2	2.6-5
3	6-10
4	11-25
5	26-50
6	51-75
7	76-100

### **Actividad peroxidasa (POX)**

La extracción de proteína se realizó de acuerdo al método descrito por Anderson *et al.* (1995), con algunas modificaciones: se maceró un fragmento (300 mg) apical de foliolo maduro de la parte media del tallo con nitrógeno líquido y se homogenizó con el amortiguador de fosfato de potasio (Baker; 50 mM, ajustado a un pH 7.2) conteniendo 5 mM de dithiothreitol (DTT), 1 mM de ácido etilendiamino tetracético (EDTA) y 5 % de polyvinyl pirrolidona (PVP) en proporción 1:5 (p:v). El extracto se centrifugó a 10 000 g durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante se usó para cuantificar proteína y actividad enzimática de la POX.

La mezcla de reacción consistió de un amortiguador de fosfato de sodio (50 mM ajustado a un pH 7.0), 3.33 mM de guaiacol, 4 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 0.050 mL del sobrenadante de la muestra en un volumen final de 3 mL. La reacción se inició con la adición del sobrenadante. El blanco consistió en el amortiguador de reacción sin extracto de proteína. La oxidación del sustrato (guaiacol) se midió por el incremento en la absorbancia a 470 nm durante 3 min a intervalos de 30 s (Herrera-Martínez *et al.*, 2013).

Para expresar la actividad enzimática de la POX se usó el coeficiente de extinción del guaiacol  $\epsilon = 5.57 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ , en la ecuación  $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} = (\epsilon) (\text{volumen final/volumen de la muestra}) (\text{mg de proteína})$ .



### **Actividad polifenoloxidasa (PFO)**

La extracción de proteína se realizó de acuerdo al método descrito por Duan *et al.* (2007), con algunas modificaciones: se maceró un fragmento (300 mg) apical de foliolo maduro de la parte media del tallo con nitrógeno líquido y se homogenizó con el amortiguador de fosfato de sodio (Baker; 100 mM, ajustado a un pH 6.5) conteniendo 5 % de polyvinyl pirrolidona (PVP) en proporción 1:5 (p:v). El extracto se centrifugó a 14 500 g durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante se usó para cuantificar proteína y actividad enzimática de la PFO.

La mezcla de reacción consistió en amortiguador de fosfato de sodio (100 mM ajustado a un pH 7.0); conteniendo 100 mM de pirocatecol, 4 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 0.100 mL del sobrenadante de la muestra en un volumen final de 3 mL. La reacción se inició con la adición del sobrenadante. El blanco consistió en el amortiguador de reacción sin extracto de proteína. La oxidación del sustrato (pirocatecol) se midió por el incremento en la absorbancia a 420 nm durante 3 min a intervalos de 30 s.

Para expresar la actividad enzimática de la PFO se utilizó el coeficiente de extinción del pirocatecol  $\epsilon = 1.26 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ , en la ecuación  $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} = (\epsilon) (\text{volumen final/volumen de la muestra}) (\text{mg de proteína})$ .

### **Cuantificación de proteína**

La cuantificación de la proteína se realizó de acuerdo con el método de Bradford (1976). Para la curva estándar se utilizaron diferentes contenidos de proteína albúmina sérica de bovino (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50  $\mu\text{g}$ ), se ajustaron a 100  $\mu\text{L}$  con agua destilada, se añadió 1 mL del reactivo de Bradford (diluido  $\frac{1}{4}$ ), se agitaron e incubaron por 5 min, posteriormente se midió la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro (Thermo scientific Genesys 10s Vis-serial). La proteína se cuantificó en tres muestras por tratamiento en cada repetición experimental.

### **Cuantificación de fenoles totales**

La extracción se realizó de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu, descrito por Waterman y Mole (1994). Para lo cual se pesó un gramo de foliolo (tejido maduro) y se maceró con nitrógeno líquido, posteriormente se adicionaron 10 mL de metanol al

50 %, después las muestras se colocaron en baño maría a punto de ebullición durante 5 min, se centrifugaron a 5 000 rpm durante 5 min. La mezcla de reacción consistió de 50 µL del sobrenadante, 50 µL del reactivo de Folin y 1 mL de carbonato de sodio al 20 %, se agitó y después se dejó reposar por 30 min en oscuridad y se leyó la absorbancia a 760 nm en espectrofotómetro (Thermo scientific Genesys 10s Vis-serial). La cuantificación se hizo con una curva patrón de ácido tánico y se reportó la concentración en mg de ácido tánico por mg de peso fresco (mg ácido tánico \* g<sup>-1</sup> de PF). El contenido de fenoles se cuantificó en tres muestras por tratamiento en cada repetición experimental.

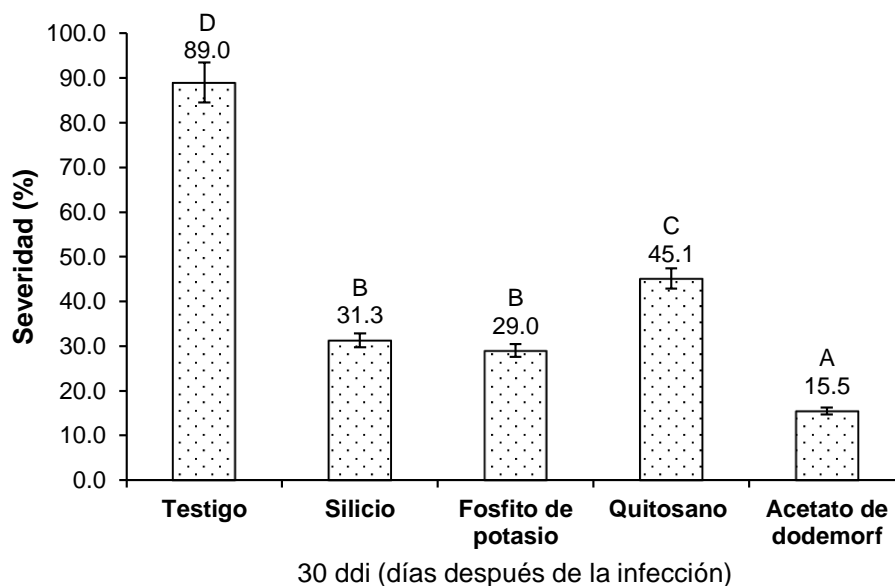
### **Análisis de datos**

Los datos de las variables fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ( $\alpha=0.05$  %) mediante el programa estadístico InfoStat, versión estudiantil 2015.

## **RESULTADOS**

### **Evaluación de la severidad de *P. pannosa***

Las plantas tratadas con quitosano, silicio y fosfito de potasio mostraron menores porcentajes de severidad con 45.1, 31.3 y 29.0 % respectivamente, en comparación con las plantas del testigo que presentaron la mayor severidad con un 89.0 %. Sin embargo, ninguno de los tratamientos fue tan efectivo como el fungicida acetato de dodemorf quien manifestó la menor severidad con 15.5 % (Figura 1).



**Figura 1.** Efecto de los tratamientos sobre la severidad de *P. pannosa* en rosal variedad Samourai®. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, Tukey ( $P>0.05$ ).

### **Efecto de la aplicación de fosfito de potasio, silicio y quitosano sobre la actividad enzimática de la POX, PFO y contenido de fenoles totales**

En la actividad enzimática de la POX, se encontró que tuvo un incremento en las plantas tratadas con silicio, fosfito de potasio y quitosano de hasta un 46.7, 36.7 y 23.3 % respectivamente a los 8 dai, pero solo las plantas tratadas con silicio fueron estadísticamente diferentes ( $P>0.05$ ) con respecto al testigo. A los 30 ddi, se observó la misma tendencia; los tratamientos con silicio, fosfito de potasio y quitosano incrementaron significativamente ( $P>0.05$ ) la POX hasta un 20.8, 16.7 y 12.5 % respectivamente en relación con el testigo (Cuadro 3).

Con respecto a la actividad enzimática de la PFO, a los 8 dai los tratamientos con silicio, fosfito de potasio y quitosano mostraron incrementos no significativos de 14.4, 8.0 y 12.7 % respectivamente, en relación con el testigo; 30 días después de la infección no se observaron cambios entre los tratamientos (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Efecto de los tratamientos sobre la actividad enzimática de la POX y PFO de plantas de rosal variedad Samourai® infectadas con *P. pannosa*.

