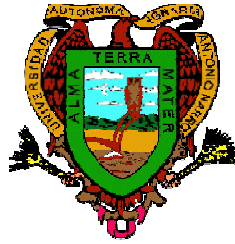


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIVISION DE AGRONOMIA



**Uso de *Bacillus amyloliquefaciens* como Control Biológico para
Cenicilla Polvorienta del Rosal *Sphaerotheca pannosa***

Por:

ARGELIA GUILLERMINA TORRES URBANO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo en Horticultura

Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Diciembre 2008

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISION DE AGRONOMIA

Uso de *Bacillus amyloliquefaciens* como Control Biológico para Cenicilla
Polvorienta del Rosal *Sphaerotheca pannosa*

TESIS


POR:

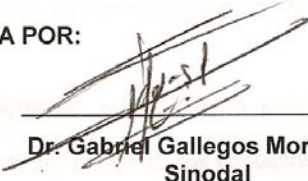
ARGELIA GUILLERMINA TORRES URBANO

Que somete a consideración del H. jurado examinador como requisito
Parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

APROBADA POR:


MC. Leobardo Bañuelos Herrera
Presidente


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Sinodal


M.C. Blanca Elizabeth Zamora Martínez
Sinodal


M.C. Alfonso Rojas Duarte
Sinodal


Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"



División de Agronomía
Coordinación,

Diciembre 2008

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por guiarme por el noble camino de la Agronomía, y darme la oportunidad de cumplir una meta más.

A MIS PADRES por ser un ejemplo, por el apoyo que me han brindado, por sus consejos, tiempo y por la motivación que me dan para seguir adelante y no rendirme ante nada, Gracias.

A MIS HERMANAS por compartir conmigo tantos momentos, por sus consejos y motivación para concluir una más de mis metas.

A MI ALMA MATER por el aprendizaje que me dio, por la oportunidad que me brindo de concluir mi carrera, y por todos los momentos que en ella viví.

AI M.C. LEOBARDO BAÑUELOS HERRERA, por su valiosa amistad, y apoyo durante el transcurso de mi carrera, por compartir sus conocimientos, ayudarnos y motivarnos a seguir adelante, así como por la oportunidad para realizar este trabajo de tesis.

A LA M.C. BLANCA ELIZABETH ZAMORA por su amistad y la confianza, así como por la ayuda en la realización de este trabajo de investigación.

AI M.C. ALFONSO ROJAS DUARTE por su amistad y apoyo durante el transcurso de mi carrera.

Al Dr. GABRIEL GALLEGOS MORALES, por la ayuda y las recomendaciones hechas durante la realización de esta investigación, así como por proporcionar el material biológico para esta investigación.

A mis compañeros y amigos de generación Tariácuri, Toto, Bety, Fernando, Nicanor, Catherine, Alberto y todos aquellos con los que compartí mi estancia en la Universidad, gracias por las enseñanzas y los momentos de convivencia, así como por su ayuda para la realización de esta investigación.

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	iv
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCION	1
OBJETIVO.....	5
HIPOTESIS	5
II. REVISION DE LITERATURA	6
Descripción botánica	7
Descripción de las cenicillas.....	8
Cenicilla del rosal (<i>Spaerotheca pannosa</i>)	9
Control Biológico	12
Antecedentes del control biológico con <i>Bacillus</i>	14
Antecedentes del uso de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	19
III. MATERIALES Y METODOS.....	26
Localización del experimento	26
Descripción de tratamientos	27
Diseño experimental.....	28
Preparación y aplicaciones.....	29
Riegos y fertilización	31
Variables evaluadas	32
Longitud de botón (cm).....	32
Diámetro de botón (cm)	32
Longitud de tallo (cm)	32
Diámetro de tallo (cm)	33
Numero total de foliolos por tallo	33
Presencia de la enfermedad en la tercera hoja pentafoliada superior ..	33
Presencia de la enfermedad en la primera hoja heptafoliada media	34
Presencia de la enfermedad en la segunda hoja pentafoliada inferior .	34
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
Longitud de botón.....	35
Diámetro de botón.....	37
Longitud de tallo	40
Diámetro de tallo	43
Numero total de foliolos por tallo	45
Presencia de la enfermedad.....	47
Tercera hoja pentafoliada superior	48
Primera hoja heptafoliada media	49
Segunda hoja pentafoliada inferior	51
V. CONCLUSIONES.....	55
REVISION DE LITERATURA.....	56
APENDICE.....	58

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

		Pag.
Cuadro 3.1.	Tratamientos, dosis y productos.....	27
Figura 4.1.	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable longitud de botón.....	36
Figura 4.2.	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable diámetro de botón.....	39
Figura 4.3	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable longitud de tallo en cm.....	41
Figura 4.4	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable diámetro de tallo en cm.....	44
Figura 4.5	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable numero total de foliolos por tallo.....	46
Figura 4.6	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control para la cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable presencia de la enfermedad evaluada en la tercera hoja pentafoliada superior.....	49
Figura 4.7	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable presencia de la enfermedad evaluada en la primera hoja heptafoliada media.....	50
Figura 4.8	Respuesta del rosal hibrido de té, cv. Royalty a la aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y su control sobre cenicilla <i>S. pannosa</i> para la variable presencia de la enfermedad evaluada en la segunda hoja pentafoliada inferior.....	52

Figura 4.9.	Aspecto que presenta un foliolo al comienzo de la enfermedad, en base a la escala representa el número 1.....	53
Figura 4.10.	Aspecto del foliolo de acuerdo al segundo nivel de la escala.....	53
Figura 4.11.	Aspecto de los foliolos para el tercer nivel de la escala.....	54
Figura 4.12.	Aspecto de un foliolo de acuerdo al cuarto nivel de la escala.....	54

RESUMEN

El cultivo de la rosa, es muy susceptible a la presencia de enfermedades, considerando a la cenicilla polvorienta *Sphaerotheca pannosa*, como una de las mas sobresalientes, puede llegar a ser muy agresiva, afectando tallos, pedúnculos, sépalos y hojas reduciendo su capacidad fotosintética, disminuyendo su crecimiento y su productividad de forma considerable.

En la actualidad el uso de productos químicos para el control de las enfermedades presenta desventajas, como son riesgos de intoxicación, toxicidad del compuesto hacia organismos no involucrados, efectividad limitada y en el caso de los funguicidas se ha detectado el desarrollo de aislados patógenos con resistencia a uno o más de estos productos.

En la presente investigación se utilizo el control biológico como alternativa para la prevención y control de la cenicilla en el cultivo del rosal, ya que este presenta la ventaja de disminuir el uso de agroquímicos, además de ser una alternativa más económica y menos impactante ecológicamente, no crea resistencia, es específico, de fácil aplicación y no es residual.

El experimento consto de 5 tratamientos, se aplicaron 3 diferentes dosis de *Bacillus amyloliquefaciens*, un testigo absoluto sin aplicación de ningún producto y un testigo comercial al que se le aplico Sulfotron como método de control para cenicilla.

Las variables que se evaluaron en esta investigación fueron, longitud de botón, diámetro de botón, longitud de tallo, diámetro de tallo, número de foliolos por tallo, para evaluar la severidad de la enfermedad se propuso una escala en base al desarrollo de la enfermedad y su comportamiento en el cultivo del rosal.

Longitud de botón, el testigo absoluto fue el tratamiento que presento mayor longitud de botón.

Diámetro de botón, el mayor diámetro de botón se presento en el tratamiento con la dosis alta de *B. amyloliquefaciens*.

Longitud de tallo, la mayor longitud se presento en el testigo absoluto.

Diámetro de tallo, el mayor diámetro de tallo se presento en el testigo comercial.

Numero de foliolos por tallo, la dosis alta presento el mayor número de foliolos por tallo.

Presencia de la enfermedad, el testigo comercial reflejo la menor presencia de la enfermedad, en cada una de las hojas evaluadas.

PALABRAS CLAVE: Cenicilla polvorienta, Rosal, Control biológico, *Bacillus amyloliquefaciens*

I. INTRODUCCIÓN

La floricultura, es la actividad agrícola que tiene como objetivo fundamental, la producción intensiva y extensiva de flores con fines comerciales y una de las ramas de esta es la producción de flores de corte.

En México, la producción de flor de corte, a tomado gran importancia para la economía del país y se ha constituido como una de las actividades agrícolas, que mayor auge han tenido dentro de los productos no tradicionales.

El periodo comprendido entre los años de 1995 a 2005, esta caracterizado, por un fuerte incremento en la superficie dedicada a la producción de flores, ya sea por la entrada de pequeños productores o por la expansión de los ya existentes.

Se estima que aproximadamente 13,424 hectáreas están destinadas a la producción de flores y follajes de corte, con un valor estimado a la venta de 510 millones de dólares. De la producción total de México, el 8% se realiza bajo condiciones de invernadero y el 92 % restante a cielo abierto.

La información oficial disponible, indica que la producción de cultivos ornamentales se concentra en un 90 %, en cinco estados, los cuales son México con 73.7 %; Morelos, 5.4%; Puebla 5.2 %; Sinaloa con 3.8 % y Baja California con 3.8 %, sin embargo los estados de Colima, Chiapas, Michoacán y Veracruz tienen presencia constante al analizar los centros de comercialización del país y en lo relacionado a materia de exportaciones.

De los anteriores, el Estado de México es el más sobresaliente, ya que con el 43.7 % de la superficie total cultivada de flores refleja el 93 % de la producción en volumen, esto gracias a sus condiciones ambientales, tecnología y sistemas de producción. En el Estado de México se cultivan aproximadamente 5,864 hectáreas, de las cuales, 88% son cultivadas a cielo abierto y 12 % bajo invernadero. El 90 % de la producción esta destinada a satisfacer el mercado local y solo el 10 % es destinado a la exportación, mayoritariamente al mercado de los Estados Unidos.

En México, una de las problemáticas a resolver para la exportación la representa la calidad. La que está determinada por la longitud del tallo, forma de las flores, tamaño, color, número de hojas, forma de los pétalos además de la duración de esta, denominada como vida en florero.

Cabe mencionar que uno de los principales cultivos es el de las rosa *Rosa spp* esto por ser una especie que se puede cosechar y comercializar durante todo el año tanto para mercado nacional como para exportación.

Además de que reúne características atractivas para los consumidores como lo son principalmente, la amplia gama de colores en que se encuentran.

Uno de los principales problemas que enfrenta este cultivo es la susceptibilidad a enfermedades de los cultivares actuales, siendo la cenicienta polvorienta *Spaerotheca pannosa* la más sobresaliente de ellas. Es una enfermedad cosmopolita por lo que se le encuentra en todas las regiones productoras del mundo en la época seca del año, lo mismo pasa en México es una enfermedad, característica de todas las regiones productoras. En las rosas afecta principalmente la calidad, por lo que convierte a una producción exportable en una producción de mercado nacional. Es una enfermedad muy agresiva cuando se presenta en variedades susceptibles a ella, afectando tallos, pedúnculos, sépalos y hojas reduciendo su capacidad fotosintética en forma considerable, además de que disminuye su crecimiento y reduce su productividad.

