

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Manejo del Patosistema *Streptomytces scabies* Thaxter en Rabanito *Raphanus sativus* L. con *Bacillus subtilis* Conh Bajo Condiciones de Invernadero

Por:

JOSÉ ADRIÁN BUSTOS TAPIA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Enero 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Manejo del Patosistema *Streptomyces scabies* Thaxter en Rabanito *Raphanus sativus* L. con *Bacillus subtilis* Conh Bajo Condiciones de Invernadero

Por:

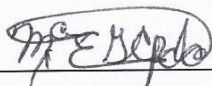
JOSÉ ADRIÁN BUSTOS TAPIA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

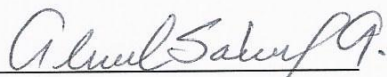
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



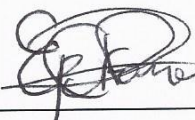
Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Asesor Principal



M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Coasesor



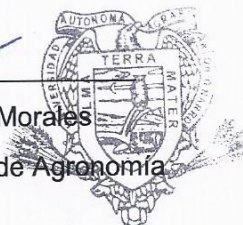
M.C Epifanio Castro Del Ángel

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Enero 2016

Coordinación
División de Agronomía

Enero 2016

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me dio fuerza y sabiduría con la que ha permitido conquistar un nuevo logro en mi vida en compañía de mi familia y amigos. Del mismo modo te agradezco que a lo largo de esta etapa tan importante en mi vida has estado presente durante todo momento.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro que es mi “Alma Terra Mater” y asimismo al Departamento de Parasitología por brindarme la oportunidad de cursar mis estudios de licenciatura.

Debo agradecer de manera especial y sincera a la Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Por su apoyo en todo momento y la confianza depositada en mi trabajo y por guiarme de la manera más correcta.

De igual manera agradecer al M.C. Abiel Sánchez Arizpe y al M.C. Epifanio Castro Del Ángel por ser parte importante como coasesores en este trabajo de tesis.

Quiero agradecer de la manera más atenta a Esteban González, Jorge Martínez, Diego Zuñiga, Dulce Lara, Daniela Jiménez, Fernanda Cesatti, Andrea Romero, Liliana Narvárez, Kathia Paola Vital, MC. Rebeca González, por ofrecerme su amistad y apoyo en los momentos que los he necesitado durante mi travesía por la universidad.

De la misma forma hacer extensa mi gratitud a mis compañeros de la generación CXX por hacerme más amena mi estancia en la UAAAN.

DEDICATORIAS

Dedicada especialmente y con todo cariño a las personas que más amo, quienes me dieron la vida y han estado a mi lado en cada momento para salir adelante.

A mis padres:

Gilberto Bustos Chagolla

Ernestina Tapia Abraham

Porque durante el transcurso de mi vida han sido el pilar para mi formación tanto personal como profesional, que a pesar de la distancia estuvieron presentes durante el transcurso de esta estancia en la universidad, teniendo siempre palabras de aliento en los momentos difíciles y compartiendo los momentos de éxito durante el lapso de esta etapa.

Así mismo dedico de la manera más atenta a Rubén Rodríguez Pérez y Gloria Teresa Aguirre Méndez quienes abrieron las puertas de su casa y me arroparon dentro de su familia durante estos cuatro años, que gracias a su compañía y cariño los hicieron más placenteros.

Y de una manera muy especial agradecerles a mis abuelos Juan Bustos Rosales, María Esther Abraham Araujo y Carlos Tapia Cabrera que con sus bendiciones y consejos tan sabios que he recibido de su parte he logrado conquistar una nueva meta en mi vida.

De igual manera dedico este trabajo a mis hermanos Mayra Alejandra Bustos Tapia y Santiago Bustos Tapia, y mi primo pero más que nada mi hermano Manuel Guadalupe Ramírez Bustos que depositaron su confianza en mí y que siempre estuvieron atentos a lo que necesitaba dándome consejos y apoyo moral para salir adelante.

De la misma forma quiero agradecer a todos mis tíos, ya que cada uno apoyó de diferente manera durante mi vida como estudiante hasta la graduación y

conclusión de mi carrera, ahora me toca emprender un nuevo camino como profesionalista esperando contar con su apoyo incondicional

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIAS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Origen Rábano	3
Generalidades	3
Clasificación Taxonomía de <i>R. sativus</i>	3
Importancia del Rábano.....	4
Descripción Botánica	5
Raíz	5
Tallo.....	5
Hojas	5
Flor	5
Fruto	6
Semilla.....	6
Sarna <i>Streptomyces spp.</i>	7
Agente causal.....	7
Ciclo de Vida de <i>Streptomyces spp.</i>	8
Clasificación Taxonómica	9
Ciclo de la Enfermedad.....	9
Sintomatología.....	10
Descripción y Denominación de Distintos Tipos de Síntomas	11
Factores que Contribuyen al Tipo de Lesión y Severidad.....	12
Condiciones ambientales.....	12
Persistencia en el Suelo y Formas de Dispersión.....	13

Manejo de la Roña.....	13
Medidas de Manejo.....	14
Prácticas culturales	14
Control biológico.....	14
Habitat <i>Bacillus subtilis</i>	15
Características Morfológicas.....	15
Clasificación Taxonómica de <i>B. subtilis</i>	16
Fisiología y Composición	16
Formas de Inhibición de <i>B. subtilis</i>	16
Antibiosis	17
Antecedentes.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Ubicación del Trabajo	19
Acondicionamiento del Área de Trabajo	19
Materiales	20
Material vegetativo	20
Material biológico.....	20
Tratamiento a las Semillas.....	20
Químico	20
Biológico	20
Obtención de Plántulas.....	21
Preparación del Sustrato para Trasplante	21
Establecimiento de la Plántula	22
Establecimiento del Experimento.....	23
Aislamiento y Caracterización de <i>S. scabies</i>	23
Preparación del medio yeast malt extract agar (YME)	24
Aplicación de la Bacteria Antagonista <i>B. subtilis</i> en Plantas Sanas	25
Inoculación de <i>S. scabies</i> a Plantas Sanas	25
Manejo del Cultivo	26
Parámetros a Evaluar	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
Obtención de Plántulas con los Tratamientos a la Semilla	28
Desarrollo del Cultivo.....	28
Caracterización de <i>Streptomyces scabies</i>	28