Tratamiento	POX*		PFO*	
	8 dai <sup>x</sup>	30 ddi <sup>y</sup>	8 dai <sup>x</sup>	30 ddi <sup>y</sup>
Testigo	0.30±0.03 <sup>A</sup>	0.48±0.02 <sup>A</sup>	11.17±0.40 <sup>A</sup>	9.82±0.11 <sup>A</sup>
Quitano	0.37±0.04 <sup>AB</sup>	0.54±0.01 <sup>B</sup>	12.59±0.62 <sup>A</sup>	10.02±0.18 <sup>A</sup>
Acetato de dodemorf	0.36±0.01 <sup>AB</sup>	0.52±0.02 <sup>AB</sup>	11.92±0.49 <sup>A</sup>	10.26±0.35 <sup>A</sup>
Silicio	0.44±0.03 <sup>B</sup>	0.58±0.01 <sup>B</sup>	12.78±0.54 <sup>A</sup>	10.42±0.17 <sup>A</sup>
Fosfito de potasio	0.41±0.01 <sup>AB</sup>	0.56±0.01 <sup>B</sup>	12.06±0.30 <sup>A</sup>	10.47±0.13 <sup>A</sup>

Los resultados son el promedio de 12 muestras medidas por triplicado por tratamiento. ± Error estándar. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, Tukey ( $P>0.05$ ). Peroxidasa (POX), Polifenoloxidasas (PFO). \*nmol<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>mg de proteína. <sup>x</sup>Días antes de la infección, <sup>y</sup>Días después de la infección.

En el contenido de fenoles totales, no se observaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) con ninguno de los tratamientos al inicio del experimento (8 dai), no obstante, las plantas tratadas con silicio mostraron un incremento no significativo del 19.2 % en relación con el testigo. A los 30 ddi, el tratamiento con fosfito de potasio incrementó significativamente ( $P>0.05$ ) hasta 40.2 %, contrastando con el testigo, pero estadísticamente fue igual con el acetato de dodemorf que mostró un incremento del 37.7 %. Las plantas tratadas con silicio y quitano mostraron incrementos no significativos del 19.7 y 14.5 % respectivamente, en comparación con las plantas del testigo (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Efecto de los tratamientos sobre el contenido de fenoles totales en plantas de rosal variedad Samourai® infectadas con *P. pannosa*.

Tratamiento	Fenoles totales*	
	8 dai <sup>x</sup>	30 ddi <sup>y</sup>
Testigo	12.01 ± 0.74 <sup>A</sup>	13.07 ± 0.68 <sup>A</sup>
Quitosano	11.76 ± 1.25 <sup>A</sup>	14.96 ± 1.48 <sup>A</sup>
Silicio	14.31 ± 1.08 <sup>A</sup>	15.64 ± 0.63 <sup>AB</sup>
Fosfito de potasio	12.75 ± 1.07 <sup>A</sup>	18.33 ± 0.47 <sup>B</sup>
Acetato de dodemorf	12.53 ± 0.48 <sup>A</sup>	18.00 ± 0.62 <sup>B</sup>

Los resultados son el promedio de 12 muestras medidas por triplicado por tratamiento. ± Error estándar. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, Tukey ( $P > 0.05$ ). \* mg de ácido tánico g<sup>-1</sup> de PF. <sup>x</sup>Días antes de la infección, <sup>y</sup>Días después de la infección.

## DISCUSIÓN

La cenicilla del rosal causada por *Podosphaera pannosa* es un problema de importancia económica en todo el mundo, tanto en rosas cultivadas en invernadero como en macetería (Shetty *et al.*, 2012; Suthaparan *et al.*, 2012). Este patógeno es difícil de controlar de manera sostenible. En el presente trabajo queda evidenciado que la aplicación de inductores de resistencia tales como; el quitosano, silicio y fosfito de potasio disminuyen significativamente la severidad de la enfermedad hasta un 49.3, 64.8 y 67.4 % respectivamente, en relación con el testigo. Sin embargo, ninguno de los inductores fue tan efectivo como el fungicida acetato de dodemorf con quien se observó la menor severidad con el 15.5 %.

Entre los inductores, el silicio y fosfito de potasio fueron los tratamientos más efectivos. Al respecto, Shetty *et al.* (2012) reportaron que la aplicación de 3.6 mM de Silicio (100 ppm) suministrado en solución nutritiva, redujo la severidad de *P. pannosa* hasta un 48.9 % dependiendo del genotipo del hospedante. Así mismo, se demostró una reducción de la severidad de la enfermedad en rosas de maceta de hasta un 57 % (Datnoff *et al.*, 2006). Shetty *et al.* (2011) sugieren que la reducción de la severidad de *P. pannosa* en rosal puede estar asociado por un incremento en la concentración

de compuestos fenólicos antimicrobianos y flavonoides en respuesta a la infección. No obstante, varios intentos se han hecho para determinar los posibles mecanismos por los que este elemento induce resistencia a enfermedades. En rosal varias respuestas de defensa han sido reportadas contra la infección por patógenos, incluyendo la acumulación de compuestos fenólicos, lignina y calosa (Conti *et al.*, 1986; Dewitte *et al.*, 2007), proteínas relacionadas con la patogénesis y papilas (Dewitte *et al.* 2007), especies reactivas de oxígeno (Gachomo y Kotchoni, 2008) y el incremento de células epidérmicas fluorescentes (FEC) que se cree que representan la respuesta hipersensible (Shetty *et al.*, 2012) y eficaces para detener la infección por patógenos biotrofos (Shetty *et al.*, 2008). En la presente investigación las plantas de rosal tratadas con silicio resultaron en un incremento de la actividad enzimática de la POX en respuesta a la infección con *Podosphaera pannosa*, mientras que en la actividad enzimática de la PFO no se observaron cambios. Resultados similares fueron reportados por Chérif *et al.* (1994) quienes mencionan que la incorporación de silicio en sistema hidropónico estimula la actividad enzimática de la POX en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) después de la infección con *Phytophthora* spp.

Por otra parte, la aplicación de fosfito de potasio a dosis de 2 mL L<sup>-1</sup> disminuyó la severidad de la enfermedad en un 67.4 %, con respecto al testigo. Similarmente, Yáñez *et al.* (2012) reportaron que la aplicación de fosfito de potasio y bicarbonato de potasio a dosis de 5 y 4.7 g L<sup>-1</sup> respectivamente, redujeron significativamente la severidad de *Oidium* sp. en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.). El efecto de sales de potasio en el control de patógenos se debe a la inducción de mecanismos de defensa de las plantas, tales como la producción de fitoalexinas (Lovatt y Mikkelsen, 2006; Lobato *et al.*, 2011), deposición de calosa, especies reactivas de oxígeno y la inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis (Eshraghi *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012). En el presente trabajo, la aplicación de fosfito de potasio incrementó significativamente la actividad enzimática de la POX en plantas de rosal, en relación con el testigo a los 30 ddi, mientras que en la actividad enzimática de la PFO no se observaron incrementos significativos. Igualmente, Ribeiro *et al.* (2006) reportaron un ligero incremento en la actividad enzimática de la POX a los 13 días después de la aplicación de fosfito de potasio (1.25 ml L<sup>-1</sup>), en respuesta a la infección

con *Verticillium dahliae* Kleb, mientras que en la actividad enzimática de la PFO no indujo ningún cambio. Por su parte, Reuveni y Reuveni (1995), demostraron que la protección inducida por fosfatos contra la cenicilla de uva (*Vitis* spp.) causada por *Uncinula necator* (Schw.) Burr. se asocia con incrementos en la actividad enzimática de la POX.

Así mismo, el tratamiento con quitosano redujo la severidad de la enfermedad y mostró un incremento significativo en la actividad enzimática de la POX a los 30 ddi, lo que sugiere la participación de esta enzima en la reducción de la severidad de *Podosphaera pannosa*. Similarmente, Berumen *et al.* (2015) reportaron que la aplicación de quitosano al 1 % incrementó significativamente la actividad enzimática la POX en frutos de mango (*Mangifera indica* L.), en respuesta a la infección por *Colletotrichum* sp. Estos datos concuerdan con los de Liu *et al.* (2007), quienes encontraron que a concentraciones de 1.0 % de quitosano se logró el aumento de la actividad enzimática de la POX en frutos de tomate a la infección de *Botrytis cinerea* Pers. y *Penicillium expansum* Link. Igualmente, Ben-Shalom *et al.* (2003) demostraron que la actividad enzimática de la POX fue inducida mediante la aplicación de quitosano en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) cv. Hasan, resultando un aumento en la resistencia contra *B. cinerea*.