Cada año las enfermedades de plantas ocasionadas por patógenos tales como hongos, bacterias, nematodos o virus disminuyen la producción en los cultivos en todas las áreas del mundo, por lo que las pérdidas económicas derivadas de la agresión biológica a los cultivos agrícolas son considerables y su prevención y erradicación son una tarea prioritaria.

Existen diversos métodos para lograr el control de las enfermedades de las plantas, sin embargo, los plaguicidas y otros químicos agrícolas son

ampliamente usados por todo el mundo con la intención de mejorar la producción de cultivos (Kreewsk et al., 1982), estimando que tan sólo en el control químico de hongos fitopatógenos e insectos se invierten 8.7 billones de dólares anualmente (Shah, 1995).

El empleo de pesticidas va acompañado de ciertas desventajas, éstas incluyen los riesgos de intoxicación para cualquiera que este involucrado en la cadena de distribución y utilización del producto, además de la toxicidad del compuesto hacia organismos no involucrados, otra desventaja es la contaminación del agua, además el uso de estos productos tiene una efectividad limitada y en el caso particular de los fungicidas se ha detectado el desarrollo de aislados patógenos con resistencia a uno o más de estos productos.

Otra alternativa para la prevención y control de las enfermedades es el control biológico, el cual logra disminuir o reducir el uso de agroquímicos, además de ser una alternativa más económica y menos impactante ecológicamente, no crea resistencia, es específico, de fácil aplicación y no es residual. El biocontrol se ha desarrollado con el interés de abatir los efectos tóxicos relacionados con el uso de plaguicidas (Erceg et al., 1990).

OBJETIVO

Obtener la dosis adecuada de *Bacillus amyloliquefaciens*, para lograr un control biológico efectivo de la Cenicilla del Rosal *Sphaerotheca pannosa*.

HIPOTESIS

La aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* inhibe la aparición de la cenicilla del rosal *Sphaerotheca pannosa*, en al menos una de las dosis aplicadas.

II. REVISION DE LITERATURA

La Rosa pertenece a la familia de las rosáceas, la cual comprende plantas muy variadas, ya que incluye hierbas, arbustos y árboles.

Las rosas son arbustos de ornato, cultivados principalmente por sus flores, sus características así como sus vistosos frutos y atractivo follaje.

La clasificación taxonómica del Rosal descrita por Cronquis (1989) es:

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magniolopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Subfamilia	Rosoideae
Genero	Rosa
Especie	Rosa spp

Descripción botánica

- ❖ Raíz: presenta una raíz primaria en forma de eje, de esta se originan numerosas ramificaciones, que serán las raíces secundarias, estas características son debido a que son una planta dicotiledónea (Luna 1986).
- ❖ Tallo: Puede ser derecho o inclinado, la mayoría de las veces ramificado; tiene espinas que se encuentran en los tallos y son producto del desarrollo de la epidermis en forma suberosa (acorchado). Los tallos son leñosos, persistentes y de corteza verde, gris o rojiza, según la especie y la edad de los mismos. (Gajon 1948)
- ❖ Hojas: presenta hojas alternas terminadas en números impar, los folíolos profundamente aserrados y los limbos están estipulados en su base, casi siempre son caducos y en pocos casos persistentes (Gajon 1948). Según Ruiz et al (1990) menciona que son compactas y constan de 3, 5, 7, o 9 folíolos ovales siempre presentes en número impar, son acuminados y de borde aserrado.
- ❖ Flor: Las flores son completas, actinoformas, pentámeras, con el receptáculo elevado en sus bordes alrededor del gineceo y lleva insertos los sépalos en la parte exterior, al mismo tiempo sostienen los pétalos en la parte superior interna donde también se encuentran los estambres. El cáliz en especies silvestres se compone de cinco

sépalos, estos semejantes a las hojas, cada sépalo presenta una verdadera hoja floral cuya base es un pecíolo alargado y estipulado.

- ❖ Fruto: El fruto es un cinorrodón de superficie exterior lisa o pubescente, en su interior se encuentran los óvulos ligados cada uno a un pistilo, generalmente los frutos son de escasa pulpa aunque los hay también carnosos. La fase interna del receptáculo o fruto, esta tapizado de un tejido glandular y termina en una expansión circular, un poco fuera de la bolsa receptacular, formando un abultamiento circular que se denomina disco y en donde están insertados los estambres en gran numero. (Gajon 1948)

DESCRIPCIÓN DE LAS CENICILLAS

Las cenicillas se derivan de hongos de la familia *Erysiphacea*, se caracterizan por la formación de manchas constituidas por masas de hifas polvorientas, mohosas y de un color que va del blanco al grisáceo, presentes sobre los tejidos jóvenes de las plantas, hojas u otros órganos. Se observa con mayor frecuencia sobre el haz de las hojas, puede afectar también el envés de las mismas, así como tallos, retoños, yemas y flores. Su presencia es más común en climas calidos y secos.

Los hongos que producen las cenicillas son parásitos obligados – no se desarrollan en medios nutritivos artificiales - . Estos hongos producen un micelio que solo se desarrolla sobre la superficie de los tejidos de la planta,

sin que los invadan, obtienen su alimento de la planta al enviar sus haustorios (órganos de alimentación) hacia las células epidérmicas de los órganos de la planta; estos hongos por lo común no matan a su hospedante, sin embargo utilizan sus nutrientes, disminuyen su fotosíntesis, aumentan su respiración y transpiración, disminuyen su crecimiento y reducen su productividad en ocasiones de un 20 a un 40 %. (Agrios, 1999)

Cenicilla del rosal *Sphaerotheca pannosa*

La infección por cenicilla polvorienta puede ocurrir en las rosas de invernadero en cualquier época del año; es una de las enfermedades mas importantes de las rosas, aparece año con año y da como resultado una menor producción de flores y el debilitamiento de las plantas ya que ataca yemas, hojas inmaduras y ápices en proceso de crecimiento.

Al principio, la cenicilla aparece sobre las hojas jóvenes de las plantas a manera de zonas vejigosas ligeramente salientes que en poco tiempo se cubren con hifas polvorientas y de un color blanco grisáceo, las cuales hacen que las hojas se enchinen y deformen conforme se expanden; La infección de las hojas jóvenes provoca que se mal formen, pues afecta directamente el tejido foliar. Sobre las hojas mas viejas de la planta aparecen, manchas blancas constituidas por hifas del hongo, por lo común estas hojas se deforman muy poco. Las lesiones de la hoja pueden ser decoloradas, pasando después a un color necrotico. (Agrios, 1999)

Cuando la infección es severa el hongo puede observarse también sobre el envés de las hojas, tallos y botones florales. Por lo común, sobre los vástagos verdes y jóvenes aparecen manchas blancas constituidas por hifas del hongo, las cuales son similares a las de las hojas y llegan a cubrir totalmente los ápices en crecimiento; debido a la infección estos ápices se arquean o encorvan. (Agrios, 1999)

En ocasiones, el hongo ataca las yemas de la planta y las cubre con mildiu blanco antes de que puedan abrir, y con ello, no llegan a abrirse o se abren inadecuadamente, la infección avanza hasta los verticilos florales, los cuales se decoloran, atrofian y finalmente mueren. (Agrios 1999)

En los rosales cultivados en invernadero, el patógeno inverna en forma de micelio en las yemas que se encuentran en reposo, los vástagos que se desarrollan de dichas yemas son infectados y proporcionan el inoculo para una posterior infección secundaria por las esporas o micelio del hongo y para el desarrollo de la enfermedad sobre el follaje y las flores de la planta. (Agrios 1999)

La infección comienza desde el momento en que una espora llega a la superficie de la hoja (tallo o flor) para luego germinar, para ello no requiere agua ya que la espora contiene un 70% de humedad, la germinación usualmente tiene lugar durante la noche cuando la humedad relativa es mas alta que durante el día. La presencia de gotas de agua sobre las hojas inhibe la germinación, pero cuando estas se secan las hojas son más sensibles a la

infección. Cuando el hongo inverna en forma de cleistotecios, las ascosporas maduras que son diseminadas funcionan también como inoculo primario. Las ascosporas o conidios son llevados por el viento hacia los tejidos verdes y jóvenes de la planta y si la temperatura y la humedad relativa son suficientemente altas, las esporas germinan al emitir un tubo germinal. Este último produce una hifa corta y fina que crece directamente a través de la cutícula y de la pared celular de la epidermis. La hifa penetrante se alarga inmediatamente después de introducirse en el lumen celular y forma un haustorio globoso mediante el cual el hongo obtiene sus nutrientes. El tubo germinal continúa desarrollándose y se ramifica sobre la superficie de los tejidos de la planta, produciendo una red de micelio superficial. Conforme se propaga el micelio sobre la planta, continúa enviando haustorios hacia las células epidérmicas. La absorción de los nutrientes de las células agota su suministro alimenticio, las debilita y en ocasiones produce su muerte. La fotosíntesis de las zonas afectadas disminuye en forma considerable, alterando también las demás funciones de las células. La infección de las hojas jóvenes produce también la irritación y el desarrollo desigual de las células circunvecinas, lo cual da como resultado la formación de zonas ligeramente levantadas sobre la hoja así como su deformación. (Agrios 1999)

La dispersión ocurre principalmente a través del aire y en menor medida a través de humanos y animales.

Control biológico

El estudio del control biológico de fitopatógenos se remonta a inicios del siglo pasado. Potter en 1908 reporta que la acción de patógenos de plantas puede inhibirse por inoculación de sus propios productos metabólicos. El primer intento para la aplicación directa en plantas fue a través de la inoculación en suelo de microorganismos que poseen potencial antagónico.

Varios métodos de control de las enfermedades de las plantas son de naturaleza biológica; uno de los objetivos de dicho método es alterar el comportamiento del ecosistema del cultivo para perjudicar al patógeno. (Manners 1986)

El control biológico se define como la destrucción total o parcial de las poblaciones de patógenos por medio de otros organismos, frecuentemente ocurre en la naturaleza. (Agrios 1996)

Garett (1965) señala que el control biológico de las enfermedades de las plantas se entiende como cualquier condición o practica mediante la cual la sobre vivencia o actividad de un patógeno se reduce a través de cualquier organismo viviente (excepto el hombre), resultando en una reducción de la enfermedad; pudiéndose lograr el control biológico mediante selección y producción de plantas resistentes a ciertos patógenos o mediante la utilización de microorganismos que sean antagónicos a ellos o que las parasiten.