Evaluación de Parámetros.....	29
CONCLUSIONES	37
LITERATURA CITADA.....	38
ANEXO	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales estados productores de Rábano.....	4
Cuadro 2. Tratamientos para el establecimiento del experimento.	23
Cuadro 3. Ingredientes y dosis para el medio yaest malt extract agar YME	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Agente causal de la roña común, <i>Streptomyces scabies</i> . A, producción de melanina por colonias; B, desarrollado en placas Petri mostrando crecimiento aéreo; C, mostrando cadenas de esporas en forma helicoidal (Loria et. al., 1997).....	8
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Streptomyces scabies</i> (Sáenz, 2005)	9
Figura 3. Tipos de síntomas de <i>Streptomyces scabies</i> en tubérculos de papa (Agrios, 2005).....	12
Figura 4. Departamento e invernaderos de parasitología	19
Figura 5. Aplicación del extracto de ajo y canela sobre el área de trabajo	20
Figura 6. Semilla y caldo de <i>B. subtilis</i>	20
Figura 7. Semillas sumergida en caldo de <i>B. subtilis</i>	21
Figura 8. Siembra de la semillas tratada con <i>B. subtilis</i> en semillero.....	21
Figura 9. Plántulas de rabanito con los diferentes tratamientos a la semilla	23
Figura 10. Escala de severidad de <i>S. scabies</i> en Rábano	27
Figura 11. Crecimiento de micelio en YME (yaest malt extract agar) y estructuras de <i>S. scabies</i> microscopio estereoscopio.	29
Figura 12. Comparación de medias de crecimiento en (cm) entre los tratamientos a la semilla.	29
Figura 13. Comparación del crecimiento entre tratamientos con <i>B. subtilis</i> a la semilla y Raizal a la siembra.....	30
Figura 14. Comparación de medias de diámetro de la raíz en (cm) entre los tratamientos a la semilla.	31
Figura 15. Comparación del diámetro (cm) entre tratamientos con <i>B. subtilis</i> a la semilla y Raizal a la siembra.....	31
Figura 16. Comparación de medias de peso de la raíz en (gr) entre los tratamientos a la semilla.	32
Figura 17. Comparación del diámetro (cm) entre tratamientos con <i>B. subtilis</i> a la semilla y Raizal a la siembra.....	33

Figura 18. Comparación de medias de incidencia en Rábano en (%) entre los tratamientos a la semilla.	33
Figura 19. Comparación de incidencia (%) entre tratamientos con <i>B. subtilis</i> a la semilla y Raizal a la siembra.....	34
Figura 20. Comparación de medias de severidad en rábano en (%) entre los tratamientos a la semilla.	35
Figura 21. Comparación de severidad (%) entre tratamientos con <i>B. subtilis</i> a la semilla y Raizal a la siembra.....	36

RESUMEN

Bacillus subtilis es un organismo que se encuentra presente en el suelo, en algunos más abundantes que otros, siendo un organismo que ayuda al desarrollo y la salud vegetal. Los efectos benéficos pueden ocurrir de forma directa mediante la producción de compuestos fitoestimulantes, o indirecta mediante la síntesis de compuestos con actividad antibiótica que inhiben el crecimiento de fitopatógenos tales como *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Streptomyces*, entre otros. Siendo este último género de nuestro interés ya que en el presente trabajo se discute sobre la eficiencia del antagonismo de *B. subtilis* ante la presencia de la roña de la papa *Streptomyces scabies*.

Se asilo y caracterizo *S. scabies* de papas con lesiones por este patógeno, el cual fue aplicado a plantas sanas de rábano. Los tratamientos aplicados a la semilla fue *B. subtilis* a una concentración de 1×10^8 UFC y un enraizador químico (Raizal) a una dosis de 1gr/lt. Ya establecido el cultivo los tratamientos aplicados fue *B. subtilis* a una concentración de 1×10^6 a una dosis de 5 ml/planta, aplicación de nutrientes químicos utilizando una dosis de 1 gr/planta, así mismo se utilizó una suspensión de *S. scabies* a una concentración de 1×10^6 la cual se aplicó a una dosis de 5 ml/planta.

Como resultados se demostró que *B. subtilis* tiene la capacidad antagonista para inhibir el crecimiento de *S. scabies* siendo los mejores tratamiento 1 y 2 con inoculación de *B. subtilis* los que tuvieron una baja severidad a comparación de los tratamientos en los que se aplicó raizal a la siembra de los cuales el tratamiento 2 tuvo una alta severidad.

Palabras clave: Control biológico, *Bacillus subtilis*, Rabanito, *Streptomyces scabies*, Unidades formadoras de colonias (UFC)

Correo electrónico., José Adrián Bustos Tapia, eiidrianbuta1520@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los rábanos actualmente son verduras ampliamente cultivadas, existiendo numerosas variedades, en las que se pueden mencionar rábanos blancos, rojos y negros, su importancia de esta verdura radica en sus propiedades nutritivas al ser un alimento con bajo aporte calórico gracias a su alto contenido de agua. Tras el agua su principal componente son los hidratos de carbono y la fibra y en cuanto a su contenido vitamínico destaca la vitamina C y los folatos.

Etiopia es el principal productor de raíces y tubérculos a nivel internacional, con una producción de 5 millones 200 mil toneladas, seguida por República Democrática del Congo y Pakistán con una producción de 860 mil toneladas y 446 mil toneladas respectivamente. México cuenta con una producción de 261 mil toneladas de raíces y tubérculos (FAO, 2012), de estas, 32,261 toneladas son aportadas por el cultivo de rábano (SIAP, 2014).

Los tres principales estados productores de rábano son Puebla, Sonora y Baja California contando con una producción de 13,233 ton, 5,964 ton y 5,598 ton respectivamente, el estado de Coahuila no aparece en esta estadística ya que no cuenta con producción de este cultivo (SIAP, 2013).

Algunas de las enfermedades que afectan al cultivo se encuentran la podredumbre blanda ocasionada por *Erwinia* sp. y el mildiu vellosa ocasionado por *Peronospora parasítica*, pero por el ciclo corto y las áreas de extensión pequeñas las enfermedades no constituyen limitantes de peso en el desarrollo del cultivo.

En el caso de *Streptomyces scabies* reduce la calidad comercial de los tubérculos de papa y ocasiona una incidencia en los mismos de un 97 %, así mismo esto ocurre en bulbos y raíces de sus demás hospederos de interés comercial. La bacteria secreta una sustancia que estimula a las células vivas, rodeando la lesión produciendo varias capas de células corchosas que la aíslan. Las lesiones pueden aparecer como pequeñas protuberancias con una depresión central cubierta por tejido corchoso, que a veces abarcan toda la superficie del tubérculo.

El uso de agentes biológicos para el control de enfermedades producidas por patógenos bacterianos y fúngicos ha tomado gran importancia después de la aparición de cepas y razas resistentes a plaguicidas tales como son antibióticos y fungicidas, por lo que se ha buscado alternativas más efectivas y afines al medio ambiente, prestando atención a las propiedades controladoras de *Bacillus subtilis*.