Los resultados del presente trabajo sugieren que la aplicación de los inductores silicio, fosfito de potasio y quitosano incrementan la actividad enzimática de la POX en respuesta a la infección de *Podosphaera pannosa*, resultando en una disminución de la severidad de la enfermedad.

Con respecto a los compuestos fenólicos, existen reportes que indican que los mecanismos de resistencia asociados con el silicio incluyen el incremento de estos compuestos (Chérif *et al.*, 1994; Poza *et al.*, 2015). En nuestros resultados, con la aplicación de silicio a los 8 dai, se observó un incremento no significativo en el contenido de compuestos fenólicos totales con respecto al testigo. No obstante, Shetty *et al.* (2011) reportaron que la aplicación de 3.6 mmol L<sup>-1</sup> de silicio en rosal (*Rosa hybrida*) incrementó la concentración de compuestos fenólicos en respuesta a la infección de *P. pannosa*. A los 30 ddi se observó un incremento significativo en el contenido de compuestos fenólicos totales en las plantas de rosal tratadas con fosfito

de potasio, dicho resultado sugiere la participación en esta respuesta de defensa a la infección de *Podosphaera pannosa* en rosal. Resultados similares fueron obtenidos por Lobato *et al.* (2011), quienes reportaron que el tratamiento con fosfito de potasio resultó en una acumulación de fitoalexinas en respuesta a la infección de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). Así mismo, Estrada (2014), reportó que la aplicación de fosfito incrementó el contenido de compuestos fenólicos totales con en el cultivo de acelga (*Beta vulgaris* L.).

El incremento en el contenido de fenoles totales con fosfito de potasio se asocia con los niveles de la actividad enzimática de la POX, ya que es una enzima que permite reacciones de óxido-reducción propiciando el aumento en el contenido de compuestos fenólicos presentes en el tejido del hospedero (Dixon y Paiva, 1995). Esto también puede explicar los resultados obtenidos en el contenido de compuestos fenólicos en plantas tratadas con quitosano, puesto que se ha reportado que esta sustancia no siempre estimula la actividad de las enzimas de la vía del fenilpropanoide. Al respecto, en el fruto de litchi (*Litchi chinensis* Sonn.), el oscurecimiento de los tejidos por acción de los compuestos fenólicos hace que la vida de anaquel sea corta, por lo que se han realizado estudios aplicando quitosano (1 y 2 %) con el objetivo de disminuir la actividad enzimática, encontrándose que el recubrimiento con quitosano retardó el incremento de la actividad PFO y parcialmente inhibió la actividad POX (Zhang y Quantick, 1997). En general, nuestros resultados con quitosano pudieron estar asociados con la concentración utilizada, puesto que reportes indican que una concentración apropiada de quitosano puede inducir la activación de los mecanismos de defensa de las plantas (Berumen *et al.*, 2015).

Con base a los resultados obtenidos en esta investigación, los inductores, silicio, fosfito de potasio y quitosano pueden ser utilizados para el manejo de la cenicilla del rosal, además la actividad enzimática de la POX y contenido de fenoles totales están involucrados en las respuestas de defensa del rosal a la infección de *P. pannosa*.

## **CONCLUSIONES**

La aplicación de los inductores silicio, fosfito de potasio y quitosano redujeron significativamente la severidad de *Podosphaera pannosa* en el cultivo de rosal, por lo



que son alternativas que pueden incorporarse en el manejo de la enfermedad. El acetato de dodemorf a dosis de 2 mL L<sup>-1</sup> mostró un excelente potencial para el control de *P. pannosa*. Los inductores silicio, fosfito de potasio y quitosano incrementan significativamente la actividad enzimática de la POX en plantas de rosal variedad Samourai®. En la actividad enzimática de la PFO no se observaron cambios con ninguno de los tratamientos. La aplicación de fosfito de potasio incrementa significativamente el contenido de compuestos fenólicos en plantas de rosal var. Samourai® en respuesta a la infección por *P. pannosa*.

### LITERATURA CITADA

- Anderson, M.D., Prasad, T.K. and Stewart, C.R. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology* 109: 1247-1257.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A.N., Velázquez-del Valle, M.G., Hernández-López, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E. and Wilson, C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25: 108-118.
- Ben-Shalom, N., Ardi, R., Pinto, R., Aki, C. and Fallik, E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. *Crop Protection* 22: 285-290.
- Berumen, V.G., Coronado, P.L.D., Ochoa, J.V.A., Chacón, L.M.A. y Gutiérrez, M.P. 2015. Efecto del quitosano en la inducción de resistencia contra *Colletotrichum* sp. en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguas Calientes* 66: 16-21.
- Bradford, M.A. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chen, H., Seguin, P., Archambault, A., Constan, L. and Jabaji, S. 2009. Gene expression and isoflavone concentrations in soybean sprouts treated with chitosan. *Crop Sciences* 49: 224-236.

- Chérif, M., Asselin, A. and Bélanger, R.R. 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology* 84: 236-242.
- Conti, G.G., Bassi, M., Maffi, D. and Bocci, A.M. 1986. Host-parasite relationship in a susceptible and a resistant rose cultivar inoculated with *Sphaerotheca pannosa*. II. Deposition rates of callose, lignin and phenolics in infected or wounded cells and their possible role in resistance. *Journal of Phytopathology* 117: 312-320.
- Datnof, L.E., Nell, T.A., Leonard, R.T. and Rutherford, B.A. 2006. Effect of silicon on powdery mildew development on miniature potted rose. *Phytopathology* 96: S28.
- Daughtrey, M.L. and Benson, D.M. 2005. Principles of plant health management for ornamental plants. *Annual Review of Phytopathology* 43: 141-169.
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P.S. and Hare, M.C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. *Crop Protection* 29: 1059-1075.
- Dewitte, A., Leus, L., Van Huylbroeck, J., Van Bockstaele, E. and Höfte, M.H. 2007. Characterization of reactions to powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in resistant and susceptible rose genotypes. *Journal of Phytopathology* 155: 264-272.
- Dixon, R.A. and Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Domínguez, S.D., García, V.R., Mora, H.M.E. y Salgado, S.M.L. 2016. Identificación y alternativas de manejo de la cenicilla del rosal. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 22-42.
- Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y. and Jiang, Y. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food Chemistry* 104: 571-576.
- Eshraghi, L., Anderson, J., Aryamanesh, N., Shearer, B., McComb, J., Hardy, G.E.StJ. and O'Brien, P.A. 2011. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology* 60: 1086-1095.
- Estrada, O.E. 2014. Fosfito en el metabolismo de hortalizas de hoja. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Texcoco, Estado de México. 319 p.

- Falcón-Rodríguez, A.B., Cabrera, J.C., Ortega, E. and Martínez-Téllez, M.A. 2009. Concentration and physicochemical properties of chitosan derivatives determine the induction of defense responses in roots and leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants. *American Journal of Agricultural and Biological Science* 4: 192-200.
- Faoro, F., Maffi, D., Cantu, D. and Iriti, M. 2008. Chemical-induced resistance against powdery mildew in barley: The effects of chitosan and benzothiadiazole. *Biocontrol* 53: 387-401.
- Fawe, A., Abou-Zaid, M., Menzies, J.G. and Bélanger, R.R. 1998. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401.
- Gachomo, E.W. and Kotchoni, S.O. 2008. Extract from drought-stress leaves enhances disease resistance through induction of pathogenesis related proteins and accumulation of reactive molecules. *Biotechnology* 7: 273-279.
- Guest, D. and Grant, B. 1991. The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Reviews* 66: 159-187.
- Herrera-Martínez, S.L., Mora-Herrera, M.E., García-Velasco, R., Gomora-Rasso, J. y Rogel-Millán, G. 2013. Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa de plantas de rosal. *Terra Latinoamericana* 31: 193-199.
- Horsfall, J.G. and Barratt, R.W. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 655.
- Iriti, M., Vitalini, S., Di Tommaso, G., D'Amico, S., Borgo, M. and Faoro, F. 2011. New chitosan formulation prevents grapevine powdery mildew infection and improves polyphenol content and free radical scavenging activity of grape and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17: 263-269.
- Iriti, M. and Faoro, F. 2009. Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signaling and Behavior* 4: 66-68.
- Iriti, M., Castorina, G., Vitalini, S., Mignani, I., Soave, C., Fico, G. and Faoro, F. 2010. Chitosan-induced ethylene-independent resistance does not reduce crop yield in bean plants. *Biological Control* 54: 241-247.