Aun cuando el uso y la producción de variedades resistentes, sea el método mas antiguo, en los últimos años ha cobrado un considerable interés el uso de hiperparasitos o microorganismos antagónicos para controlar las enfermedades de las plantas. (Agrios 1999)

Manner (1986) define el antagonismo como una relación entre organismos distintos en la cual uno de ellos inhibe parcial o completamente el crecimiento del otro o que en ocasiones lo mata; se aplica en general a los efectos de metabolitos tóxicos de un organismo sobre el otro.

Mecanismos de los microorganismos antagónicos (Agrios 1996)

- 1.- Parasitismo directo y muerte del patógeno
- 2.- Competencia con el patógeno por el alimento
- 3.- Efectos tóxicos directos sobre el patógeno por medio de sustancias antibióticas liberadas por el antagonista
- 4.- Efectos tóxicos indirectos sobre el patógeno por sustancias volátiles, como el etileno, liberadas por actividades metabólicas del organismo antagonista.

El control biológico tiene la ventaja sobre otros métodos, de no causar contaminación ni disturbios ecológicos, tener un bajo costo, ser de fácil aplicación, no ser toxico para el hombre y tener un efecto prolongado de protección.

Antecedentes del control biológico con *Bacillus*

Vasudeva (citado por Torgeson 1963) determino que un antibiótico llamado bulbiformin es producido por *Bacillus subtilis* en el suelo bajo condiciones favorables para la bacteria. La inoculación en el suelo con *B. subtilis* reduce el ataque de *Fusarium udun* en guisante silvestre, el antibiótico bulbiformin es transportado de las raíces al follaje y no es fitotóxico.

Herrera y Herrera (1963) realizando estudios encontraron que el antibiótico producido por *Bacillus subtilis* es difundible en el medio de cultivo y es capaz de inhibir a *Rhizoctonia solani*, *Alternaria sp* y parcialmente a *Collectotrichum sp*.

Ping Chang et al, (citados por Olivas 1970) lograron el control del hongo *Fusarium ruseum* al mezclar la semilla del maíz con inóculo de diferentes microorganismos antagónicos al patógeno, como *Chaetomium globosum* y *Bacillus subtilis* antes de la siembra en el invernadero.

Broadbent (1971) reporto que la semilla de maíz inoculada con *Chaetomium globosum* o *Bacillus subtilis* tuvo un control en la muerte de plántulas causado por *Fusarium graminearum* en campo.

Broadbent (1971) (citado por Wellwe 1988) aisló *Bacillus subtilis* A 13 del micelio de *Sclerotium rolfsii*. La raza A 13 inhibió in Vitro a patógenos severos de las plantas y mejoro el crecimiento de muchas especies de

plantas en suelo natural o en suelo esterilizado a vapor. En semillas tratadas, incremento la producción en zanahoria un 48 %, avena en un 33 % y cacahuete en un 37 %.

El patógeno *Nectria galligena* entra en el hospedante a través de las cicatrices de abscisión que quedan cuando las hojas del manzano caen en el otoño. Las investigaciones sistemáticas de Dickinson (1978) mostraron que otros organismos colonizan también estas aberturas, y que, cuando uno de ellos, la bacteria *Bacillus subtilis*, esta presente, impide que se establezca el patógeno del chancro del manzano.

Shin y colaboradores (1987) reportan que aislamientos de *Trichoderma*, *Bacillus* y *Streptomyces* son antagónicos a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en la rizosfera de plantas de ajonjolí. Mientras que de los aislamientos de cepas de *Bacillus*, el 26 % son antagónicos a estos hongos, particularmente *Bacillus subtilis* y *Bacillus polymixa*.

Kumar y colaboradores (1988) llevaron a cabo el control biológico de la pudrición del fruto en papaya causado por *Rhizopus nigricans*, por inmersión de fruta en suspensión de células de *Bacillus subtilis* o en el cultivo filtrado, 24 horas antes del tratamiento con *R. nigricans*.

Séller (1988) la aplicación de cepa de *B. subtilis* A-13, la cual fue aislada de micelio de *Sclerotium rolfsii*, dicha preparación mostró capacidad

inhibitoria contra ciertos fitopatogenos además de actuar como promotora de crecimiento para muchas especies de plantas.

Rytter y Lukezie (1989) reportaron tres razas de *Bacillus subtilis* aisladas de una infección de roya en hojas de geranio, inhibiendo y reduciendo la germinación de esporas y la incidencia de pústulas de roya, en hojas inoculadas bajo condiciones de invernadero.

Utkhede (1989) trabajando con plántulas de manzano enfermo aisló cuatro hongos fitopatogenos, y aplico al suelo 21 aislamientos de *Bacillus subtilis*, produciendo zonas de inhibición in Vitro.

La bacteria *Bacillus subtilis* tuvo una marcada antibiosis sobre *Fusarium oxysporum f. sp niveum* en pruebas de laboratorio, deformando o destruyendo gradualmente el micelio Díaz (1990)

García y Virgen (1991) reportan que el marchitamiento de la sandia, causado por *Fusarium oxysporum f. sp niveum* se redujo con la aplicación de *Bacillus subtilis* dando una protección contra este patógeno de un 74.62% para la variedad Jubilee W. R. y un 64.52 % para la variedad All-sweet, con la dosis de inculo de 1.6×10^{-10} bac/ 100 gramos de semilla.

Velásquez (1991) observo que la inoculación de *Bacillus subtilis* 1.5 gr. de Quantum 4000 HB por cada 100 gr. de semilla de sandia, en la variedad Calsweet permitió un 27 % de plantas marchitas siendo en un 100

% mayor la protección que se tuvo respecto al testigo. En la variedad Jubilee no hubo respuesta, ya que se tuvo un 84 % y un 71 % de plantas marchitas, con y sin el tratamiento respectivamente.

La bacteria *Bacillus subtilis* ha sido reportada como antagónica de *R. solani* in Vitro afectando el crecimiento micelial, observándose la formación de hifas. (Virgen y López 1992)

Olivares (1993) señala que *Bacillus sp* inhibió a *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Alternaria* en condiciones de invernaderos y que el tratamiento de la semilla certificada con *B. subtilis* al transplantar redujo considerablemente la marchites.

Agrios (1994) El tratamiento de semillas como los cereales, maíz dulce y zanahorias con suspensiones acuosas, pastas o polvos que contienen a las bacterias *Bacillus subtilis* cepa A13 o *Streptomyces sp.*, han protegido a las plantas contra los patógenos de la raíz y ha dado como resultado un mejor crecimiento y producción de estos cultivos.

Agrios (1994) Cuando varias clases de frutos de hueso como duraznos, nectarinas, albaricoques y ciruelos, fueron tratados, después de haber sido cosechados, con suspensiones de la bacteria antagónica *Bacillus subtilis*, permanecieron libres de la pudrición café causada por el hongo *Monilinia fructicola*, cuando menos por nueve días.

Mathre *et al.*, (1995) observaron que en *Pisum sativum*, una combinación de *Bacillus subtilis* más Carboxin y Thiran provee un control superior de *R. Solani* comparado con el control químico o biológico actuando por si solos.

De la Garza, (1996) menciona que a una concentración de 1014 bact./ml. disminuye en un 50.74 % el daño ocasionado por *Rhizoctonia solani* en papa.

Domínguez (2002) (citado por Guillen 2006) indico que el tratamiento a la siembra con *Bacillus subtilis* Cohn en el cultivo de papa controla la incidencia y severidad de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *Verticillium dahliae* Kleb bajo condiciones de campo

Álvarez (2003) evaluó una cepa de *B. subtilis* para el control de *F. oxysporum* en chiles jalapeños bajo condiciones de campo y obtuvo un 85.7 % de control, contra un 28.5 % del tratamiento químico.

Carrillo *et al.*,(2003) Aplicaciones foliares de *B. subtilis* en árboles de mango redujeron significativamente la incidencia y severidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides*), superando al tratamiento químico.

Castillo *et al.* (2004) (citado por Guillen 2006) reportaron una disminución en la incidencia de *Alternaria dauci* (Kühn) Groves y Skolko en zanahoria, durante las primeras etapas fonológicas del cultivo, lo que

permitió a las plantas con tratamiento de *Bacillus* un mejor desarrollo y una menor severidad de la enfermedad al final del cultivo.

De la Garza (2004) al evaluar la efectividad biológica in Vitro de 57 cepas del genero *Bacillus* contra los hongos *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* (patógenos asociados a la marchites del chile) obtuvo resultados de inhibición de 25.46 % (B-13) a 41.1 % (B-1) contra *P. capsici*; de 19.56 % (B-8) a 38.31 % (B-5) contra *R. solani* y de 14.47 % (B-11) a 31.83 % (B-12) contra *F. oxysporum*.

Núñez, *et al.*, (2005) en aislamientos bacterianos determinaron cinco cepas de *B. subtilis* las cuales mostraron antagonismo contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

Antecedentes del uso de *Bacillus amyloliquefaciens*

Guillen (2006) al inocular plantas de chile ancho cv Caballero con *Bacillus amyloliquefaciens* observo un incremento en el rendimiento de hasta el 144 % en comparación con el testigo. En el segundo corte se obtuvo nuevamente el mayor rendimiento superando el tratamiento tradicional en un 149 %. Al realizar el tercer corte se obtuvo la mayor producción superando seis veces más al testigo y cinco veces en rendimiento al tratamiento tradicional.

Guillen (2006) observo que la menor severidad en marchites de las plantas se obtuvo con los aislamientos de *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis* donde se observo un amarillamiento y epinastia en un 30% de las hojas y una pudrición de raíz del 10 al 25 % en comparación la testigo el cual presento una marchites del 95% y pudrición de raíz en el 75%.

Bacillus amyloliquefaciens se ha reportado como una especie con actividad antifungica a *Colletotrichum dematium* (Pers. ex Fr.) Grove, *Colletotrichum lagenarium* (Pass) Ellis y Halsted, *Rosellinia necatrix* Prill., *Pyricularia oryzae* Cavara, *Agrobacterium tumefaciens* (Smith y Townsend) Cohn, *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* (Pammel) Dowson y *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* (Doidge) Dowson *in vitro e in vivo* (Nava- Diaz K *et al.*, 1994; Wulff *et al.*, 2002; Yoshida *et al.*, 2001); antagónica a *Botrytis elliptica* (Berk) Cooke bajo condiciones de invernadero (Chiou y Wu, 2001); antagónica a *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. en postcosecha (Mari *et al.*, 1996); en el control biológico de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.* Y *Pythium spp* en el cultivo de chile (Harris y Adkins, 1999) así como en la inducción de mecanismos de resistencia a CMV en tomate (Zehnder *et al.*, 2000).