B. subtilis es un enemigo natural de muchas enfermedades las cuales pertenecen a los géneros *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Colletotrichum*, *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Xanthomonas* y muchos géneros más. Tiene la capacidad de competir para la colonización de la rizósfera generando una barrera conocida como biofilm bacteriano produciendo sustancias antibióticas y antifúngicas; así mismo dentro de estas sustancias se encuentran enzimas solubilizantes de fosfato y que aumentan la disponibilidad de minerales importantes para el crecimiento vegetal, como zinc, hierro, calcio, etc.

Objetivos

- Evaluar, bajo condiciones de invernadero, la eficiencia de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Streptomyces scabies*.
- Comparar el porcentaje de obtención de plántula entre *B. subtilis* y un enraizador químico Raizal

Hipótesis

Se espera que al menos uno de los tratamientos de *B. subtilis* muestre una reducción en la incidencia y severidad de *S. scabies* sobre el cultivo de rábano.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen Rábano

El Rábano (*Raphanus sativus* L.) es un cultivo de origen Asiático, exactamente de China Central, que comprende las regiones montañosas y las zonas central y occidental de China. Sin embargo ya se cultivaba desde la antigüedad tanto en Grecia como en Egipto. De esta hortaliza se consume generalmente la raíz, aunque en países como Egipto se consume las hojas, en la India se consumen sus vainas carnosas y en la China se extrae el aceite de sus semillas (Torrez, 2011).

Generalidades

Es una hortaliza de clima frío, cuya temperatura media mensual debe ser de 15 a 18°C. Los rabanitos pueden sembrarse todo el año, escalonadamente. La siembra intercalada y asociada ofrecen la ventaja de que el rabanito disfrute de la semisombra que le proporciona la otra planta moderando así los efectos del calor sobre la calidad de la raíz (Giacconi y Escaff, 1998). Aunque se puede cultivar durante todo el año, únicamente en época de calor se tiende a aumentar los riegos por presencia de enfermedades (CONABIO, 2001).

Clasificación Taxonomía de *R. sativus*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Brassicales

Familia: Brassicaceae

Género: *Raphanus*

Especie: *sativus* L.

(Cronquist, 1981).

Importancia del Rábano

La importancia del rabanito radica en sus propiedades terapéuticas por la presencia en su composición de ciertos compuestos azufrados, que tienen un efecto estimulante de las glándulas digestivas que a la vez que incrementa el apetito. Por ello, su consumo está indicado en caso de anorexia así como en patologías biliares y hepáticas. Los compuestos azufrados del rábano también presentan acción antibacteriana y antiviral, además de balsámica y expectorante. Por ello se puede incluir en dietas de personas con problemas respiratorios (FRUTYHO, 2013).

El cultivo en nuestro país obedece generalmente a fines domésticos y locales aunque existen algunas explotaciones de nivel totalmente comercial. Solo algunos estados de nuestra nación sobresalen en la producción de esta verdura (Cuadro 1) (SIAP, 2013).

Cuadro 1. Principales estados productores de Rábano en México

ESTADO	Superficie sembrada (ha)	PRODUCCION (Ton)
Puebla	1,303.50	13,223.70
Sonora	295	5,964.50
Baja California	424	5,598.56
Jalisco	296.5	3,648.55
Sinaloa	116	1,699.40
Guerrero	33	315
Hidalgo	56.64	312.58
Veracruz	48	301
Yucatán	62.52	280.62
Michoacán	36.5	235.25

Descripción Botánica

Raíz

Es una especie de escaso desarrollo radicular, pues las raíces pueden encontrarse a una profundidad que oscila entre los 5 y 25 cm. Aunque en algunas ocasiones la raíz principal puede llegar a tener una profundidad de un metro y las laterales hasta de 90 cm (Giaconi y Escaff, 1998).

Durante el desarrollo vegetativo del cultivo se forman raíces tuberosas a partir de la parte superior de la raíz y del hipocótilo. Estas pueden ser de forma redonda, fusiformes, alargadas, ovaladas y cónicas, de color blanco, rojo, amarillo, negro, etc. (González, 2012).

Tallo

El tallo durante la fase vegetativa suele ser corto, con hojas que forman una roseta o corona, luego se alarga llegando a medir entre 80 y 120 cm de altura, de forma variable ya sea cilíndrico o anguloso, de color verde y pubescente (Cabrera *et al.*, 2005).

Hojas

Las hojas son imparipinnadas, de pecíolo largo y de forma ovalada, de borde dentado y el ápice más grande. Algunos autores sugieren que existe cierta proporcionalidad directa entre el tamaño de las hojas cotiledonales y el de la raíz carnosa (Cabrera *et al.*, 2005).

Flor

Las flores pueden ser de color blanco, rosado, violeta y en algunas ocasiones amarillas, son de estructura similar a la de las crucíferas. Generalmente el rábano es cosechado antes de que llegue a la fase reproductiva, sin embargo, para la producción de semilla si es necesario que produzcan flor (Giaconi y Escaff, 1998).

Fruto

El fruto es una silicua indehisciente, contrario a las otras crucíferas, en algunas especies puede alcanzar una longitud entre los 40 y 100 cm constituyéndose en la parte comestible de la planta (Cabrera *et al.*, 2005).

Semilla

La semilla tiene forma esferoidal, de color variando desde marrón a castaño claro a marrón oscuro. Bajo buenas condiciones de almacenamiento las semillas pueden conservar su viabilidad por 3 a 4 años (González, 2012).

Sarna *Streptomyces spp.*

Agente causal

Las especies de *Streptomyces* son parte importante en la biodiversidad que integra la microflora del suelo, en cuyo hábitat permanece presumiblemente como esporas más que micelio. La roña común es causada por los actinomicetos (bacterias filamentosas) *Streptomyces scabies* (Thaxter 1892) (Katznelson y Park, 1965).

Es un microorganismo filamentososo, heterótrofo, produce un micelio delgado (de casi 1 micra de espesor) que puede fragmentarse o subdividirse asexualmente originando esporas. Las esporas son de forma cilíndrica o elipsoidal, de casi 6.6 x 1.5 micras y se forman sobre hifas espirales especializadas que forman septas desde su extremo hasta su base conforme se fragmentan dichas estructuras dando origen a las esporas (Figura 1) (Agrios, 2005). Presenta gran similitud con hongos lo que se debe a su morfología pero difiere de éstos debido, al menor diámetro de su micelio (Hooker, 1981). Sin embargo, posee una estructura celular procariótica. Es un organismo aeróbico, en medios de cultivo produce filamentos y melanina que es un pigmento café oscuro (Flores, 2008).