- Jones, L., Riaz, S., Morales-Cruz, A., Amrine, K., McGuire, B., Gubler, W.D., Walker, M.A. and Cantu, D. 2014. Adaptive genomic structural variation in the grape powdery mildew pathogen, *Erysiphe necator*. *BMC Genomics* 15: 1081.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* 44: 300-306.
- Lobato, M.C., Olivieri, F.P., González, A.E.A., Wolski, E.A., Daleo, G.R., Caldiz, D.O. and Andreu, A.B. 2008. Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. *European Journal of Plant Pathology* 122: 349-358.
- Lobato, M.C., Machinandiarena, M.F., Tambascio, C., Dosio, G.A.A., Caldiz, D.O., Daleo, G.R., Andreu, A.B. and Olivieri, F.P. 2011. Effect of foliar applications of phosphite on postharvest potato tubers. *European Journal of Plant Pathology* 130: 155-163.
- Lovatt, C.J. and Mikkelsen, R.L. 2006. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do?. *Better crops With Plant Food* 90: 11-13.
- Lucas, J.A. 1999. Plant immunisation: From myth to SAR. *Pesticide Science* 55: 193-196.
- Machinandiarena, M.F., Lobato, M.C., Feldman, M.L., Daleo, G.R. and Andreu, A.B. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 169: 1417-1424.
- Nandeeshkumar, P., Sudisha, J., Ramachandra, K.K., Prakash, H.S., Niranjana, S.R. and Shekar, S.H. 2008. Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72: 188-194.
- Pasini, C., D'Aquila, F., Curir, P. and Gullino, M.L. 1997. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. *Crop Protection* 16: 251-256.
- Pasini, C., D'Aquila, F., Amoretti, M. and Zizzo, G.V. 2007. Control of powdery mildew of roses in greenhouse conditions. *Acta Horticulturae* 751: 247-249.

- Pilbeam, R.A., Howard, K., Shearer, B.L. and Hardy, G.E.StJ. 2011. Phosphite stimulated histological responses of *Eucalyptus marginata* to infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Trees Structure and Function* 25: 1121-1131.
- Poza, E.A., Alexandre, P.A.A. and dos Santos B.D.M. 2015. Silicon in plant disease control. *Revista Ceres* 62: 323-331.
- Reuveni, M. and Reuveni, R. 1995. Efficacy of foliar application of phosphates in controlling powdery mildew fungus on field-grown winegrapes: Effects on cluster yield and peroxidase activity in berries. *Journal of Phytopathology* 143: 21-25.
- Ribeiro, J.P.M., Vilela, de R.M.L., Borges, P.R., Cavalcanti, F.R., Amaral, D.R. and de Padua, M.A. 2006. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahlia* Kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). *Ciência e Agrotecnologia* 30: 629-636.
- Scarito, G., Salamone, A. Vito Zizzo, G. and Agnello, S. 2007. Use of natural products for the control of powdery mildew of rose plants. *Acta Horticulturae* 751: 251-257.
- Shetty, N.P., Jørgensen, H.J.L., Jensen, J.D., Collinge, D.B. and Shetty, H.S. 2008. Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens. *European Journal of Plant Pathology* 121: 267-280.
- Shetty, R., Fretté, X., Jensen, B., Shetty, N.P., Jensen, J.D., Jørgensen H.J.L., Newman, M.A. and Christensen, L.P. 2011. Silicon induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology* 157: 2194-2205.
- Shetty, R., Jensen, B., Shetty, N.P., Hansen, M., Hansen, C.W., Starkey, K.R. and Jørgensen, H.J.L. 2012. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. *Plant Pathology* 61: 120-131.
- Suthaparan, A., Stensvand, A., Solhaug, K.A., Torre, S., Mortensen, L.M., Gadoury, D.M., Seem, R.C. and Gislerød, H.R. 2012. Suppression of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in greenhouse roses by brief exposure to supplemental UV-B radiation. *Plant Disease* 96: 1653-1660.

- Suthaparan, A., Stensvand, A., Torre, S., Herrero, M.L., Pettersen, R.I., Gadoury, D.M. and Gislørød, H.R. 2010. Continuous lighting reduces conidial production and germinability in the rose powdery mildew pathosystem. *Plant Disease* 94: 339-344.
- Townsend, G.R. and Heuberger, J.W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. *Plant Disease Reporter* 27: 340-343.
- Waterman, P.G. and Mole, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publication. Oxford, USA. 238 p.
- Xiao-juan, S., Yang, B.I., Yong-cai, L.I., Rui-feng, H. and Yong-hong, G.E. 2008. Postharvest chitosan treatment induces resistance in potato against *Fusarium sulphureum*. *Agricultural Sciences in China* 7: 615-621.
- Yan, Z., Dolstra, O., Prins, T.W., Stam, P. and Visser, P.B. 2006. Assessment of partial resistance to powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in a tetraploid rose population using a spore-suspension inoculation method. *European Journal of Plant Pathology* 114: 301-308.
- Yáñez, J.M.G., León, R.J.F., Godoy, A.T.P., Gastélum, L.R., López, M.M., Cruz, O.J.E. y Cervantes, D.L. 2012. Alternativas para el control de la cenicilla (*Oidium* sp.) en pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 259-270.
- Zhang, D. and Quantick, P. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 12: 195-202.

## VIII. DISCUSIÓN GENERAL

La *Rosa* spp. es una de las especies ornamentales de mayor importancia económica a nivel mundial. Pero es afectada por diversas enfermedades fungosas, de las cuales destaca la cenicilla, una de las enfermedades más importantes y destructivas a nivel mundial (Scarito *et al.*, 2007; Suthaparan *et al.*, 2012). De acuerdo con Suthaparan *et al.* (2010), esta enfermedad ocasiona pérdidas económicas significativas en la productividad, calidad y por ende en la comercialización.

En la presente investigación se identificó a *Podosphaera pannosa* (Wallr. Fr.) de Bary como el agente causal de la cenicilla del rosal, las características morfométricas fueron similares a las reportadas por Braun y Cook (2012). Esta identificación morfométrica se corroboró mediante la caracterización molecular con los primers ITS1F e ITS4 que amplificaron un producto de 574 pb que correspondió a *P. pannosa*. Así mismo, en otros estudios se utilizaron estos primers para la identificación y detección de *P. pannosa* en el cultivo de *Rosa* spp. (Leus *et al.*, 2006; Félix-Gastélum *et al.*, 2014) y *Catharanthus roseus* (L) G. Don (Romberg *et al.*, 2014).

Por otra parte, la aplicación de los inductores silicio, fosfito de potasio y quitosano redujeron significativamente la incidencia y severidad de la cenicilla en plantas de rosal var. Samourai® en condiciones de invernadero. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores con la aplicación de silicio (Datnoff *et al.*, 2006; Shetty *et al.*, 2012), fosfito de potasio (Chavarro-Carrero *et al.*, 2012) y quitosano (Wojdyla, 2001) en plantas de *Rosa* spp. Sin embargo, solo el tratamiento con quitosano incrementó la longitud y diámetro de tallo y de botón floral en relación con el silicio y fosfito de potasio. Al respecto, la aplicación de silicio indujo una reducción sobre la longitud y diámetro de los tallos y del botón floral, en relación con el testigo, lo cual puede estar relacionado con la dosis de aplicación, tal como lo reportan algunos autores (Kamenidou *et al.*, 2008; Reezi *et al.*, 2009; Kamenidou *et al.*, 2010). Similarmente, la aplicación de fosfito de potasio redujo la longitud y diámetro de tallos y de botón floral, lo cual pudo estar asociado a la concentración utilizada, puesto que existe evidencia que a altas concentraciones de fosfitos se induce fitotoxicidad, lo cual

afecta el rendimiento de las plantas, tal como lo reportan Lovatt y Mikkelsen (2006) y Yáñez *et al.* (2012).