En línea. Rodas Pinochet Anjel (10 junio 2008) describe el uso de *Bacillus amyloliquefaciens* como biofertilizante esto debido a su capacidad para solubilizar fósforo. Para que las plantas puedan utilizar el fósforo, las bacterias deben hidrolizar los compuestos fosfatados para dejar al fósforo en su forma inorgánica (ION), para ello las bacterias producen enzimas

llamadas fosfatasa s ácidas, las cuales cambian el pH del entorno y así facilitan que el fósforo inorgánico sea liberado por intercambio protónico al medio, remplazando los P por iones Calcio.

En línea Gutierrez Luís Maria (10 junio 2008) al realizar un ensayo de cosecha anticipada de trigo y almacenaje en bolsa plástica, empleando un aditivo desecante y antifúngico basado en la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens*; el grano utilizado fue cosechado con 33 % de humedad - 67 % de materia seca (MS), se almacenó el 3 de diciembre de 2007 con y sin aplicación del aditivo bacteriano y fue analizado el 10 de enero de 2008. Todos los valores registrados fueron favorables al tratamiento, ya que con o sin el aditivo brindaron los siguientes resultados: 84,1 % y 73,1 % de MS, 90 % y 82,5 % de digestibilidad de la MS, 14,2 % y 12 % de proteína bruta, 9,2 % y 13,2 % de fibra digestible neutra, 4,1% y 1,8 % de azúcares solubles y 3,3 y 2,8 mega calorías por Kg. /MS de energía metabolizable, respectivamente. Como consecuencia de estos resultados se concluye que el empleo del aditivo bacteriano basado en *B. amyloliquefaciens* es recomendable para conservar el valor nutritivo del grano de trigo almacenado con elevado porcentaje de humedad.

En línea (12 de junio 2008) en el reglamento de la comisión de las comunidades europeas se mencionan datos en apoyo de una solicitud de autorización del uso del preparado enzimático de endo-1,4-beta-xilanasas producidas por *Trichoderma longibrachiatum* (ATCC 2105), endo-1,3(4)-beta-glucanasa y alfa-amilasa producidas por *Bacillus amyloliquefaciens* (DSM

9553), subtilisina producida por *Bacillus subtilis* (ATCC 2107) y poligalacturonasa producida por *Aspergillus aculeatus* (CBS 589.94) como aditivos para la alimentación animal de pavos de engorda. Emitiéndose un dictamen el 15 de junio de 2006 sobre el uso de dicho preparado en el que se concluye que no representa riesgo alguno para el consumidor, el usuario, la categoría de animales a la que se destina o el medio ambiente.

En línea (12 junio 2008) En Canadá el Reglamento de Productos Alimenticios y Farmacéuticos contempla actualmente el uso de las enzimas alfa amilasa, glucoamilasa, glucosa isomerasa, amilasa maltogénica, pectinasa y pululanasa en una gran variedad de productos. El Departamento de Salud del Canadá ha recibido solicitudes de autorización del uso de las enzimas, generadas por nuevos microorganismos modificados genéticamente entre ellas se menciona a alfa amilasa generada por el *Bacillus amyloliquefaciens* EBA 20 (pUBH2) modificado genéticamente para que contenga copias múltiples del gen endógeno de la alfa amilasa del *B. amyloliquefaciens*, en la elaboración de pastas (mostos) de destilación y de cervecería y en el almidón empleado en la producción de dextrinas, dextrosa, glucosa (jarabe de glucosa) o sólidos de glucosa (jarabe de glucosa deshidratado) y maltosa.

En línea (12 de junio 2008) En un artículo titulado Tomates partenocárpicos y procedimientos para su producción se menciona que el

termino “gen citotóxico” incluye a cualquier gen que codifica una proteína que causa la muerte celular en el tejido donde se expresa, por ejemplo, un gen que codifica una proteína o actividad enzimática que provoca la separación de la antera. En plantas se han usado diversas proteínas que producen muerte celular, por ejemplo, la toxina A de la difteria (DTA) producida naturalmente por *Corynebacterium diphtheriae*, la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*, la ribonucleasa T de *Aspergillus oryzae*, la barnasa de *Bacillus amyloliquefaciens*. En una realización particular, dicho gen citotóxico que se expresa en antera debido a que está bajo el control de pENDI es el gen de la barnasa, una ribonucleasa de *Bacillus amyloliquefaciens* [Mariani C, DeBeuckeleer M, Truettner J, Leemans J, Goldberg RB (1990) Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene. Nature 347:737-741] que provoca la ablación completa de la antera, desde estadios muy tempranos de su desarrollo, impidiendo la formación del polen en las mismas, dando lugar de este modo a una planta androestéril. Este gen es particularmente interesante porque dispone de un potente inhibidor específico de la actividad ribonucleasa de la barnasa, concretamente de la proteína barstar, que puede usarse para restaurar la fertilidad en líneas androestériles [Mariani et al, (1992) Nature 357:384-387] para obtener plantas androfértiles.

Roque Mesa Edelin Marta en el 2004, menciona que END1 es un gen de guisante (*Pisum sativum* L.) específico para antera que comienza a expresarse desde estadios tempranos del desarrollo (primordio de antera) en

aquellas líneas celulares que darán lugar a los tejidos de la epidermis, conectivo, capa intermedia y endotecio, y en estos tejidos una vez desarrollados. Esta especificidad que confiere el promotor END1 para la expresión de un gen foráneo en las anteras ofrece a posibilidad de utilizarlo, fusionándolo a un gen citotóxico, como una herramienta biotecnológica para la obtención de plantas transgénicas androestériles. En este trabajo, se fusiono la región 5completa (-2736/6) del promotor de END1 a la secuencia codificante de la ribonucleasa extracelular producida por *Bacillus amyloliquefaciens* barnasa. Con esta construcción se transformaron tres plantas, Arabidopsis tabaco y tomate. La expresión del gen citotóxico barnasa donde END1 es activo, trajo como consecuencia una degeneración de tejidos de la antera que inhibió el desarrollo de los granos de polen. Las plantas transgénicas resultantes fueron adroestériles. Los estudios a nivel histológico de las anteras transgénicas mostraron que los efectos de la barnasa comienzan a observarse muy pronto en el primordio de la antera, cuando este está constituido solo o por células indiferenciadas, y continúa observándose a lo largo del desarrollo de la misma. De manera general, al final del programa de desarrollo, las anteras transgénicas eran de menor tamaño, su morfología era distinta de las de las anteras silvestres correspondientes, y en su interior se observaba el tejido conectivo colapsado y una estructura amorfa en lugar de granos de polen viable.

Holguín Gina en 1999 cita que se han logrado aislar seis cepas de bacterias solubilizadoras de fosfato a partir de raíces del mangle negro las cuales son *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *Enterobacter*

aerogenes, *E. taylorae*, *E. asburiae* y *Kluyvera cryocrescens*, y también dos especies a partir de raíces del mangle blanco, las *Chryseomonas luteola* y *Pseudomonas stutzeri*. Se encontró que bajo condiciones in vitro, *B. amyloliquefaciens* solubiliza un promedio de 400 mg de fosfato por litro de suspensión bacteriana (10⁷ células/ml); teóricamente, esta cantidad sería suficiente para proporcionar los requerimientos diarios de fosfato de una pequeña planta terrestre y la mitad de los de una grande.

III. MATERIALES Y METODOS

Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, en el invernadero de ornamentales, perteneciente al departamento de Horticultura, durante el periodo de agosto a diciembre 2007.

La Universidad se localiza en la comunidad de Buenavista, a 7 Km. de la ciudad de Saltillo, Coahuila. La cual se ubica entre los 100° 50´ 57”, longitud oeste y los 25° 53´ 42” longitud norte del observatorio de Greenwich. Contando con una altitud de 1742 msnm, registrando una precipitación anual de 298.5 mm, con una temperatura media anual de 19.8 °C.

Material vegetativo

- Plantas de rosal de la variedad Royalty de 14 años de edad, con alta susceptibilidad a la enfermedad, a causa de la edad de la planta.

Material biológico

- Cepas de *Bacillus amyloliquefaciens*

Productos químicos

- Sulfotron

Fertilizantes

- Acido nítrico
- Nitrato de calcio
- Nitrato de potasio
- Fosfato Monoamonico
- Quelato de Fierro
- Sulfato de cobre

Descripción de tratamientos

Los tratamientos empleados se describen a continuación

Cuadro 3.1. Tratamientos dosis y productos.

Tratamiento	Dosis por litro	Producto
T1	Normal 5cc	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
T2	Alta 7.5 cc	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
T3	Baja 2.5 cc	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
T4	Testigo comercial	Sulfotron
T5	Testigo absoluto	Sin aplicación de producto

Las aplicaciones de *Bacillus amyloliquefaciens* se realizaban semanalmente procurando que todas fueran en las primeras horas del día, evitando las altas temperaturas para no interferir en el desarrollo de la bacteria. Al realizar la disolución se tenía la precaución de que la aspersora manual utilizada estuviera libre de cualquier contaminación que pudiera provocar alteraciones en el crecimiento de la bacteria. Se estableció un total de 5 tratamientos cada uno con 3 repeticiones, dando un total de 15 unidades experimentales, con dimensiones de 3 m. por 1.2 m por unidad experimental.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño completamente al azar, ya que al desarrollar el experimento bajo condiciones de invernadero se presentaron características homogéneas para cada unidad experimental. El experimento constó de 5 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento dando un total de 15 unidades experimentales.

El modelo experimental utilizado es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = Respuesta en la i-ésima unidad experimental con el tratamiento j-ésimo

μ = Media general, común a todas las unidades experimentales.

T_i = Efecto del i-esimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental en la j-esima repetición del i-esimo tratamiento

Preparación y aplicaciones

Para comenzar con el trabajo experimental el día 4 de octubre de 2007 se realizó una poda fuerte en las plantas de rosal las cuales ya presentaban síntomas de la enfermedad *Sphaerotheca pannosa*, con la finalidad de promover la brotación y facilitar así la aplicación de los tratamientos y posterior evaluación. Las aplicaciones de bacterias se efectuaron en forma semanal, realizando la primera aplicación 15 días después de que se efectuara la poda 18 de octubre, se realizaron seis aplicaciones semanales, concluyendo el día 23 de noviembre. Para cada aplicación se distribuía un volumen de 6 litros de agua por tratamiento, correspondiendo 2 litros por cada repetición.

La preparación consistía en medir el volumen de suspensión a utilizar con la ayuda de una probeta, después se colocaban en frascos etiquetados con cada una de las dosis a emplear. Se utilizaron tres dosis diferentes, se clasificaron en tres tipos dosis alta, media y baja; la dosis alta correspondía de 7.5 cc de suspensión de *Bacillus amyloliquefaciens* por cada litro de agua; la dosis media de 5 cc de suspensión de *Bacillus amyloliquefaciens* por litro y la dosis baja de 2.5 cc de suspensión de *Bacillus amyloliquefaciens*. Una vez en el invernadero, se diluía el contenido de los frascos en agua, después se aforaba hasta completar 6 litros de solución, la cual sería asperjada sobre las plantas tratadas con la ayuda de una

aspersora manual, cuidando siempre que la aspersión se realizara con gotas finas para permitir que la aplicación fuera uniforme y así evitar que quedaran áreas sin producto, la aplicación se realizaba principalmente sobre brotes nuevos, ya que estos son mas susceptibles a la enfermedad.