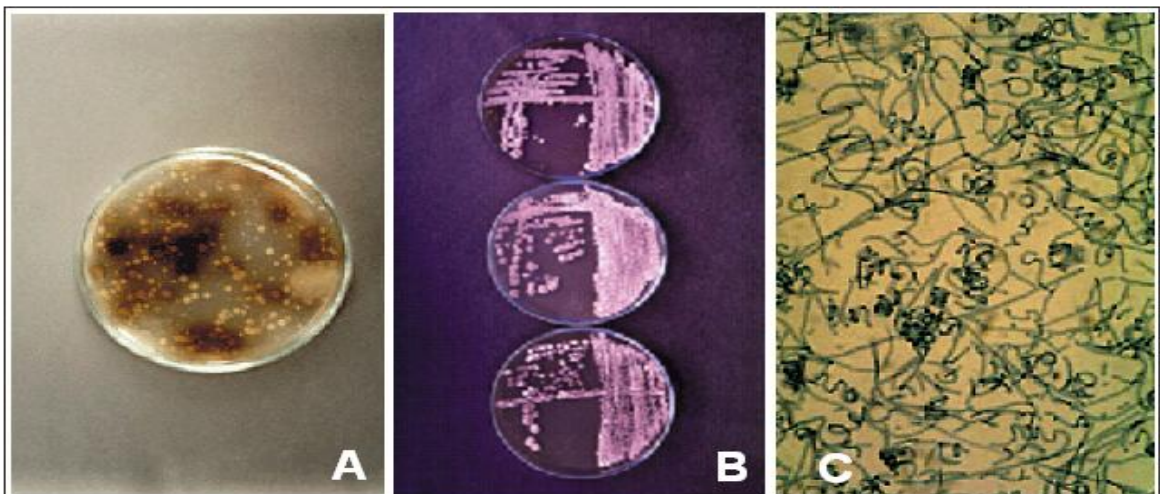


Figura 1. Agente causal de la roña común, *Streptomyces scabies*. A, producción de melanina por colonias; B, desarrollado en placas Petri mostrando crecimiento aéreo; C, mostrando cadenas de esporas en forma helicoidal (Loria et. al., 1997)

Ciclo de Vida de *Streptomyces* spp.

Los estreptomicetos presentan un ciclo de vida complejo que implica procesos de diferenciaciones morfológicas y fisiológicas. Estas bacterias son capaces de colonizar sustratos relativamente secos con restos de materia orgánica, formando una red de hifas tabicadas ramificadas que dan lugar al “micelio sustrato”. Estas hifas obtienen los nutrientes de la degradación del material orgánico insoluble gracias a numerosas enzimas hidrolíticas (Shiriling y Gottlieb, 1966).

En una primera etapa, las zonas más alejadas de la fuente de nutrientes empieza a acumular sustancias de reserva (lípidos, glucógeno, etc.), hasta que debido a la carencia de nutrientes, se reciben una serie de señales en dicha zona que disparan la expresión de genes implicados en la formación dl micelio aéreo. Estas hifas se nutrirán de los productos de degradación del “micelio sustrato”, y en una segunda etapa van a sufrir un procesos de curvatura, esporas unicelulares, que se liberan al medio y que con las condiciones adecuadas, germinaran y desarrollan un nuevo “micelio sustrato”. En contraste con otras bacterias que producen esporas como mecanismo de defensa, las especies *Streptomyces* las producen como principal método de dispersión. Las cadenas de esporas son una característica morfológica y taxonómica importante, ya que dependiendo de la especie, las formas de la cadena, pueden ser, ramificadas, en espiral o flexuosas (Figura 2)(Shiriling y Gottlieb, 1966). La producción y secreción de metabolitos secundarios, coincide por lo general con el inicio de la diferenciación morfológica, una vez terminado el desarrollo vegetativo (Loria et al., 2006)

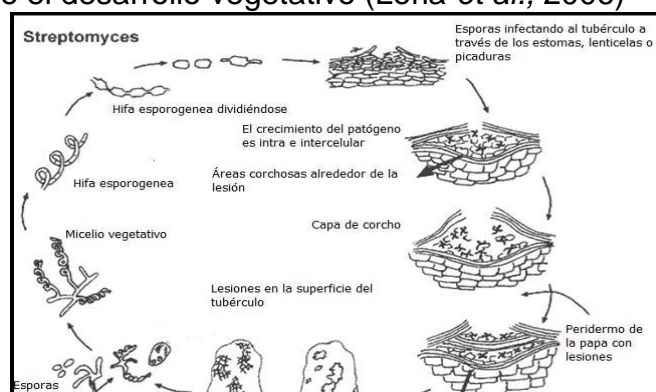


Figura 2. Ciclo de vida de *Streptomyces scabies* (Sáenz, 2005)

Clasificación Taxonómica

Reino: Procariota

División: Firmicutes

Clase: Actinibacteria

Orden: Actinimycetales

Familia: Streptomycetaceae

Género: *Streptomyces*

Especie: *scabies* (Thaxter)

(Cancino, 2003 y Janse, 2005)

Ciclo de la Enfermedad

La infección exitosa en la planta hospedera es un proceso complejo con varios pasos, requiriendo que el patógeno registre la presencia del hospedero adecuado para colonizar el tejido vegetal y para sobrevivir a la presencia de sus mecanismos de defensa. Entre los miembros de *Streptomyces* la capacidad de infectar es un poco común, si bien son conocidos por su estilo de vida saprofita, su complejo ciclo de vida y su producción de metabolitos secundarios (Bignell *et al.*, 2010).

- A) *S. scabies* invade los tejidos de los tubérculos a nivel de campo. El suelo es la principal fuente de inóculo este puede ser infectado a través de semillas contaminadas, tierra adherida a herramientas o por el transporte por el viento

y el agua. *S. scabies* sobrevive durante un tiempo indefinido en el suelo en su forma miceloide vegetativa o como esporas (Agrios, 2005).