En la presente investigación las plantas de rosal tratadas con silicio resultaron en un incremento de la actividad enzimática de la POX (30 ddi) en respuesta a la infección del biótrofo *P. pannosa*. Resultados similares fueron reportados en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) después de la infección con *Phytophthora* spp. (Chérif *et al.* 1994). Igualmente, la aplicación de fosfito de potasio a dosis de 2 mL L<sup>-1</sup> incrementó significativamente la actividad enzimática de la POX en relación con el testigo, mientras que en la actividad enzimática de la PFO no se observaron cambios. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ribeiro *et al.* (2006) quienes observaron que la aplicación de fosfito de potasio a dosis de 1.25 mL L<sup>-1</sup> incrementó ligeramente la actividad enzimática de la POX, pero no indujo un incremento significativo en la actividad enzimática de la PFO en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.), esto a la infección de *Verticillium dahliae* Kleb. Con respecto al quitosano, además de la actividad antifúngica que presenta, también tiene el potencial para inducir enzimas relacionadas con la defensa de las plantas (Bautista-Baños *et al.*, 2006). En el presente estudio se observó que a los 30 ddi, la actividad enzimática de la POX en plantas de rosal tratadas con quitosano se incrementó significativamente, con respecto al testigo, mientras que en la actividad enzimática de la PFO no observaron cambios. Ben-Shalom *et al.* (2003) demostraron que la actividad enzimática de la POX fue inducida mediante la aplicación de quitosano en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) resultando un aumento en la resistencia contra *B. cinerea*. En frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) incrementó significativamente ambas actividades enzimáticas (POX y PFO) a la infección de *Botrytis cinerea* Pers. y *Penicillium expansum* Link (Liu *et al.*, 2007). Dichos autores mencionan que las respuestas de defensa del quitosano pueden estar asociadas con su grado de polimerización y acetilación, así como, en las especies de plantas.

Por otra parte, las plantas tratadas con silicio mostraron un incremento no significativo en el contenido de compuestos fenólicos totales a los 8 dai, esto con respecto al testigo. No obstante, algunos reportes indican que los mecanismos de resistencia asociados con el silicio incluyen el incremento de estos compuestos (Chérif



*et al.*, 1994; Poza *et al.*, 2015). Al respecto, se reportó que la aplicación de 3.6 mmol L<sup>-1</sup> de silicio en rosal variedad Smart incrementó la concentración de ácidos fenólicos y flavonoides en respuesta a la infección de *P. pannosa*. Al mismo tiempo, se observó la expresión de genes que codifican enzimas clave en la ruta de los fenilpropanoides. Los autores discuten que el modo de acción del silicio en el control de las enfermedades del rosal es por la acción de compuesto fenólicos antifúngicos (Shetty *et al.*, 2011). Por otra parte, a los 30 ddi, se observó un incremento significativo en el contenido de compuestos fenólicos en las plantas de rosal tratadas con fosfito de potasio. Algunos reportes demuestran que la aplicación de fosfitos incrementan el contenido de compuestos fenólicos en plantas de *Eucalyptus marginata* (jarrah) (Jackson *et al.*, 2000) y en plántulas de *Xanthorrhoea australis* (Daniel *et al.*, 2005) en respuesta a la infección de *Phytophthora cinnamomi* (Rands). Por su parte, Lobato *et al.* (2011) reportaron que el tratamiento con fosfito de potasio resultó en una acumulación de fitoalexinas en respuesta a la infección de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). Estos resultados corroboran que la aplicación de fosfitos incrementa el contenido de compuestos fenólicos, tal como se observó en el presente estudio.

## IX. CONCLUSIONES GENERALES

La cenicilla del rosal es una de las enfermedades más importantes a nivel mundial tanto en rosales cultivados a cielo abierto como bajo invernadero, dicha enfermedad es una de las principales causas de pérdida económica en el cultivo.

La caracterización morfométrica y molecular, confirmaron que *Podosphaera pannosa* (Wallr.: Fr) de Bary es el agente asociado con la cenicilla del rosal en el municipio de Tenancingo, Estado de México.

Las aplicaciones con silicio, fosfito de potasio y quitosano reducen la incidencia y severidad de *Podosphaera pannosa*, por lo que se consideran alternativas viables que pueden ser incorporadas en el manejo integrado de esta enfermedad.

El quitosano puede ser una alternativa en el manejo del cultivo de rosal puesto que tiene efectos positivos sobre la longitud y diámetro del tallo y botón floral.

El fungicida acetato de dodemorf a dosis de 2 mL L<sup>-1</sup> mostró un excelente potencial para el control de *P. pannosa* y buena selectividad en el cultivo.

Las respuestas de defensa del silicio, quitosano y fosfito de potasio están asociadas con el incremento en la actividad enzimática de la POX y el contenido de compuestos fenólicos totales en respuesta a la infección por *Podosphaera pannosa*.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. New York, USA. 922 p.
- Ah Chee, A., Wurms, K.V. and George, M. 2011. Control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) on rose (*Rosa* L. sp.) using anhydrous milk fat and soybean oil emulsions. *New Zealand Plant Protection* 64: 195-200.
- Ahmad, I., Dole, J.M., Khan, M.A., Qasim, M., Ahmad, T. and Khan, A.S. 2010. Present status and future prospects of cut rose production in Punjab, Pakistan. *HortTechnology* 20: 1010-1015.
- Ait Barka, E., Eullaffroy, P., Clément, C. and Vernet, G. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports* 22: 608-614.
- Amiri, A. and Bompeix, G. 2011. Control of *Penicillium expansum* with potassium phosphite and heat treatment. *Crop Protection* 30: 222-227.
- Ayala-Escobar, V., Madariaga-Navarrete, A., Castañeda-Vildozola, A., Santiago-Santiago, V. y Nava-Díaz, C. 2014. Etiología de la mancha foliar en *Rosa* sp. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32: S72.
- Badawy, M.E.I. and Rabea, E.I. 2011. A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry* 1-29.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A.N., Velázquez-del Valle, M.G., Hernández-López, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E. and Wilson, C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25: 108-118.
- Bautista-Baños, S., Hernández-López, M. and Bosquez-Molina, E. 2004. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22: 178-186.
- Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E. and Wilson, C.L. 2003. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum*

- gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection* 22: 1087-1092.
- Bélanger, R.R., Benhamou, N. and Menzies, J.G. 2003. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*). *Phytopathology* 93: 402-412.
- Bélanger, R.R., Labbé, C. and Jarvis, W.R. 1994. Commercial-scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. *Plant Disease* 78: 420-424.
- Bender, C.L. and Coyier, D.L. 1985. Heterothallism in *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. *Transactions of the British Mycological Society* 84: 647-652.
- Ben-Shalom, N., Ardi, R., Pinto, R., Aki, C. and Fallik, E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. *Crop Protection* 22: 285-290.
- Bergougnoux, V., Caissard, J.C., Jullien, F., Magnard, J.L., Scalliet, G., Cock, J.M., Hugueney, P. and Baudino, S. 2007. Both the adaxial and abaxial epidermal layers of the rose petal emit volatile scent compounds. *Planta* 226: 853-866.
- Borkowski, J. and Szwonek, E. 2004. Powdery mildew control on greenhouse tomatoes by chitosan and other selected substances. *Acta Horticulturae* 633: 435-438.
- Botta, A., Sierras, N., Marín, C., Carrión, M. and Piñol, R. 2011. Powdery mildew protection with Armurox: An improved strategy for silicon application. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 1: 1032-1039.
- Braun, U. 1987. A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). Schweizerbart Science Publishers. Stuttgart, Germany. 700 p.
- Braun, U. and Cook, R.T.A. 2012. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Utrecht, The Netherlands. 707 p.
- Braun, U. and Takamatsu, S. 2000. Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula*, (Erysipheae) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (Cystothecaceae) inferred from rDNA ITS sequences-some taxonomic consequences. *Schlechtendalia* 4: 1-33.
- Cairns, T. 2000. Modern Roses XI: The world encyclopedia of roses. Academic Press. San Diego, USA. 638 p.