La medición de la influencia de el *B. amyloliquefaciens* a diferentes dosis que dio origen a los tratamientos se realizo el día 04 de diciembre de 2007, consistió en seleccionar 5 tallos de cada tratamiento tratando de que estos coincidieran en el punto de cosecha, la cosecha se realizo en forma ascendente y realizando el corte sobre la primera yema de 5 foliolos con toque de yema para favorecer y acelerar la brotación de la nueva yema.

Para medir las variables relacionadas con calidad se utilizo un vernier para tomar medidas de diámetros y un flexometro para determinar longitudes, para la variable de severidad se decidió tomar datos de la tercera hoja pentafoliada superior, la primera hoja heptafoliada media y la segunda hoja pentafoliada inferior, registrando un valor para cada foliolo de acuerdo a la escala propuesta, para determinar la severidad del daño por cenicilla en cada uno de los foliolos, se propuso una escala basada en el comportamiento de la enfermedad en el cultivo del rosal. No se selecciono la escala propuesta en la literatura, por lo complejo para su aplicación y manejo en campo, por lo que se propuso una nueva escala con mayor practicidad, la escala toma valores que abarcan desde cero hasta cuatro.

Escala de severidad empleada durante la evaluación

0	Hoja Sana
1	Hoja con lesión en envés (mancha violácea)
2	Hoja con menos de 3 sitios en el haz
3	Hoja con mas de 3 sitios en el haz
4	Hoja deforme

Riegos y fertilización

Los riegos se efectuaban diariamente, aplicando un volumen de de riego de 7 litros de agua por metro lineal, dando un total de 21 litros por unidad experimental, cada tercer día se incluía en el riego la fertilización correspondiente, la cual se determino en base a los requerimientos del cultivo. Se realizaron aplicaciones semanales de quelato de fierro, con el fin de evitar deficiencia de elementos menores, además se realizaron aplicaciones de nitrato de amonio al suelo para cubrir los requerimientos.

Cantidades de fertilizante por 1000 litros de agua

❖ Acido nítrico	200 cc
❖ Nitrato de calcio	483 g
❖ Nitrato de potasio	330 g
❖ Fosfato monoamonico	115 g
❖ Quelato de fierro	33 g
❖ Sulfato de cobre	0.078 g

Control de plagas

Durante el desarrollo de la investigación las plantas fueron atacadas por araña roja *Tetranychus spp.*, para lo cual se realizaron aplicaciones de insecticida (abamectina) a una dosis de 0.4 cc por litro de agua.

VARIABLES EVALUADAS

Longitud de botón (cm)

Se tomaron 5 tallos por cada repetición procurando que fueran lo mas semejantes en el punto de apertura del botón, la longitud se midió con un vernier de reloj desde la base del botón hasta su parte apical, de el total de datos obtenidos por unidad experimental se determino la media, utilizada para el análisis estadístico,

Diámetro de botón (cm)

Se eligieron 5 tallos por cada repetición tratando de que coincidieran en el punto de apertura, el diámetro se midió con un vernier de reloj en la parte media del botón. Al finalizar la toma de datos se determino la media para realizar el análisis estadístico.

Longitud de tallo (cm)

Se seleccionaron 5 tallos por cada unidad experimental con un punto de apertura de botón semejante, la longitud se midió con un flexometro a

partir de la base del botón. Del total de datos registrados por unidad experimental se determinó la media, como único valor para realizar el análisis estadístico

Diámetro de tallo (cm)

Se eligieron 5 tallos por cada repetición tratando de que coincidieran en el punto de apertura, el diámetro de tallo se midió con un vernier de reloj en la parte media del tallo. Al finalizar la evaluación se determinó la media en base a los datos obtenidos y poder realizar el análisis estadístico.

Numero total de foliolos por tallo

Se seleccionaron al azar 5 tallos por cada unidad experimental tratando de que coincidieran en el punto de apertura del botón, se contabilizó el total de hojas y el número de foliolos con que contaba cada una. Para realizar el análisis estadístico se determinó la media de cada unidad experimental.

Presencia de la enfermedad en la tercera hoja pentafoliada superior

Se tomaron 5 varas por cada repetición procurando su similitud en el punto de apertura, de acuerdo con la escala propuesta, se le asignó un valor a cada foliado en base al daño que presentaba a consecuencia de la enfermedad. En base a la información se determinó la media, la que se utilizó en el análisis estadístico de la variable.

Presencia de la enfermedad en la primera hoja heptafoliada media

Se seleccionaron 5 tallos por repetición, procurando que presentaran un punto de apertura similar, en base a los valores de la escala propuesta se determino el correspondiente para cada uno de los foliolos. Se obtuvo el valor medio en base a la escala, utilizándolo en el análisis estadístico.

Presencia de la enfermedad en la segunda hoja pentafoliada inferior

De cada repetición se tomaron 5 tallos similares en el punto de apertura del botón, asignándole a cada foliolo el valor correspondiente de acuerdo a la escala propuesta para la evaluación. De acuerdo al valor obtenido se determino el valor medio para cada tratamiento, aplicándolo en el análisis estadístico.

Paquete estadístico utilizado

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico de la FAUANL versión 2.5, la comparación de medias se realizó con la prueba DMS con un 0.05 % de significancia.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la finalidad de una mejor comprensión, de los resultados obtenidos en la investigación, estos se reportan para cada una de las variables por separado.

LONGITUD DE BOTÓN

La longitud de botón constituye uno de los parámetros más importantes, para determinar, si una flor de corte es destinada al mercado de exportación o al nacional, en la actualidad el mercado de exportación exige tallos, cuyos botones tengan una longitud de 5 cm. o mas, o al menos cercano a este dato, para ser considerado de calidad. En general se establece para una relación estética del botón, que este tenga en longitud del 50 a 100 % más, del diámetro del botón.

Al analizar los datos obtenidos mediante el análisis de varianza, para la variable longitud de botón, no se encontró una diferencia significativa entre tratamientos para dicha variable, lo que indica que al realizar aplicaciones de *B. amyloliquefaciens* no se tiene influencia sobre la longitud de botón, por lo tanto no influye de manera directa en la calidad de la flor de corte.

Al realizar la comparación entre tratamientos, se obtiene, que la dosis normal con valor de 5 cc de *Bacillus amyloliquefaciens*, presenta un valor de 4.955 cm. de longitud en el botón, superando en un 2.43 % al testigo absoluto el cual registra una longitud de 4.837 cm. de longitud, la dosis alta con una longitud de 5.205 cm. supera el valor del testigo en un 7.60 %, la dosis baja con 4.951 cm. de longitud es mayor que el testigo en un 2.35 %, al realizar la comparación contra el testigo absoluto, este registra una longitud de 5.30 cm., se observa una diferencia de 9.69 %, mayor que la de los tratamientos anteriores.

Al realizar la comparación de los tratamientos con *B. amyloliquefaciens* contra el testigo comercial (Sulfotron), todos se ven superados por este, la dosis normal es superada por este en un 6.61%, la dosis alta es la que presenta la menor diferencia con un 1.90%, la dosis baja es la que presenta la mayor diferencia siendo rebasada en un 6.69 % por el testigo comercial. (Figura 4.1.)

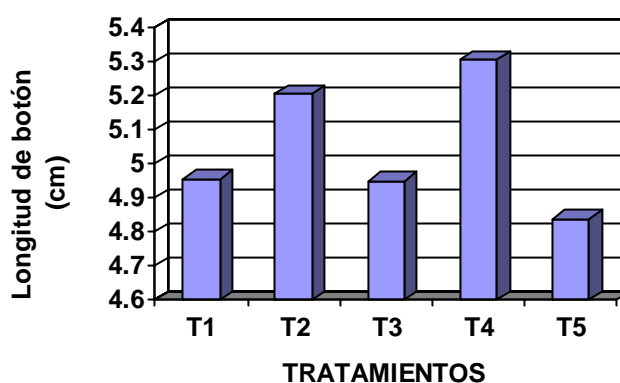


Figura 4.1. Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersion de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable longitud de botón.

Al existir un mayor control sobre la enfermedad en el tratamiento donde se aplicó la dosis alta de *B. amyloliquefaciens* y en el testigo comercial, se favoreció al óptimo crecimiento del botón, debido a que el patógeno no interfirió de manera significativa en el proceso de la fotosíntesis, permitiendo con esto, que se llevara de manera normal, proporcionándole a la principal zona de demanda que es el botón los nutrientes necesarios para su crecimiento.

DIÁMETRO DE BOTÓN

El diámetro de botón se encuentra relacionado directamente con el número de pétalos que posea cada flor así como con la longitud del botón, estableciéndose como relación óptima para una adecuada apariencia estética de 1.5 – 1 ó preferentemente de 2 – 1, esto quiere decir que la longitud del botón debe de ser 50% o 100% más del diámetro del mismo.

En base al análisis de varianza para la variable diámetro de botón, existe una respuesta altamente significativa entre tratamientos, donde se refleja que el tratamiento con la dosis alta 7.5 cc de *Bacillus amyloliquefaciens* por litro de agua, es el tratamiento que presenta un mayor diámetro de botón con un valor de 3.167 cm. superando al testigo absoluto en un 22.9 %, presentando este un valor de 2.575 cm. de diámetro.

Se observa además que en la dosis baja de *B. amyloliquefaciens* que fue de 2.5 cc por litro se obtiene un diámetro de botón de 2.709 cm. superando al testigo absoluto en un 5.20 %. En la dosis media 5 cc por litro se reporto un valor de 2.661 cm. de diámetro, el cual representa un incremento del 3.33 % en comparación al testigo. En cuanto al testigo comercial se registra un valor de 2.671 cm., al comparar este valor con el testigo absoluto se observa un incremento del 3.72 % en comparación a este.

Al comparar el testigo comercial, se aprecia que la dosis alta supera el valor de este en un 18.56 %; la dosis baja presenta una diferencia del 1.42 %. Por el contrario al comparar el valor del testigo comercial contra la dosis media podemos observar que el testigo comercial supera al producto biológico en un 0.37 %.

En la comparación de medias realizada, se puede observar que el tratamiento dos es el más sobresaliente que se localiza en el nivel A con un valor de 3.16, y el tratamiento cinco, es el que presento la menor media de la variable evaluada con un valor de 2.57. (Figura 4.2.)