- B) La invasión del patógeno en los tejidos se produce a través de heridas o estomas, ya que penetra a través de las aberturas naturales por las que se realiza intercambio gaseoso de la epidermis. El desarrollo de la enfermedad continua durante 6 a 8 semanas periodo en el cual el tubérculo se encuentra en crecimiento (Agrios, 2005).
- C) Las bacterias crecen sobre todo en los espacios intercelulares de las células del parénquima, solo en las regiones de la periferia de las lesiones puede encontrarse micelio intracelular, pudiendo esporular en abundancia dentro de las células (Cancino, 2003). Estas capas de células mueren y el patógeno vive a partir de ellas (Loria *et al.*, 1997).
- D) Al tomar contacto el patógeno secreta una fitotoxina, que estimula a las células vivas que rodean la lesión, a dividirse con rapidez y producir varias capas de células corchosas que la aíslan. Estas capas no solo inhiben el avance que pueda intentar el patógeno sobre las células, sino que también bloquean la difusión de cualquier sustancia que el patógeno pueda secretar. Además, estas capas detienen el flujo de agua y nutrientes desde las zonas sanas hasta la zona infectada y suprimen la nutrición del patógeno (Cancino, 2003).
- E) El sector afectado es empujado sobre la superficie del tubérculo, resquebrajándose y diseminando la bacteria hacia células vecinas. Las lesiones pueden aparecer como pequeñas protuberancias con una depresión central cubierta por tejido corchoso, que a veces abarcan toda la superficie del tubérculo. Los insectos rompen las capas de corcho y permitir que el patógeno invada el tubérculo a mayor profundidad. Las lesiones de sarna a menudo sirven como puntos de entrada, para organismos parásitos secundarios o saprofitos que hacen que los tejidos se pudran (Agrios, 2005).

Sintomatología

Inicialmente las lesiones aparecen como pequeñas (5-8 mm). A medida que el patógeno sigue colonizando el tubérculo, el huésped desarrolla heridas en la peridermis dando lugar a lesiones ligeramente elevadas, compuestas por tejido

áspero, corchoso. Estas manchas pueden unirse para formar lesiones de forma irregular, que suelen ser tanto de color marrón y de textura áspera. Los parches pueden convertirse en grietas cuando la infección progresa y adquieren una apariencia de estrella (Gouws, 2006). Las lesiones en los tubérculos son superficiales, erupciones o cavidades, las que causan pérdidas directas por reducción de la calidad del tubérculo, y por ende, de su comercialización, no así de su rendimiento o su mantención en almacenaje (Loria, 1991)

Diversos autores mencionan que las lesiones pueden variar considerablemente de aspecto, Calderoni (1978), Smith (1992); Loria (1997), pudiendo presentar los distintos síntomas en un mismo tubérculo (Hooker, 1981).

Descripción y Denominación de Distintos Tipos de Síntomas

Ya que no se cuenta con algún información sobre *Streptomyces scabies* en el cultivo de rábano, se tomó como referencia los síntomas en el cultivo de papa.

(a) Sarna normal: las lesiones son redondeadas estrelladas, con bordes agrietados o rotos, o una serie de capas irregulares, pero concéntricas de súber rodeando una depresión central.

(b) Sarna superficial: las lesiones son simplemente manchas suberosas superficiales que recubren gran parte de la superficie de los tubérculos.

(c) Sarna profunda: las lesiones pueden permanecer aisladas, pero si el ataque es grave las grietas y surcos se desarrollan hasta 1 cm de profundidad, de color café oscuro, bajo el tejido de la lesión de color café claro y traslucido. *S. scabies* es un patógeno que puede sobrevivir por tiempo indefinido como micelio o esporas en la mayoría de los suelos, exceptuando los más ácidos. También, sobrevive en restos de plantas infectadas en el suelo, pudiendo penetrar a tejidos sanos por heridas o



abe
rtur
as
natu
rale
s

(Figura 3) (Agrios, 2005).

a) Sarna normal b) Sarna superficial c) Sarna profunda

Figura 3. Tipos de síntomas de *Streptomyces scabies* en tubérculos de papa (Agrios, 2005)

Factores que Contribuyen al Tipo de Lesión y Severidad

La enfermedad resulta de la interacción entre la planta, las condiciones ambientales y el patógeno. El resultado de esta interacción se traduce en diferencia en el tipo de lesión, la incidencia y la severidad de la enfermedad de región en región (o de un campo a otro dentro de la misma región o de año en año en el mismo campo), lo que complica los esfuerzos para comprender la contribución de cada componente en la enfermedad (Wanner, 2009).

Condiciones ambientales

Los factores ambientales como la humedad del suelo y el pH parecen jugar un papel en la variabilidad, en la incidencia y la severidad de la sarna común (Wanner, 2009). Dependiendo del patógeno que esté en juego, las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad varían. La sarna causada por el agente causal más distribuido en el mundo; *S. scabies*, se asocia con estaciones secas y calientes. El mantenimiento de humedad alta en los suelos durante las etapas tempranas del crecimiento del tubérculo, es una estrategia muy usada para prevenir esta enfermedad. Sin embargo. Los brotes de sarna son frecuentes en las condiciones del suelo con irrigación o húmedo en el norte de Europa, Israel y Canadá. La alcalinidad del suelo (pH superior a 7) se ha considerado a favor de la sarna, aunque la “sarna acida” ocurre a un pH 5 o menor y es causada por *S. acidiscabies*. La evolución de las cepas de *Streptomyces* para adaptarse a las nuevas condiciones no es sorprendente, considerando la ubicación del género

junto con la transferencia horizontal de una isla de patogenicidad que poseen (Wanner, 2009).

Persistencia en el Suelo y Formas de Dispersión

La microflora normal de prácticamente todos los suelos, incluye especies de *Streptomyces* que pueden producir sarna. La densidad del inoculo inicial en los suelos puede desempeñar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Las esporas de la especie *Streptomyces* pueden sobrevivir en terrenos secos por largos periodos de tiempo, no se distribuyen uniformemente en el suelo y se producen en racimos pequeños y localizados. Ha sido documentado que las esporas de *S. scabies* pueden permanecer viables en el suelo por una década a un máximo de veinte años. Este patógeno tiene a predominar en suelos secos neutros a alcalinos (Agris, 2005). Por otra parte *S. acidiscabies* se encuentra en un suelo pH ácido, pero su habilidad para persistir en el suelo es muy pobre y usualmente es transmitido por semilla infectada (Cullen y Less, 2006).

Manejo de la Roña

El agente causal de la roña de la papa *Streptomyces scabies* se encuentra en los tubérculos y en el suelo persiste durante más de 10 años (Frank y Leach 1980; Powelson *et al.*, 1993). De los estudios hechos en esta enfermedad, se concluyó que el manejo de la roña común es un problema desafiante y puede sugerirse que debe haber un manejo integrado, es decir, tratamiento químico a la semilla, aplicación de composta, prácticas culturales para controlar la enfermedad al nivel de umbral (Srivastava y Mishra, 2004). Muy pocos fungicidas son efectivos contra los patógenos del suelo que afectan a la papa, incluyendo *S. scabies* (Harrison *et al.*, 1970; Powelson *et al.*, 1993; Johnson 1995, 1996; Loria *et al.*, 1997). El inoculo de *S. scabies* en el suelo juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad en la mayoría de los campos (Sanford, 1937; James y McKenzie 1972; Carling *et al.*, 1989), lo cual indica que el control del inoculo en el suelo es esencial para el manejo integrado de *S. scabies* (Loria, 1997).