- Chavarro-Carrero, E.A., García-Velasco, R., González-Díaz, J.G., González-Cepeda, L.E. y Jiménez-Ávila, L.J. 2012. Uso del fosfio de potasio para el manejo de *Peronospora sparsa* Berkeley en *Rosa* spp. Fitopatología Colombiana 36: 53-56.
- Cheah, L.H., Page, B.B.C. and Shepherd, R. 1997. Chitosan coating for inhibition of sclerotinia rot of carrots. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 25: 89-92.
- Chérif, M., Asselin, A. and Bélanger, R.R. 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. Phytopathology 84: 236-242.
- Coyier, D.L. 1983. Control of rose powdery mildew in the greenhouse and field. Plant Disease 67: 919-923.
- Daayf, F., Schmitt, A. and Bélanger, R.R. 1995. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long english cucumber. Plant Disease 79: 577-580.
- Daniel, R., Wilson, B.A. and Cahill, D.M. 2005. Potassium phosphonate alters the defence response of *Xanthorrhoea australis* following infection by *Phytophthora cinnamomi*. Australasian Plant Pathology 34: 541-548.
- Datnoff, L.E., Nell, T.A., Leonard, R.T. and Rutherford, B.A. 2006. Effect of silicon on powdery mildew development on miniature potted rose. Phytopathology 96: S28.
- Daughtrey, M.L. and Benson, D.M. 2005. Principles of plant health management for ornamental plants. Annual Review of Phytopathology 43: 141-169.
- Debener, T. and Byrne, D.H. 2014. Disease resistance breeding in rose: Current status and potential of biotechnological tools. Plant Science 228: 107-117.
- Debener, Th. and Linde, M. 2009. Exploring complex ornamental genomes: The rose as a model plant. Critical Reviews in Plant Sciences 28: 267-280.
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P.S. and Hare, M.C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. Crop Protection 29: 1059-1075.
- Di Mateo, A., Federici, L., Mattei, B., Salvi, G., Johnson, K.A., Savino, C., De Lorenzo, G., Tsernoglou, D. and Cervone, F. 2003. The crystal structure of polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP), a leucine-rich repeat protein

- involved in plant defense. Proceedings of the National Academy of Sciences 100: 10124-10128.
- Du, J., Gemma, H. and Iwahori, S. 1998. Effects of chitosan coating on the storability and on the ultrastructural changes of “Jonagold” apple fruit in storage. Food Preservation Science 24: 23-29.
- Eken, C. 2005. A review of biological control of rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) by fungal antagonists. Acta Horticulturae 690: 193-196.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Grenier, J. and Asselin, A. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Phytopathology 82: 398-402.
- Elmhirst, J.F., Haselhan, C. and Punja, Z.K. 2011. Evaluation of biological control agents for control of botrytis blight of geranium and powdery mildew of rose. Canadian Journal of Plant Pathology 33: 499-505.
- Epstein, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Sciences 91: 11-17.
- Eshraghi, L., Anderson, J., Aryamanesh, N., Shearer, B., McComb, J., Hardy, G.E.StJ. and O'Brien, P.A. 2011. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathology 60: 1086-1095.
- Faoro, F., Maffi, D., Cantu, D. and Iriti, M. 2008. Chemical-induced resistance against powdery mildew in barley: The effects of chitosan and benzothiadiazole. Biocontrol 53: 387-401.
- Fauteux, F., Rémus-Borel, W., Menzies, J.G. and Bélanger, R.R. 2005. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. FEMS Microbiology Letters 249: 1-6.
- Félix-Gastélum, R., Herrera-Rodríguez, G., Martínez-Valenzuela, C., Maldonado-Mendoza, I.E., Quiroz-Figueroa, F.R., Brito-Vega, H. and Espinoza-Matías, S. 2014. First report of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) of roses in Sinaloa, México. Plant Disease 98: 1442.
- Grant, W.A. 2001. Botanica's pocket roses. Whitecap Books. Vancouver, Canada. 1007 p.

- Gudin, S. 2000. Rose: Genetics and breeding. Pp: 159-189. *In*: Janick, J. (ed.). Plant Breeding Reviews Vol. 17. John Wiley. New York, USA. 352 p.
- Guével, M.H., Menzies, J.G. and Bélanger, R.R. 2007. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. *European Journal of Plant Pathology* 119: 429-436.
- Guoliang, W. 2003. Ancient Chinese roses. Pp: 389-395. *In*: Roberts, A.V., Debener, T. and Gudin S. (eds.). *Encyclopedia of rose science*. Elsevier Academic Press. Amsterdam. 1450 p.
- Hagiladi, A. and Ziv, O. 1986. Use of antitranspirants for control of powdery mildew on field grown roses. *Journal of Environmental Horticulture* 4: 65-68.
- Hajlaoui, M.R. and Bélanger, R.R. 1991. Comparative effects of temperature and humidity on the activity of three potential antagonists of rose powdery mildew. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 97: 203-208.
- Havrylenko, M. 1995. Erysiphaceous species from Nahuel Huapi National Park, Argentina. Part I. *New Zealand Journal of Botany* 33: 389-400.
- Heckman, J.R., Johnston, S. and Cowgill, W. 2003. Pumpkin yield and disease response to amending soil with silicon. *HortScience* 38: 552-554.
- Hernández-Lauzardo, A.N., Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M.G., Rodríguez-Ambríz, S.L., Corona-Rangel, M.L., Solano-Navarro, A. y Bosquez-Molina, E. 2005. Potencial del quitosano en el control de las enfermedades postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23: 198-205.
- Hollomon, D.W. and Wheeler, I.E. 2002. Controlling powdery mildews with chemistry. Pp: 249-255. *In*: Bélanger, R.R., Bushnell, W.R., Dik, A.J. and Timothy, L.W. (eds.). *The Powdery mildews: A comprehensive treatise*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 292 p.
- Homma, Y. 1937. *Erysiphaceae* of Japan. *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University* 38: 183-461.
- Horst, R.K. and Cloyd, R.A. 2007. *Compendium of rose diseases and pests*. Second Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 96 p.

- Horst, R.K., Kawamoto, S.O. and Porter, L.L. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Disease* 76: 247-251.
- Hummer, K.E. and Janick, J. 2009. Rosaceae: Taxonomy, economic importance, genomics. Pp: 1-17. *In*: Folta, K.M. and Gardiner, S.E. (eds.). *Genetics and genomics of rosaceae*. Springer Science. New York, USA. 636 p.
- Iriti, M., Vitalini, S., Di Tommaso, G., D'Amico, S., Borgo, M. and Faoro, F. 2011. New chitosan formulation prevents grapevine powdery mildew infection and improves polyphenol content and free radical scavenging activity of grape and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17: 263-269.
- Iriti, M. and Faoro, F. 2009. Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signalling and Behaviour* 4: 66-68.
- Jackson, T.J., Burgess, T., Colquhoun, I. and Hardy, G.E.StJ. 2000. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology* 49: 147-154.
- Janick, J. 2005. The origins of fruits, fruits growing, and fruit breeding. Pp: 255-321. *In*: Janick, J. (ed.). *Plant Breeding Reviews* Vol. 25. John Wiley & Sons, Inc. Oxford, USA. 354 p.
- Joly, S., Starr, J.R., Lewis, W.H. and Bruneau, A. 2006. Polyploid and hybrid evolution in roses east of the Rocky Mountains. *American Journal of Botany* 93: 412-425.
- Kamenidou, S., Cavins, T.J. and Marek, S. 2008. Silicon supplements affect horticultural traits of greenhouse-produced ornamental sunflowers. *HortScience* 43: 236-239.
- Kamenidou, S., Cavins, T.J. and Marek, S. 2010. Silicon supplements affect floricultural quality traits and elemental nutrient concentrations of greenhouse produced gerbera. *Scientia Horticulturae* 123: 390-394.
- Kaminidou, S. 2005. Soluble silicon-based disease management of floricultural crops. Ph.D. Thesis. Oklahoma State University. Stillwater, Oklahoma. 100 p.
- Kashimoto, K., Matsuda, Y., Matsutani, K., Sameshima, T., Kakutani, K., Nonomura, T., Okada, K., Kusakari, S.I., Nakata, K., Takamatsu, S. and Toyoda, H. 2003. Morphological and molecular characterization for a Japanese isolate of tomato



- powdery mildew *Oidium neolycopersici* and its host range. *Journal of General Plant Pathology* 69: 176-185.
- Kim, S.W., Oh, S.C., In, D.S. and Liu, J.R. 2003. Plant regeneration of rose (*Rosa hybridia*) from embryogenic cell-derived protoplasts. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73: 15-19.
- King, M., Reeve, W., Van der Hoek, M.B., Williams, N., McComb, J., O'Brien, P.A. and Hardy, G.E.StJ. 2010. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Genetics and Genomics* 284: 425-435.
- Koopman, W.J.M., Wissemann, V., De Cock, K., Van Huylenbroeck, J., De Riek, J., Sabatino, G.J.H., Visser, D., Vosman, B., Ritz, C.M., Maes, B., Werlemark, G., Nybom, H., Debener, T., Linde, M. and Smulders, M.J.M. 2008. AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: A case study in *Rosa* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 95: 353-366.
- Kumar, R.A., Vasu, K., Velayudhan, K.T., Ramachandran, V., Suseela Bhai, R. and Unnikrishnan, G. 2009. Translocations and distribution of 32 P labeled potassium phosphonate in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Crop Protection* 28: 878-881.
- Lediuk, K.D., Lorenzo, L. y Damascos, M.A. 2010. Primer registro de *Podosphaera pannosa* (Ascomycota) sobre *Rosa canina* en Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 45: 231-233.
- Lee, S.H., Han, K.S., Park, J.H. and Shin, H.D. 2011. Occurrence of *Podosphaera pannosa* teleomorph on *Rosa rugosa* from Korea. *The Plant Pathology Journal* 27: 398.
- Leus, L. 2005. Resistance breeding for powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) and black spot (*Diplocarpon rosae*) in roses. Ph.D. Thesis. Ghent University. Ghent, Belgium. 148 p.
- Leus, L., Dewitte, A., Van Huylenbroeck, J., Vanhoutte, N., Van Bockstaele, E. and Höfte, M. 2006. *Podosphaera pannosa* (syn. *Sphaerotheca pannosa*) on *Rosa* and *Prunus* spp.: Characterization of pathotypes by differential plant reactions and ITS sequences. *Journal of Phytopathology* 154: 23-28.