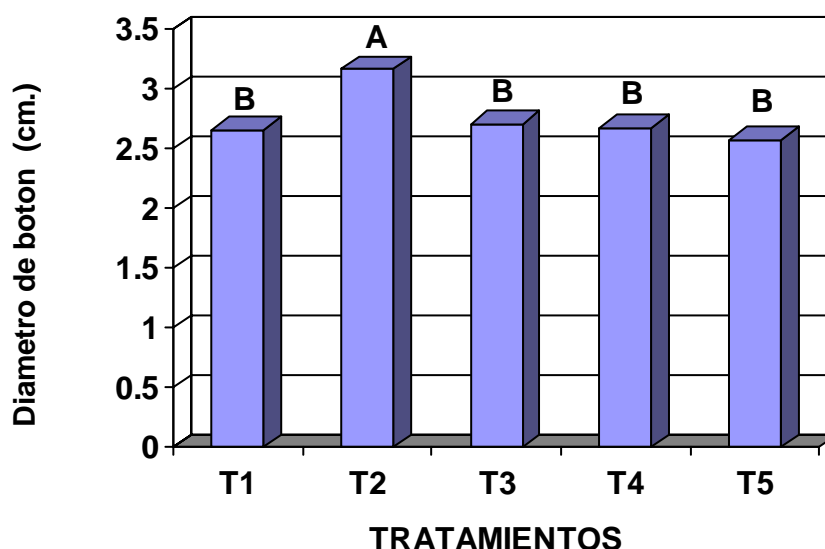


Figura 4.2. Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersión de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable diámetro de botón.

En general la presencia de cenicilla en el cultivo del rosal influye de manera significativa y negativa en el diámetro de botón, restándole calidad y valor comercial a cada uno de los tallos, por apariencia, además de que al presentar los daños de manera directa sobre las hojas, reduce el área foliar capaz de fotosintetizar, provocando con esto que la principal zona de demanda que es el botón, no disponga de los nutrientes necesarios para su óptimo crecimiento.

El mayor diámetro de botón, obtenido cuando se utilizó la dosis más alta de *B. amyloliquefaciens*, indica de cierta manera que existió un buen control de la enfermedad que se vio reflejada en una mayor actividad fotosintética y en consecuencia, en la producción de un botón con un diámetro aceptable. Sin embargo, al observar los resultados obtenidos en la

medición de la incidencia de la enfermedad, encontramos que la dosis alta del bacilo no fue la mejor controlando la enfermedad, debido posiblemente a errores de apreciación al momento en que se midió la variable en campo, un control adecuado de la enfermedad permite la formación de hojas sanas con buena actividad fotosintética que permitirá la formación de botones de calidad con buen diámetro.

Lo anterior concuerda con Agrios (1999) quien menciona que las cenicillas utilizan los nutrientes de su hospedante, disminuyen su fotosíntesis, aumentan su respiración y transpiración, disminuyen su crecimiento y reducen su capacidad productiva, a veces de un 20 a un 40 %.

LONGITUD DE TALLO

Dentro de los parámetros de calidad para rosa como flor de corte se considera a la longitud del tallo como un factor importante, que determina el precio de la flor en el mercado, así como su calidad, siendo de mayor aceptación y valor comercial los tallos con longitudes iguales o mayores a 60cm.

De acuerdo al análisis de varianza realizado para esta variable, se determina que existe una diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos, en relación al testigo absoluto y este contra el resto de los tratamientos.

El testigo absoluto reporta un valor medio de 58.2 cm. para longitud de tallo, al comparar este valor con la dosis media que equivale a 5 cc de *B. amyloliquefaciens* por litro de agua que presenta un valor de 48.3 cm. de longitud observamos que esta es superada en un 17.01 % por el testigo; para la dosis alta que cuenta con una longitud de 54.45 cm. esta se ve superada en un 6.44 % por el testigo, la dosis baja con 47.45 cm de longitud es la que presenta una diferencia mas alta siendo rebasada con un 18.47 % en comparación al testigo comercial, del cual se registro una longitud de 57.2 cm este solo presenta una diferencia del 1.71 % con respecto del testigo absoluto.

Al realizar la comparación de datos en base el testigo comercial, las diferentes dosis también presentan valores bajos, registrando un 15.55 % de diferencia para la dosis media, un 4.80 % para la alta y un 17.04 % para la dosis baja. (Figura 4.3.)

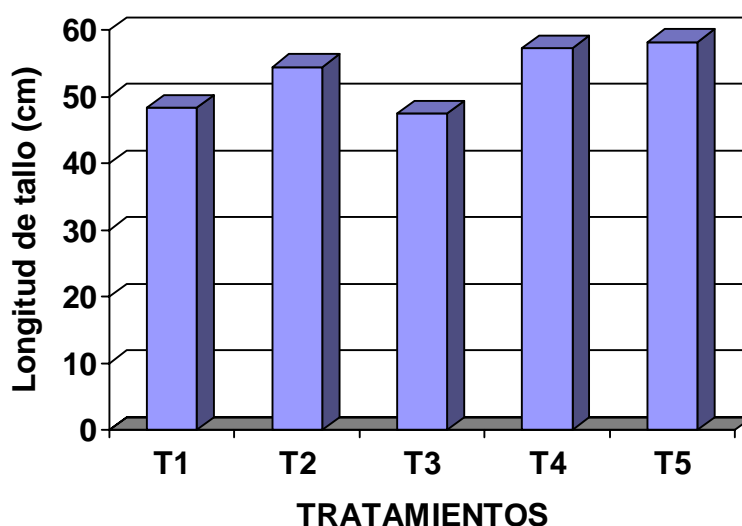


Figura 4.3 Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersion de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable longitud de tallo en cm.

Lo que indica que existe un mecanismo de defensa de las plantas que permite garantizar la sobrevivencia. Una planta con alta incidencia de cenicilla, propicia en el tallo una condición de estrés, que la definen como zona de demanda, obligando al resto de las hojas de la planta a enviar al botón, que es producido en la vara afectada por la enfermedad, una mayor cantidad de fotosintetizados que favorecen en longitud el crecimiento del tallo; lo que envían las hojas inferiores, no necesariamente son productos sintetizados por la hoja, sino reservas de estas, cuando la hoja se avieja.

La mayor longitud de tallo se obtuvo en el testigo absoluto lo que nos hace suponer que las plantas cuentan con mecanismos que les permiten sobrevivir aun en condiciones de estrés, desarrollándose en forma casi normal, lo anterior concuerda por lo descrito por Agrios (1999) quien menciona que el hecho de que los patógenos produzcan enfermedades, mediante la secreción de reguladores del crecimiento en la planta infectada o mediante los efectos que producen sobre los sistemas reguladores del crecimiento de ella, la demuestra la gran variedad de respuestas anormales que ocasionan en el desarrollo de la planta, tales como achaparramiento, crecimiento excesivo, desarrollo en forma de flor, formación excesiva de raíces, deformación de tallo, epinastia de las hojas, etc. Además de que el aumento de respiración de las plantas enfermas puede explicarse también como el resultado del aumento en su metabolismo. En la mayoría de las enfermedades de las plantas, el primer factor que se estimula es el crecimiento.

DIÁMETRO DE TALLO

Para una flor de corte el diámetro del tallo es de suma importancia ya que es el encargado de proporcionar reservas a la flor durante su vida en florero, al presentarse en este una mayor translocación de agua y nutrientes hacia la flor, que un tallo de menor diámetro, además de brindarle soporte al botón, es considerado como un parámetro importante dentro de la calidad, ya que actualmente el mercado prefiere para fines comerciales, flores con tallos gruesos y vigorosos.

De acuerdo al análisis de varianza realizado para la variable diámetro de tallo, se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos. Al realizar la comparación entre tratamientos encontramos que todos los tratamientos en los cuales se realizaron aplicaciones de *B. amyloliquefaciens* se presenta un menor diámetro de tallo que el presentado en el testigo absoluto al cual corresponde un valor de 0.637 cm. de diámetro, para la dosis normal de *B. amyloliquefaciens* se registró un diámetro de 0.544 cm. valor que en comparación al testigo absoluto representa un 14.59 % menor que el testigo absoluto; la dosis media fue registrada con 0.628 cm. equivalente a -1.41 % en comparación al testigo; en la dosis baja se presentó un valor de 0.55 cm. siendo menor que el testigo en un 13.65 %, por el contrario el testigo comercial presenta un valor de 0.659 cm. representando un 3.45 % más que el testigo.

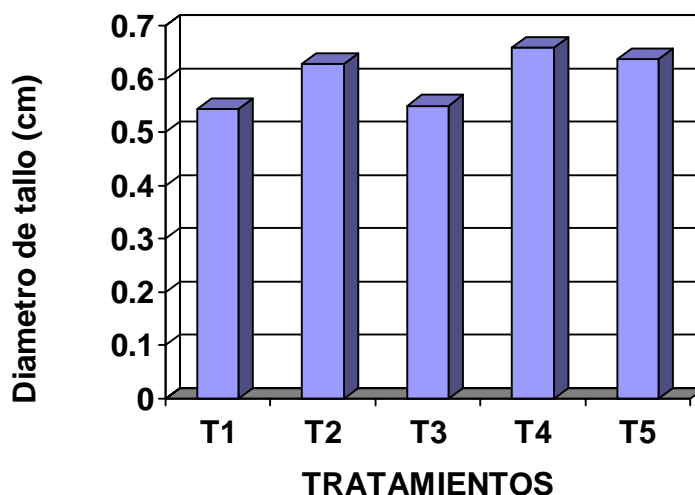


Figura 4.4 Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersion de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable diámetro de tallo en cm.

Realizando la comparación en base al testigo comercial, todos los tratamientos son superados por este, el tratamiento con la dosis normal es menor que el testigo comercial en un 17.45 %, la dosis alta presenta la menor diferencia, siendo superada en un 4.70 %, la dosis baja es menor que el testigo comercial en un 16.54 %. (Figura 4.4.)

Por lo tanto podemos suponer, que en el testigo comercial, observa un diámetro de tallo mayor debido a que existió un control mayor sobre la enfermedad, permitiendo con esto que el crecimiento de los tallos fuera normal en comparación al resto de los tratamientos, en lo que se refiere al testigo absoluto podemos concluir que la condición de estrés generada en la planta, convierte al tallo en zona de demanda, traslocando nutrientes hacia

dicha zona, provenientes de hojas ubicadas en otro docel de la planta, evitando así que su diámetro se redujera de manera considerable.

Podemos establecer que al presentarse en mayor grado la enfermedad sobre el testigo absoluto, ocurrió algo similar a lo observado para la variable longitud de tallo, suponiendo que al existir presencia de la enfermedad se pudo haber estimulado el crecimiento, favoreciendo que el diámetro del tallo no se redujera de manera considerable, por el contrario en el testigo comercial, al tener un mayor control sobre la enfermedad, se favoreció un desarrollo normal en comparación al presentado en los demás tratamientos.