Medidas de Manejo.

S. scabies puede encontrarse en el suelo, especialmente en aquellos para la producción de papas o en los tubérculos. La humedad en el suelo durante el manejo en el momento del ensanchamiento de la raíz puede reducir la severidad de algún tipo de sarna, además, el pH del suelo cuando es menor a 5,4 impide ataques severos de algunos tipos de sarna (Loria, 1997).

Prácticas culturales

Se recomienda realizar las siguientes prácticas culturales:

- Rotar el cultivo con maíz, trigo, cebada, alfalfa.
- El ajuste ascendente del pH del suelo es una estrategia eficaz de manejo para el moho gris por *Botrytis* en los suelos arenosos. Un pH de 6.5 – 7.0 es recomendado para la supresión de la marchitez por *Fusarium*. También lo es para con el propósito de que las plantas aprovechen mejor los elementos nutricionales y se obtengan mayores rendimientos de cosecha. Se recomienda que los mejoradores de suelo se incorporen en forma total durante la preparación del terreno para que reaccionen en este período de preformación de las camas (Agrios, 2005).

Control biológico

La aplicación de *Bacillus subtilis* (Agro Bacilo) puede ayudar a bajar la incidencia y severidad de la roña común de la papa en rábano.

Habitat *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria habitante del heno, polvo, suelo y en el agua principalmente. Esta especie es fácil de aislar de la tierra y se encuentra entre los organismos más frecuentes que aparecen cuando se siembran muestras de tierra en placas de agar (Bryan *et al.*, 1981)

Características Morfológicas

La forma de *Bacillus subtilis* es de bastones rectos o curvos, con los extremos redondeados su agrupamiento es aislado y algunas veces en cadenas cortas, su tamaño oscila entre 3 y 4 micras por 1 micra. Su formación de esporas es ecuatorial, dichas esporas son subterminales, ovales y germinan lateralmente, miden de 1.2 micras por 0.6 micras. Son bacterias tipo Gram (+), no son ácido resistentes; su flagelación es peritrica con ocho o doce flagelos (Bryan *et al.*, 1981).

Es una de las 40 especies reconocidas del género *Bacillus*, su identificación es sencilla: forma esporas termoresistentes, es catalasa y Voges-Proskauer positivo, su crecimiento en agar anaeróbico (agar nutritivo) es negativo y la hidrólisis del almidón es positiva (Slepecky y Hemphill, 1992).

Clasificación Taxonómica de *B. subtilis*

Reino: Procariota

Phyllum: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *subtilis* (Conh)

(De Castro, 2010 y Janes, 2005)

Fisiología y Composición

La temperatura óptima para el desarrollo de esta bacteria es de 37 °C, es una bacteria aeróbica y anaeróbica facultativa, forman amoniacos, reducen los nitratos a nitritos, produce ácido pero no gas, en glucosa, maltosa y sacarosa, posee una producción baja de ácido sulfhídrico, sus esporas son capa es de resistir la ebullición durante horas (Bryan *et al.*, 1981).

Formas de Inhibición de *B. subtilis*

Bacillus subtilis produce su efecto inhibitorio sobre los fitopatógenos, por lo menos por dos procesos. El primero de estos es llamado ocupación de un nicho; teóricamente por la presencia de *B. subtilis* en la superficie de la raíz, metabolizando los exudados que pueden ser utilizados por los patógenos. El segundo proceso por el que *B. subtilis* puede inhibir el ataque de los fitopatógenos es una extensión del primer proceso. Como *B. subtilis* crece en la

superficie de las raíces, esto puede producir sustancias químicas que inhiben el desarrollo de fitopatógenos (Gustafson, 1993).

Antibiosis

La acción biocontroladora de *Bacillus brevis* y *Bacillus subtilis* esta medida por la producción de metabolitos antibióticos capaces de actuar sobre microorganismos de diversa etiología; la antibiosis. Los péptidos que produce y que tiene esta acción son variados y representan un grupo no muy heterogéneo entre sí de metabolitos activos que afectan directamente a algunos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* (Edwards y Seddon, 2000).

Bacillus subtilis posee mecanismos similares respecto a *Bacillus brevis*, ha demostrado eficiencia in vitro en el control de más de 23 tipos de patógenos de plantas, la competencia frente a otros microorganismos patógenos se da mediante la secreción de diversas sustancias que se producen cuando la bacteria recibe los nutrientes presentes en la superficie de las raíces de las plantas que induce la elaboración de metabolitos secundarios con capacidad de suprimir el crecimiento de hongos, oomicetos y bacterias fitopatógenas. En general la actividad biocontroladora la ejerce mediante la producción de lipopéptidos cíclicos antibióticos entre los cuales se destacan el surfactin y el Iturin A; sustancias que han demostrado amplio espectro de acción sobre patógenos de plantas, en los que se encuentran especies de *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Septoria* y *Verticillium* (Raghavendra y Brian, 2005).

Antecedentes

Dentro del género *Bacillus* la especie con mayores antecedentes como antagonista es *subtilis*. Varios autores han analizado la liberación de compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas (Cazorla y Romero, 2007).

En otras investigaciones se ha demostrado que el *B. subtilis* produce más de una docena de sustancias con actividad antibiótica, dentro de las cuales hay péptidos sintetizados en los ribosomas y otros compuestos extrarribosomales, como aminoazúcares y fosfolípidos (Stein, 2005).

Algunas moléculas producidas por el *Bacillus subtilis* han demostrado tener un efecto antifúngico entre las que se pueden mencionar: la bacilisina, que es un dipéptido que inhibe el crecimiento de levadura, también la fengimicina, que es un lipopolipéptido que ha demostrado tener actividad contra los hongos filamentosos (Loeffler *et al*, 1986) y la proteína llamada bacisubina, la cual exhibió una actividad inhibidora del crecimiento de *Magnaporthe grisease*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria oleracea*, *A. brassicae* y *Botrytis cinerea* (Yongfeng, 2007)

B. subtilis inhibió el crecimiento in vitro de hongos, *Fusarium oxysporum* (25-34%) y *Botryodiplodia theobromae* (100%), aislado de las podredumbres de poscosecha de ñame *Dioscorea rotundata* tubérculos. Aparte del biocontrol, *B. subtilis* fue capaz de promover la elongación de las raíces de las plántulas de *Cicer arietinum* hasta 70-74% en comparación con las semillas no tratadas control. *B. subtilis* tenían también la capacidad para oxidar S elemental a sulfato (2-15 mg/ml⁻¹) y mostraron distinta actividad de P-solubilización in vitro (Swain y Ray, 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Trabajo

El presente trabajo se realizó en los invernaderos y laboratorios del Departamento de Parasitología (Figura 4) que se encuentran en localizados a la latitud 25°21'07" N y longitud 101°01'37" W, ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México.