- Li, H. and Yu, T. 2001. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 269-274.
- Liang, Y.C., Sun, W.C, Si, J. and Römheld, V. 2005. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. *Plant Pathology* 54: 678-685.
- Linde, M. and Debener, Th. 2003. Isolation and identification of eight races of powdery mildew of roses (*Podosphaera pannosa*) (Wallr.: Fr.) de Bary and the genetic analysis of the resistance gene *Rpp1*. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 256-262.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* 44: 300-306.
- Lobato, M.C., Machinandiarena, M.F., Tambascio, C., Dosio, G.A.A., Caldiz, D.O., Daleo, G.R., Andreu, A.B. and Olivieri, F.P. 2011. Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *European Journal of Plant Pathology* 130: 155-163.
- Locke, J.C., Widrig, A., Omer, M., Widrig, A.K. and Krause, C.R. 2006. Delay of expression of powdery mildew on zinnia grown hydroponically in Hoagland's solution fortified with silicon. *Phytopathology* 96: S70.
- Longrée, K. 1939. The effect of temperature and relative humidity on powdery mildew of roses. Cornell University. New York, USA. 43 p.
- Lovatt, C.J. and Mikkelsen, R.L. 2006. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do?. *Better crops With Plant Food* 90: 11-13.
- Ma, J.F. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science and Plant Nutrition* 50: 11-18.
- Ma, J.F. and Takahashi, E. 2002. Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan. Elsevier Science. Amsterdam. 294 p.
- Ma, J.F. and Yamaji, N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science* 11: 392-397.

- Machinandiarena, M., Lobato, M., Feldman, M., Daleo, G. and Andreu, A. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 169: 1417-1424.
- McDonald, A.E., Grant, B.R. and Plaxton, W.C. 2001. Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *Journal of Plant Nutrition* 24: 1505-1519.
- McGrath, M.T. 2004. What are fungicides?. The plant health instructor. The American Phytopathological Society. Disponible en: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/fungicides.aspx> (consultado en enero de 2016).
- Menzies, J.G., Ehret, D.L., Glass, A.D.M., Helmer, T., Koch, C. and Seywerd, F. 1991. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology* 81: 84-88.
- Moreno, A., Cartaya, O., González-Peña, D., Reynaldo, I. and Ramírez, M.A. 2012. Metodología factible para la obtención de quitosano con fines agrícolas. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 13: 69-76.
- Moret, A., Muñoz, Z. and Garcés, S. 2009. Control of powdery mildew on cucumber cotyledons by chitosan. *Journal of Plant Pathology* 91: 375-380.
- NCBI. National Center for Biotechnology Information. 2016. Taxonomy browser. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (consultado en enero de 2016).
- Newman, S.E., Roll, M.J. and Harkrader, R.J. 1999. A naturally occurring compound for controlling powdery mildew of greenhouse roses. *HortScience* 34: 686-689.
- Ng, K.K., McDonald, L. and Punja, Z.K. 1997. Biological control of rose powdery mildew with the antagonist yeast *Tilletiopsis pallescens*. *HortScience* 32: 262-266.
- Nybom, H. 2009. Introduction to rosa. Pp: 339-351. *In*: Folta, K.M. and Gardiner, S.E. (eds.): *Genetics and Genomics of Rosaceae* Vol. 6. Springer. New York, USA. 636 p.
- Olivieri, F.P., Feldman, M.L., Machinandiarena, M.F., Lobato, M.C., Caldiz, D.O., Daleo, G.R. and Andreu, A.B. 2012. Phosphite applications induce molecular

- modifications in potato tuber periderm and cortex that enhance resistance to pathogens. *Crop Protection* 32: 1-6.
- Olsson, A., Nybom, H. and Prentice, H.C. 2000. Relationships between Nordic Dogroses (*Rosa L. sect. Caninae*, Rosaceae) assessed by RAPDs and elliptic fourier analysis of leaflet shape. *Systematic Botany* 25: 511-521.
- Pasini, C., D'Aquila, F., Curir, P. and Gullino, M.L. 1997. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa var. rosae*) in glasshouses. *Crop Protection* 16: 251-256.
- Passini, C., D'Aquila, F., Amoretti, M. and Zizzo, G.V. 2007. Control of powdery mildew of roses in greenhouse conditions. *Acta Horticulturae* 751: 247-249.
- Pemberton, H.B., Kelly, J.W. and Ferare, J. 2003. Pot rose production. Pp: 587-593. *In: Roberts, A.V., Debener, T. and Gudín S. (eds.). Encyclopedia of rose science.* Elsevier Academic Press. Oxford, USA. 1450 p.
- Perera, R.G. and Wheeler, B.E.J. 1975. Effect of water droplets on the development of *Sphaerotheca pannosa* on rose leaves. *Transactions of the British Mycological Society* 64: 313-319.
- Philipp, W.D., Beuther, E., Hermann, D., Klinkert, F., Oberwalder, C., Schmidtke, M. and Straub, B. 1990. Formulation of the powdery mildew hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* Ces. *Journal of plant diseases and protection* 97: 120-132.
- Pilbeam, R.A., Howard, K., Shearer, B.L. and Hardy, G.E.StJ. 2011. Phosphite stimulated histological responses of *Eucalyptus marginata* to infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Trees* 25: 1121-1131.
- Pillai, C.K.S., Paul, W. and Sharma, C.P. 2009. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science* 34: 641-678.
- Pizano de Márquez, M. 2003. Cultivo moderno de la rosa bajo invernadero: Investigación vegetal aplicada. Hortitecnia. Bogotá, Colombia. 203 p.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh, S., Smedmark, J.E.E., Morgan, D.R., Kerr, M., Robertson, K.R., Arsenault, M., Dickinson, T.A. and Campbell, C.S. 2007.

- Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution* 266: 5-43.
- Poza, E.A., Alexandre, P.A.A. and dos Santos, B.D.M. 2015. Silicon in plant disease control. *Revista Ceres* 62: 323-331.
- Price, T.V. 1970. Epidemiology and control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) on roses. *Annals of Applied Biology* 65: 231-248.
- Ranković, B. and Čomić, L. 1997. Contribution to the knowledge of fungi of the genus *Sphaerotheca* in Yugoslavia. *Mycotaxon* 63: 301-305.
- Rebollar-Alviter, A., Silva-Rojas, H.V., López-Cruz, I., Boyzo-Marín, J. and Ellis, M.A. 2012. Fungicide sprays programs to manage downy mildew (dryberry) of blackberry caused by *Peronospora sparsa*. *Crop Protection* 42: 49-55.
- Rebollar-Alviter, A., Wilson, L.L., Madden, L.V. and Ellis, M.A. 2010. A comparative evaluation of post-infection efficacy of mefenoxam and potassium phosphite with protectant efficacy of azoxystrobin and potassium phosphite for controlling leather rot of strawberry caused by *Phytophthora cactorum*. *Crop Protection* 29: 349-353.
- Reezi, S., Babalar, M. and Kalantari, S. 2009. Silicon alleviates salt stress, decreases malondialdehyde content and affects petal color of salts-tressed cut rose (*Rosa x hybrida* L.) 'Hot Lady'. *African Journal of Biotechnology* 8: 1502-1508.
- Rehder, A. 1940. *Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America*. MacMillan, New York, USA. 996 p.
- Ribeiro, J.P.M., Vilela, deR.M.L., Borges, P.R., Cavalcanti, F.R., Amaral, D.R. and de Padua, M.A, 2006. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahlia* Kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). *Ciência e Agrotecnologia* 30: 629-636.
- Robert, V., Stegehuis, G. and Stalpers, J. 2005. The MycoBank engine and related databases. Disponible en: <http://www.mycobank.org> (consultado en enero de 2016).
- Romberg, M.K., Kennedy, A.H. and Ko, M. 2014. First report of the powdery mildews *Leveillula taurica* and *Podosphaera pannosa* on rose periwinkle in the United States. *Plant Disease* 98: 848.