NUMERO TOTAL DE FOLIOLOS POR TALLO

Esta variable es de gran importancia, ya que determina la capacidad que posee la planta para fotosintetizar y con ello su capacidad para almacenar reservas durante este proceso, influenciando finalmente las variables de calidad de las flores de rosa.

Al realizar el análisis de varianza, no se encontró una respuesta estadísticamente significativa para la variable número total de foliolos, al realizar la comparación entre tratamientos encontramos que la dosis alta, la que presentó una media de 52.8 foliolos por tallo en comparación al testigo absoluto el cual registro una media de 51.8 foliolos por tallo fue la que

presento un incremento de 1.93 % con respecto a este, siendo considerado este porcentaje de manera practica como reducido.

Por el contrario la dosis normal de *B. amyloliquefaciens* con un valor medio de 48.2 foliolos por tallo, que fue menor que el testigo en un 6.94 %, la dosis baja reportó una media de 49.9 foliolos por tallo, lo que representa un 3.66 % menor que el valor obtenido para el testigo absoluto. Al realizar la comparación entre testigo absoluto y comercial este ultimo presento un valor medio de 46.4 foliolos por tallo, siendo superado por el testigo absoluto en un 10.42 %, la condición de estrés, también propicia un aumento en el numero de foliolos.

En comparación al testigo comercial, todos los tratamientos superan el valor de este en un 3.87 %, 13.79 %, 7.54 % respectivamente, para las dosis normal, alta y baja. (Figura 4.5.)

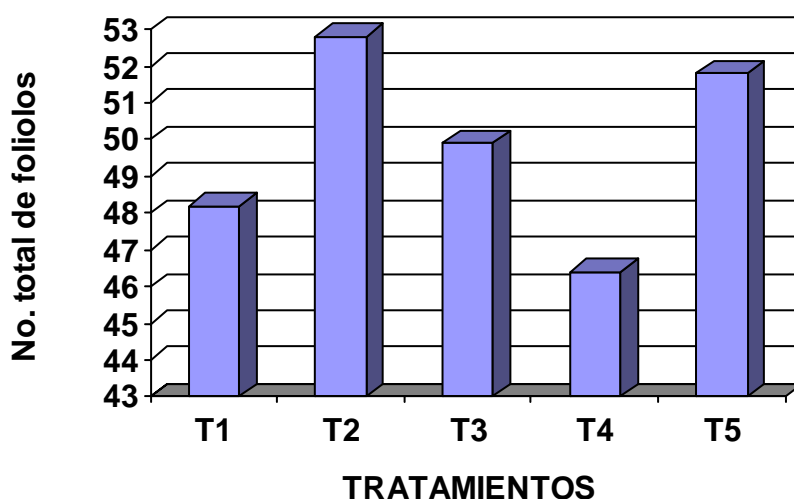


Figura 4.5 Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersion de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable numero total de foliolos por tallo.

El número de foliolos por tallo es una variable que se define por la información genética que posee la especie, conteniendo sin excepción alguna, un número impar de foliolos por hoja que van desde 1, 3, 5, 7 y en algunos casos se pueden presentar hojas de 9 u 11 foliolos, (estas últimas extraordinariamente).

Lo anterior es citado por Montañez (1993) quien menciona que el número de foliolos de la hoja madre, no define la calidad del botón floral, pero sí las del número y arreglo foliar del tallo cosechado.

PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD

Para realizar la evaluación de esta variable se obtuvieron datos de la tercera hoja pentafoliada superior, primera hoja heptafoliada media y segunda hoja pentafoliada inferior, considerándose de gran importancia, ya que son las hojas en donde se ubican las yemas gordas, las cuales dan origen a tallos de calidad comercial, por el contrario las yemas puntiagudas que se ubican en la parte apical de la vara, según Montañez (1993) dan origen a varas cortas y delgadas las cuales poseen poco valor comercial, y las yemas planas pueden dar origen a tallos ciegos.

Tercera hoja pentafoliada superior

Al realizar el análisis de varianza, correspondiente para la variable tercera hoja pentafoliada superior, obtenemos una diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos, se utilizaron para dicha comparación las medias de los resultados, lo que permite manejar la escala propuesta en valores fraccionarios, obteniendo así una mayor precisión en los resultados. Al comparar los tratamientos entre si, observamos que en el testigo comercial se registró una menor presencia de la enfermedad, con un valor medio de 0.06 en base a la escala propuesta lo cual representa un 97.6 % menos que lo registrado para el testigo absoluto el cual tiene un valor de 2.56 en base a la escala. Para la dosis alta se observa según la escala propuesta un valor de 0.62 siendo menor que el testigo absoluto en un 75.78 %, para la dosis baja se obtuvo un valor de 0.68 dentro de la escala lo que equivale a un 73.43 % por debajo del valor obtenido en el testigo absoluto, la dosis normal presento una diferencia porcentual del 32.03 % con un valor de 1.74 esto en comparación al testigo.

En la comparación de medias, realizada el tratamiento cuatro es el más sobresaliente con un valor de 1.04, por el contrario el tratamiento cinco con un valor de 2.55 es el menos sobresaliente. (Figura 4.6)

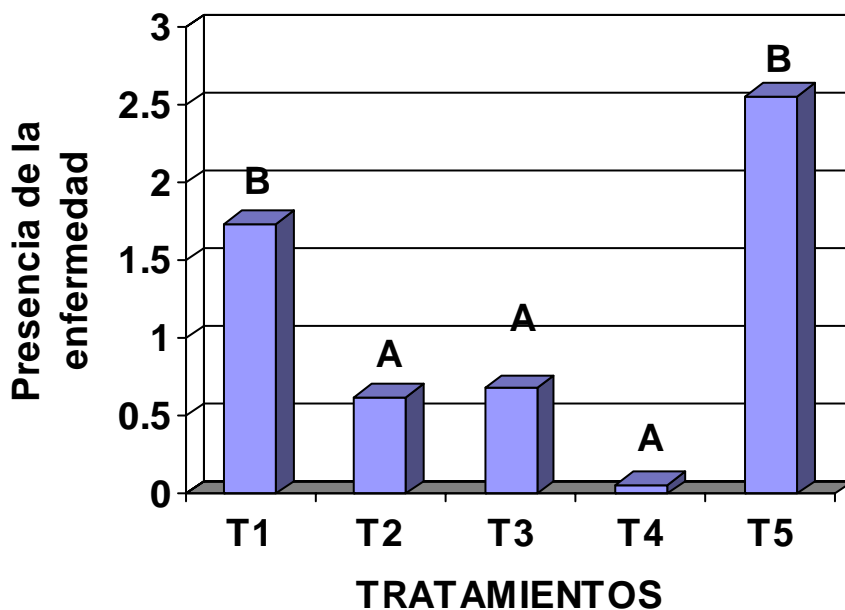


Figura 4.6 Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersión de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control para la cenicilla *S. pannosa* para la variable presencia de la enfermedad evaluada en la tercera hoja pentafoliada superior.

Primera hoja heptafoliada media

El análisis de varianza realizado para esta variable, reporta una diferencia altamente significativa entre tratamientos. Al comparar los tratamientos contra el testigo absoluto el cual presenta un valor de 2.22 según la escala encontramos que el testigo comercial es el que refleja una menor presencia de la enfermedad reportando un valor de 0.165 en base a la escala propuesta lo que equivale a 92.56 % menos de presencia de la enfermedad en comparación, al testigo absoluto.

Para la dosis alta la cual presenta un valor de 0.48 observamos que la presencia de la enfermedad se reduce en comparación al testigo en un 78.37 %. En la dosis baja se reporta un valor en base a la escala propuesta de 0.655 obteniendo un valor porcentual del 70.49 % menor que el testigo absoluto. La dosis normal es la que presenta una presencia de la enfermedad mayor con un valor de 1.465 equivalente a un 34 % menos que lo reportado para el testigo absoluto.

La comparación de media realizada muestra al tratamiento cuatro como el mejor ubicado en el grupo A, por el contrario el tratamiento cinco es el que presenta una respuesta menos sobresaliente. (Figura 4.7.)

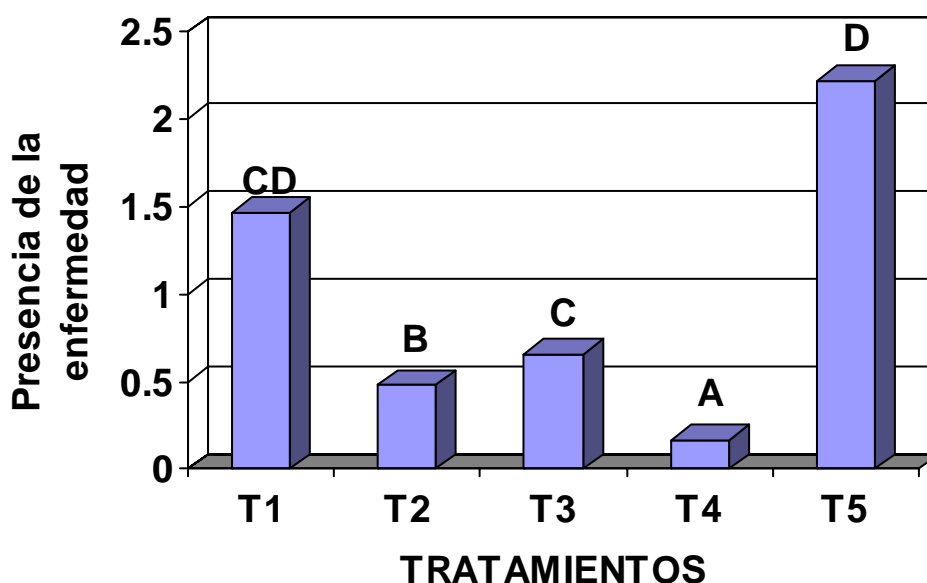


Figura 4.7 Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersion de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable presencia de la enfermedad evaluada en la primera hoja heptafoliada media.

Segunda hoja pentafoliada inferior

En base al análisis de varianza, encontramos una diferencia estadística altamente significativa obteniendo que en el testigo comercial el cual presenta un valor de acuerdo a la escala propuesta de 0.13 registrando una menor presencia de la enfermedad, al comparar este tratamiento contra el testigo absoluto con un valor de 1.88 encontramos que la presencia de la enfermedad se redujo en un 93.08 %. Para la dosis alta con valor de 0.4 la presencia de la enfermedad es menor en un 78.72 % en comparación al testigo absoluto.

En la dosis baja se reporta un valor de 0.58 lo cual reduce la presencia de la enfermedad en comparación al testigo absoluto en un 69.14 %, la dosis normal presenta un valor de acuerdo a la escala de 0.92 % siendo menor que el testigo absoluto con un valor porcentual de 51.06 %.