Figura 4. Departamento e invernaderos de parasitología

Acondicionamiento del Área de Trabajo

El área de trabajo se encuentra dentro del invernadero con una superficie de 9 m², en la cual se realizó una limpieza de trabajos anteriores y se efectuó una aplicación de un insecticida a base de extracto de ajo y canela para el control de mosquita

dosis de 1
(Figura 5).

blanca a una
ml/litro de agua



Figura 5. Aplicación del extracto de ajo y canela sobre el área de trabajo

Materiales

Material vegetativo

Se utilizaron semillas rabanito de la variedad Champiñon con una madurez de 25-28 días después de la siembra (Figura 6).

Material biológico

Se utilizó caldo de *B. subtilis* nativo, aislado de Álamo *Populus alba* L. y caracterizado bioquímicamente, a una concentración de 1×10^8 UFC a escala de Mc Farland.



Figura 6. Semilla y caldo de *B. subtilis*

Tratamiento a las Semillas

Químico

Se aplicó después de haber colocado las semillas en la charola un producto Raizal a una dosis de 1gr por litro de agua para la obtención de plántulas.

Biológico

Se realizó un tratamiento a la semilla antes de la siembra sumergiéndolas y dejando remojar las semillas en caldo de *B. subtilis* (Figura 7) durante un periodo de 4 horas, con el fin de inocular la semilla que posteriormente fueron colocadas en una charola para la obtención de plántulas.

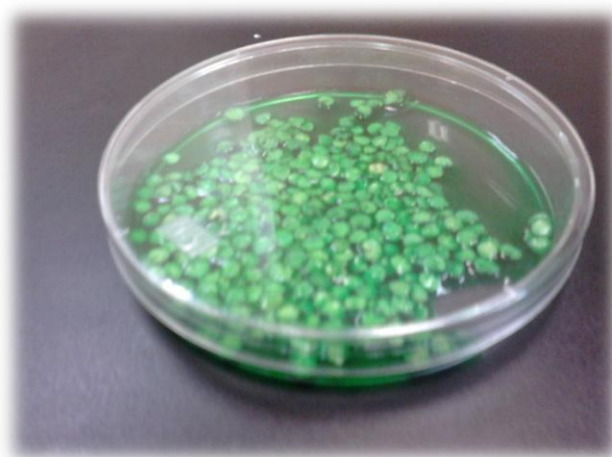


Figura 7. Semillas sumergida en caldo de *B. subtilis*

Obtención de Plántulas

Posteriormente se procedió a realizar la siembra el día 14 de Marzo del 2015 en un semillero de 200 cavidades que anteriormente fue desinfectado, posteriormente fue llenado con sustrato anteriormente humedecido, colocando 100 semillas del tratamiento con *B. subtilis* y las 100 restantes se les colocaron semillas que fueron tratadas con Raizal al final todas fueron tapadas con el mismo sustrato y dando un riego para saturar el sustrato (Figura 8).



Figura 8. Siembra de la semillas tratada con *B. subtilis* en semillero

Preparación del Sustrato para Trasplante

Para realizar el trasplante se utilizó el Peat-moos certificado y libre de patógenos al que se le agrego agua y se mezcló bien para que todo el sustrato se humedeciera uniformemente y así llenar cada una de las bolsas de vivero de 5 kg que sirvieron para el trasplante de las plántulas de rábano, que tenían un 8 en el semillero.

Establecimiento de la Plántula

El día 21 de marzo de 2015 después de haber obtenido plántulas con buen tamaño y buen desarrollo radicular se procedió a pasar las plantas en bolsas de plástico con sustrato Peat-moss y se les dio un riego para que la planta se pudiera adaptar al sustrato y no se encontraran susceptibles por estrés

causado por el movimiento de raíces o daños

al



trasplantar (Figura 9).

Figura 9. Plántulas de rabanito con los diferentes tratamientos a la semilla

Establecimiento del Experimento

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con un total de 8 tratamientos con 6 repeticiones cada uno, cada repetición cuenta con un 3 de plantas del cultivo a estudiar, contando con dos testigos absolutos: uno con la inoculación a la semilla de la bacteria de importancia *B. subtilis* y un testigo con la aplicación de Raizal en la siembra, a los cuales se les aplicara nutrición química y sulfato de estreptomicina (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos para el establecimiento del experimento.

Tratamientos	Componentes
Testigo Comercial	<i>B. subtilis</i> + N. químicos
T1	<i>B. subtilis</i> + N. Químicos + <i>S. scabies</i> + Sulfato de Estreptomicina
T2	<i>B. subtilis</i> + N. químicos + <i>S. scabies</i>
T3	<i>B. subtilis</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>S. scabies</i>
Testigo Comercial	Raizal + N. químicos
T1	Raizal + N. químicos + <i>S. scabies</i> + Sulfato de Estreptomicina
T2	Raizal+ N. químicos + <i>S. scabies</i>
T3	Raizal + <i>B. subtilis</i> + <i>S. scabies</i>

Aislamiento y Caracterización de *S. scabies*

Para cumplir con las pruebas de patogenicidad la caracterización se realizó en dos partes: la primera para obtener la bacteria patógena de interés (*S. scabies*) donde se realizaron cortes de las lesiones características de papas con ataque roña que posteriormente fueron desinfectados con hipoclorito al 2%. Posteriormente se colocaron estos cortes sobre medio de cultivo (PDA y KB), y se dejaron por 24 horas en la cámara de incubación.

Pasando las 24 horas se realizaron varias resiembras de las colonias que se obtuvieron de estos tejidos hasta obtener la bacteria de interés caracterizándola bioquímicamente.

Para caracterizar la bacteria se realizó primeramente tinción de Gram siendo esta

Ingredientes	Dosis
Extracto de levadura	4.0 gr/lt
Extracto de malta	10.0 gr/lt
Dextrosa	4.0 gr/lt
Agar	20.0 gr/lt

prueba muy importante en la bacteriología debido a que con este método se puede diferenciar los organismos Gram (+) o Gram (-) y se dice si aún se sigue trabajando con este con esta cepa.

Al terminar la tinción de Gram se procedió a cultivar la cepa en un medio específico para *S. scabies* YME (Yaest Malt Extract Agar)

Preparación del medio yaest malt extract agar (YME)

Para la preparación de este medio se necesitó de los siguientes ingredientes (Cuadro 3):

Cuadro 3. Ingredientes y dosis para el medio yaest malt extract agar (YME)

Ya teniendo los ingredientes se procedió a realizar los cálculos correspondientes para preparar medio litro, se pesó y se procedió vaciar cada uno de los ingredientes en un matraz con 500 ml de agua destilada, posteriormente se agitó a fuego lento para que se disolvieran los ingredientes. Ya disueltos todos los

ingredientes en seguida se puso a esterilizar el medio en una olla de presión a una presión de 15 libras por 30 min. Después de haber esterilizado el medio se esperó a que tomara a una temperatura adecuada para poder vaciarlo en cajas petri, pudiendo vaciar el medio en 20 cajas.