- Rusanov, K., Kovacheva, N., Stefanova, K., Atanassov, A. and Atanassov, I. 2009. *Rosa damascene*-genetic resources and capacity building for molecular breeding. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23: 1436-1439.
- Salamanca-Carvajal, M. y Alvarado-Gaona, A. 2012. Efecto de la proteína harpin y el fosfito de potasio en el control del mildew polvoso (*Erysiphe polygoni* D.C.) en tomate, en Sutamarchán (Boyacá). *Ciencia y Agricultura* 9:65-75.
- Sandford, P. 1989. Chitosan: Commercial uses and potential applications. Pp. 51-69. *In: Skjak-Braek, G., Anthosen, T. and Standford, P.A. (eds.). Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. Elsevier Applied Science. New York, USA. 835 p.*
- Scarito, G., Salamone, A., Vito Zizzo, G. and Agnello, S. 2007. Use of natural products for the control of powdery mildew of rose plants. *Acta Horticulturae* 751: 251-257.
- Shetty, R., Fretté, X., Jensen, B., Shetty, N.P., Jensen, J.D., Jørgensen H.J.L., Newman, M.A. and Christensen, L.P. 2011. Silicon induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology* 157: 2194-2205.
- Shetty, R., Jensen, B., Shetty, N.P., Hansen, M., Hansen, C.W., Starkey, K.R. and Jørgensen, H.J.L. 2012. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. *Plant Pathology* 61: 120-131.
- Shin, H.D. 1999. Teleomorph of *Sphaerotheca pannosa* on Durian Rose in Korea. *Mycotaxon* 72: 1-5.
- Short, K.C. and Roberts, A.V. 1991. *Rosa* spp. (Roses): In vitro culture, micropropagation, and the production of secondary products. Pp: 376-397. *In: Bajaj, Y.P.S (ed.). Biotechnology in agriculture and forestry: Medicinal and aromatic plants III, vol. 15. Springer-Verlag. New York, USA. 502 p.*
- SIAP, (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2016. Cierre de la producción agrícola. Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper) (consultado en enero de 2016).

- Simpson, B. and Orgorzaly, M. 2001. Economic botany: Plants in our world 3<sup>rd</sup> Edition. McGraw-Hill. New York, USA. 529 p.
- Sivapalan, A. 1993. Effects of water on germination of powdery mildew conidia. *Mycological Research* 97: 71-76.
- Song, Y., Babiker, E.E., Usui, M., Saito, A. and Kato, A. 2002. Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan-lysozyme conjugates. *Food Research International* 35: 459-466.
- Suthaparan, A., Stensvand, A., Solhaug, K.A., Torre, S., Mortensen, L.M., Gadoury, D.M., Seem, R.C. and Gislerød, H.R. 2012. Suppression of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in greenhouse roses by brief exposure to supplemental UV-B radiation. *Plant Disease* 96: 1653-1660.
- Suthaparan, A., Stensvand, A., Torre, S., Herrero, M.L., Pettersen, R.I., Gadoury, D. M. and Gislerød, H.R. 2010. Continuous lighting reduces conidial production and germinability in the rose powdery mildew pathosystem. *Plant Disease* 94: 339-344.
- Terry, L.A. and Joyce, D.C. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. *Postharvest Biology and Technology* 32: 1-13.
- Tjosvold, S.A. and Koike, S.T. 2001. Evaluation of reduced risk and other biorational fungicides on the control of powdery mildew on greenhouse roses. *Acta Horticulturae* 547: 59-70.
- Tlapal, B.B. y Mendoza, Z.C. 2002. Enfermedades de origen fungoso en ornamentales. Pp. 97-118. *In*: Bautista, M.N., Alvarado, L.J., Chavarín, P.J.C. y Sánchez, A.H. (eds.). Manejo fitosanitario de ornamentales. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 237 p.
- Toppe, B., Stensvand, A., Herrero, M.L. and Gislerød, H.R. 2007. C-Pro (grapefruit seed extract) as supplement or replacement against rose- and cucumber powdery mildew. *Acta Agriculturae Scandinavica, Soil and Plant Science* 57: 105-110.
- Verhaar, M.A., Keressies, A. and Hijwegen, T. 1999. Effect of RH on mycoparasitism of rose powdery mildew with and without treatments with mycoparasites. *Journal of Plant Diseases and Protection* 106: 158-165.

- Voogt, W. and Sonneveld, C. 2001. Silicon in horticultural crops grown in soilless culture. Pp: 115-131. *In: Silicon in agriculture*. Datnoff, L.E., Snyder, G.H. and Korndörfer, G.H. (eds.). Elsevier Science. Amsterdam, Netherlands. 403 p.
- Watkins, J.E. 1990. G90-979 Powdery mildew of roses. Disponible en: <http://digitalcommons.unl.edu/extensionhist/1259/> (consultado en enero de 2016).
- Whitaker, V.M. and Hokanson, S.C. 2009. Breeding roses for disease resistance. Pp: 277-324. *In: Plant breeding reviews*. Vol. 31. Janick, J. (ed.). Board. New York, USA. 414 p.
- Widrechner, M.P. 1981. History and utilization of *Rosa damascena*. *Economic Botany* 35: 42-58.
- Wilkinson, C.J., Shearer, B.L., Jackson, T.J. and Hardy, G.E.StJ. 2001. Variation in sensitivity of western Australian isolates of *Phytophthora cinnamomi* to phosphite *in vitro*. *Plant Pathology* 50: 83-9.
- Wissemann, V. 2003. Conventional taxonomy (wild roses). Pp: 11-117. *In: Roberts, A.V., Debener, T. and Gudin S. (eds.). Encyclopedia of rose science*, Elsevier Academic Press, Oxford. 1450 p.
- Wissemann, V. and Ritz, C.M. 2005. The genus *Rosa* (Rosoideae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and *atpB-rbcL* intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 147: 275-290.
- Wojdyla, A.T. 2001. Grapefruit extract activity in the control of rose powdery mildew and black spot. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet* 66: 167-177.
- Xu, X.M. 1999. Effects of temperature on the length of the incubation period of rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*). *European Journal of Plant Pathology* 105: 13-21.
- Yan, Z., Dolstra, O., Prins, T.W., Stam, P. and Visser, P.B. 2006. Assessment of partial resistance to powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in a tetraploid rose population using a spore-suspension inoculation method. *European Journal of Plant Pathology* 114: 301-308.



- Yáñez, J.M.G., León, R.J.F., Godoy, A.T.P., Gastélum, L.R., López, M.M., Cruz, O.J.E. y Cervantes, D.L. 2012. Alternativas para el control de la cenicilla (*Oidium* sp.) en pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 259-270.
- Yarwood, C.E. 1939. Control of powdery mildews with a water spray. *Phytopathology* 29: 288-290.
- Yarwood, C.E. 1943. Association of thrips with powdery mildew. *Mycologia* 32: 189-191.
- Yong, A. 2004. El cultivo del rosal y su propagación. *Cultivos tropicales* 25: 53-67.
- Yu, T., Li, H.Y. and Zheng, X.D. 2007. Synergistic effect of chitosan and *Cryptococcus laurentii* on inhibition of *Penicillium expansum* infections. *International Journal of Food Microbiology* 114: 261-266.
- Zhang, H., Li, R. and Liu, W. 2011. Effects of chitin and its derivative chitosan on postharvest decay of fruits: A review. *International Journal of Molecular Sciences* 12: 917-934.
- Ziv, O. and Zitter, T.A. 1992. Effects of bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. *Plant Disease* 6: 513-517.
- Zlesak, D.C. 2006. *Rose: Rosa x hybrid*. Pp: 695-738. *In*: Anderson, N.O. (ed.). *Flower Breeding and Genetics*. Springer, Minnesota, USA. 824 p.