De acuerdo a la comparación de medias para la variable el tratamiento cuatro fue el mas sobresaliente ubicándose en el grupo A, en ultimo lugar se encuentra el tratamiento cinco que se ubica en el grupo C. (Figura 4.8)

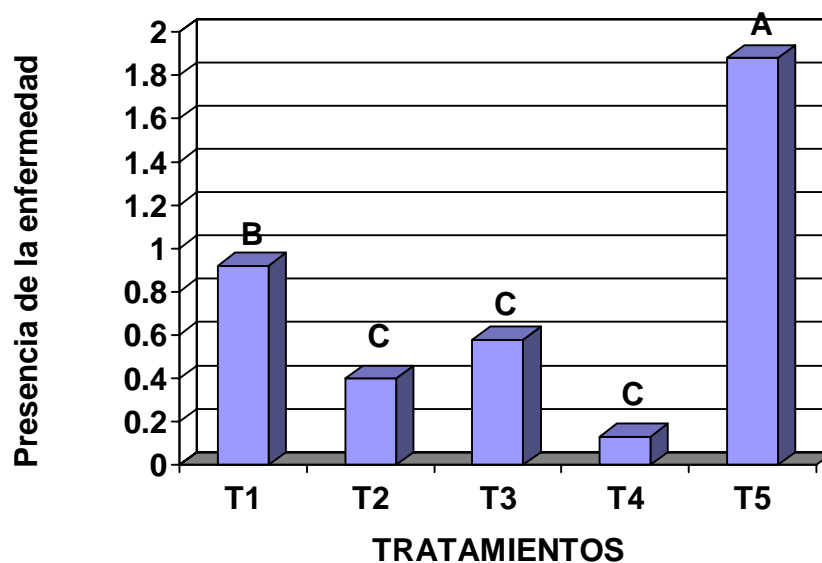


Figura 4.8 Respuesta del rosal híbrido de té, cv. Royalty a la aspersion de *Bacillus amyloliquefaciens* y su control sobre cenicilla *S. pannosa* para la variable presencia de la enfermedad evaluada en la segunda hoja pentafoliada inferior.

Montañez (1993) menciona que en los tallos de rosa existen yemas puntiagudos en la base de la hoja unifoliada, en la mitad inferior del brote las yemas son bastante planas en la base de las hojas unifoliadas, si se les forzara a floración las yemas puntiagudas producirían flores de tallos cortos.

Las yemas unifoliadas y trifoliadas de la parte superior del tallo son silepticas, esto es que crecen continuamente sin periodos de reposo, por lo que no cuentan con reservas suficientes para producir tallos de calidad comercial.

Las yemas pentafoliadas y bracteales de la parte inferior o mas baja del tallo son prolepticas, sufren un periodo de inhibición a muy temprana

edad de desarrollo, de esta manera desarrollan pequeños primordios con menor cantidad de células parenquimatosas en el tallo.

Las yemas localizadas entre el primer y segundo grupo, que cuentan con siete y cinco foliolos son también prolepticas, pero el primordio continua su desarrollo durante el periodo de inhibición, tomando reservas de la hoja donde se origina, generando tallos vigorosos, y de buena calidad comercial, es por esto que la evaluación para presencia de la enfermedad se realizo en este tipo de hojas, que son las comercialmente importantes.



Figura 4.9. Aspecto que presenta un foliolo al comienzo de la enfermedad, en base a la escala representa el número 1.



Figura 4.10. Aspecto del foliolo de acuerdo al segundo nivel de la escala.



Figura 4.11. Aspecto de los foliolos para el tercer nivel de la escala.



Figura 4.12. Aspecto de un foliolo de acuerdo al cuarto nivel de la escala.

V. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

Con base en los resultados obtenidos en la investigación; el *Bacillus amyloliquefaciens* es una especie efectiva en el control de la cenicilla polvorienta *Sphaerotheca pannosa* en rosal, pero para incrementar la eficiencia en el control, es conveniente estudiar dosificaciones mayores del producto.

El uso de *B. amyloliquefaciens* reduce ligeramente el diámetro del tallo, sin que esta reducción sea significativa y llegue a afectar la calidad.

El uso de *B. amyloliquefaciens* reduce ligeramente la longitud de los brotes, sin que esta reducción llegue a afectar de manera significativa la calidad de las varas y en consecuencia de las flores.

El manejo del producto en campo ofrece algunas ventajas, como son, no presencia de olor desagradable, de fácil dosificación, no peligroso, no costoso.

Se recomienda el uso de la escala propuesta para esta investigación en evaluaciones posteriores, debido a su facilidad para ser utilizada en campo.

REVISION DE LITERATURA

Agrios G.N. 1999. Fitopatología. Quinta reimpresión de la 2° edición. Editorial Limusa. México 838 p.

Cárdenas Vázquez Angélica 2003. Actividad antagónica de *Bacillus* sp 15 para *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*. Tesis licenciatura Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Chiou, A.L., and Wu, W.S. 2001. Isolation, identification and evaluation of bacterial antagonists against *Botrytis elliptica* on Lily. Journal of Phytopathology 149:319-324.

Guia Verde de México. 2008. La industria de flores de corte en México.

Harris A.R., and Adkins, P.G. 1999 Biological control of damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Biological control 15:10-18.

Herrera G.B., respuesta del rosal al acolchado con película plástica bajo condiciones de invernadero. Tesis licenciatura UAAAN Septiembre 2002.

Manners J.G. 1986. Introducción a la fitopatología. Primera edición. Editorial Limusa. Mexico 130p.

Mari, M., Gizzards, M., and Pratella, G.C. 1996 Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. Biological control 7:30-37.

- Montañez Borja R.F. 1993. Fenología de yemas y brote floral, requerimientos de unidades calor e influencia del diámetros y área foliar madre en Rosa (*Rosa spp*) bajo condiciones de invernadero. Tesis licenciatura Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Saltillo Coahuila.
- Nava-Díaz, C., Kleinhenz, M.D., Doohan, D.J., Lewis, M.L., and Miller, S.A. 1994. *Bacillus* spp. With potencial as biological control agents. *Phytopathology* 94:74-80.
- Pérez Salinas Roberto. Plagas y enfermedades importantes del rosal. Monografía Licenciatura Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Saltillo Coahuila.
- Virgen G.C.J. y López N. 1992. Una bacteria antagónica a *Rhizoctonia solani* "in Vitro". Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología, pp 165.
- Wulff, E.G., Mguni, C.M., Mansfeld-Giese, K., Fels, J., Lübeck, M., and Hockenhull, J. 2002. Biochemical and molecular caracterizacion of *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* and *B. pumilus* isolates with distinct antagonistic potential against *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. *Plant Pathology* 51:574-584.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., and Shirata, A. 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *Phytopathology* 91:181-187.
- Zehnder, G.W., Yao, C., Murphy, J.F., Sikora, E.R., and Kloepper, J.W. 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *BioControl* 45:127-137.

APENDICE

Cuadro A1. Análisis de varianza para la variable longitud de botón.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	0.460907	0.115227	1.9224	0.183 NS
Error	10	0.599396	0.059940		
Total	14	1.060303			
C.V.	4.85%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, NS=No significativo.

Cuadro A2. Análisis de varianza para la variable diámetro de botón.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	0.660042	0.165010	8.1696	0.004 **
Error	10	0.201981	0.020198		
Total	14	0.862022			
C.V.	5.16%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, ** Altamente significativo.

Cuadro A3. Cuadro de comparación de medias para la variable diámetro de botón.

TRATAMIENTO	MEDIA	
2	3.1670	A
3	2.7090	B
4	2.6710	B
1	2.6610	B
5	2.5753	B

Nivel de significancia = 0.05

Cuadro A4. Análisis de varianza para la variable longitud de tallo

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	298.796875	74.699219	7.3426	0.005 **
Error	10	101.734375	10.173437		
Total	14	400.531250			
C.V.	6.00%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, ** Altamente significativo.

Cuadro A5. Cuadro de comparación de medias para la variable longitud de tallo.

TRATAMIENTO	MEDIA	
5	58.2000	A
4	57.2000	A
2	54.4500	A
1	48.3000	B
3	47.4500	B

Nivel de significancia = 0.05

Cuadro A6. Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	0.033682	0.008420	3.5128	0.049 *
Error	10	0.023971	0.002397		
Total	14	0.057653			
C.V.	8.11%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, * Significativo.

Cuadro A7.- Cuadro de comparación de medias para la variable diámetro de tallo

TRATAMIENTO	MEDIA	
4	0.6590	A
5	0.6373	AB
2	0.6280	ABC
3	0.5500	BC
1	0.5440	C

Nivel de significancia = 0.05

Cuadro A8.- Análisis de varianza para la variable número total de folíolos por tallo.

FV	GL	SC	CM.	F	P>F
Tratamientos	4	81.390625	20.347656	2.4983	0.109 NS
Error	10	81.445313	8.144531		
Total	14	162.835938			
C.V.	5.73%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, NS=No significativo.

Cuadro A9. Análisis de varianza para la variable de presencia de la enfermedad tercera hoja pentafoliada superior.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	4.532360	1.133090	14.0944	0.001 **
Error	10	0.803928	0.080393		
Total	14	5.336288			
C.V.	16.46%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, ** Altamente significativo.

Cuadro A10. Cuadro de comparación de medias para la variable de presencia de la enfermedad tercera hoja pentafoliada superior.

TRATAMIENTO	MEDIA	
5	2.5583	B
1	2.1440	B
3	1.4720	A
2	1.3970	A
4	1.0400	A

Nivel de significancia = 0.05

Cuadro A11. Análisis de varianza para la variable de presencia de la enfermedad primera hoja heptafoliada media.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	3.378315	0.844579	53.8388	0.000 **
Error	10	0.156872	0.015687		
Total	14	3.535187			
C.V.	7.53%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, ** Altamente significativo.

Cuadro A12. Cuadro de comparación de medias para la variable presencia de la enfermedad en la primera hoja heptafoliada media.

TRATAMIENTO	MEDIA	
5	2.4133	D
1	1.9930	CD
3	1.4773	C
2	1.3190	B
4	1.1140	A

Nivel de significancia = 0.05

Cuadro A13. Análisis de varianza para la variable de presencia de la enfermedad segunda hoja pentafoliada inferior.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	2.144203	0.536051	33.8217	0.000 **
Error	10	0.158493	0.015849		
Total	14	2.302696			
C.V.	8.05%				

FV= Fuentes de variable, GL= Grados de libertad, SC= Suma de cuadrados, CM.= Cuadrados medios, F= Calculada, ** Altamente significativo.

Cuadro A14. Cuadro de comparación de medias para la variable presencia de la enfermedad en la segunda hoja pentafoliada inferior.

TRATAMIENTO	MEDIA	
5	2.2583	C
1	1.6560	B
3	1.4053	A
2	1.2800	A
4	1.2200	A

Nivel de significancia = 0.05