Ya caracterizada nuestra bacteria se procedió a reproducirla masivamente tomando una asada de una colonia y colocándola en un litro de caldo nutritivo, realizando todo esto en un área asepsia, que posteriormente seria aplicado a las plantas de rábano según sea el caso.

La segunda fase de caracterización se realizó al término del experimento, donde se tomaron algunas muestras del material vegetativo con mayor severidad, con las cuales se llevó acabo el mismo procedimiento descrito anteriormente.

Aplicación de la Bacteria Antagonista *B. subtilis* en Plantas Sanas

Se aplicó una suspensión de *B. subtilis* a una concentración de 1×10^6 UFC a escala de Mc Farland a una dosis de 5 ml por planta directamente sobre la raíz de la planta. Estas se mantuvieron a temperatura ambiente en el invernadero, dándoles el riego requerido a las plantas esto con el fin de que el inculo tuviera las condiciones necesarias y se replicara para brindándoles protección a las plantas ante el agente causal de la bacteria estudiada.

Inoculación de *S. scabies* a Plantas Sanas

El inoculó de *S. scabies* se aplicó a los ocho días después de haber aplicado el tratamiento de *Bacillus subtilis* con el fin de que cuando se aplicara el inculo de la enfermedad la planta ya contara con algo de protección por parte del *Bacillus* además como ya se sabía el *B. subtilis* cumple también como nutriente a las plantas por ello después del trasplante no se les realizo ningún tipo de plan nutricional.

Se tomó 5 ml para cada planta de la suspensión de *S. scabies* que se encontraba a una dosis de 1×10^6 UFC a escala de Mc Farland la cual fue aplicada a través de la raíz, para que la infección fuera más rápida y así poder recolectar síntomas en poco tiempo.

Manejo del Cultivo

A los 25 días de haber sido establecido el cultivo se realizó una aplicación de urea a una dosis de 1gr por cada planta de rabanito y a los 38 días fue aplicado Triple 17 a la misma dosis que fue aplicada la urea. De igual manera a los 52 días se aplicó Sultron (Azufre) para el control de la cenicilla.

Así mismo se aplicó un insecticida de extracto de ajo a los 35 días a una dosis de 3ml/lit para el control de mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y a los 46 días se realizó una segunda aplicación y colocada una trampa amarilla.

Durante los primeros 20 días después de establecido el cultivo hubo presencia de ratas, para el control de estas se utilizaron cebos con gránulos de Furadan y se pusieron trampas pegajosas en los lugares de concurrencia.

Parámetros a Evaluar

Para medir el efecto de los diferentes tratamientos propuestos en el experimento se realizó una evaluación hasta la cosecha, en la cual se evaluó:

Incidencia: se expresa en porciento, de acuerdo al número de plantas que tuvieran lesiones provocadas por *S. scabies* entre el total de plantas muestreadas.

Severidad: la severidad de la enfermedad fue expresa a una escala creada tomando como referencia la escala propuesta por James (1971) (Figura 10).

Así mismo como la altura de la planta, el diámetro de la raíz y el peso dela misma.

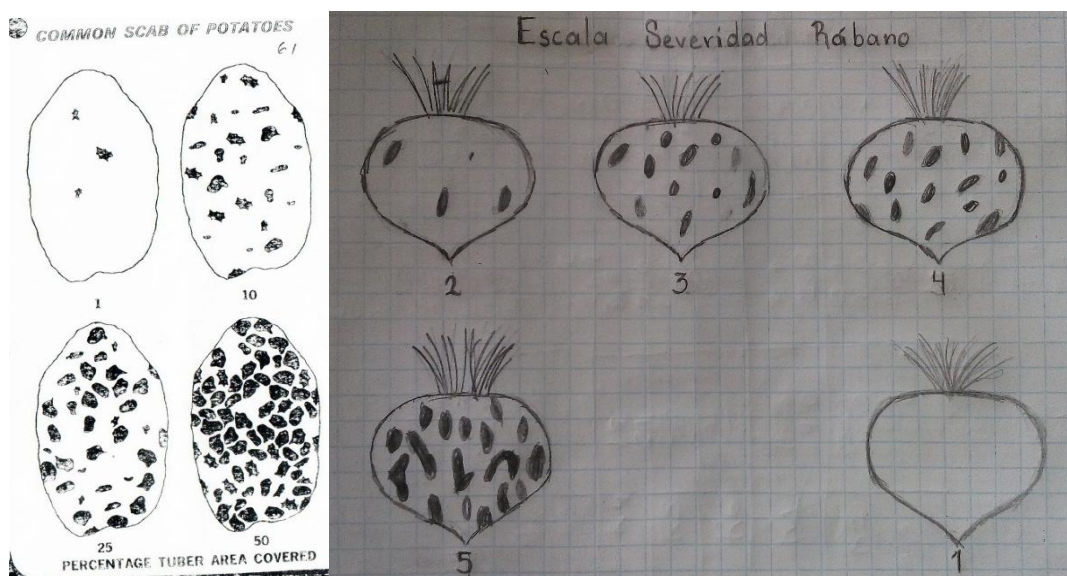


Figura 10. Escala de severidad de *S. scabies* en Rábano

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de Plántulas con los Tratamientos a la Semilla

Como resultados obtenidos tenemos que de las 100 semillas de cada tratamiento con *B. subtilis* y Raizal puestas a germinar obtuvimos un 94 % de germinación en el caso del raizal y un 95 % en el caso del *B. subtilis* de las cuales se trasplantaron 72 plántulas de cada tratamiento el día 21 de Marzo para iniciar con el trabajo de investigación.

Desarrollo del Cultivo

En el método de trasplante hubo un 100% de adaptabilidad de plantas así mismo que se estuvo al pendiente en caso de que se presentaran deficiencias corrigiéndolas con la aplicación de urea y triple 17. En la fase vegetativa y reproductiva se presentó mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) para la cual se necesitaron dos aplicaciones de un insecticida a base de extracto de ajo y canela y una trampa de color amarillo colocada al ras del cultivo.

Las enfermedades que se presentaron fueron principalmente cenicienta polvorienta (*Erysiphe spp.*), y la bacteria estudiada sarna (*S. scabies*).

Otro problema durante la fase vegetativa del cultivo fue la presencia de ratas, para la captura de estas se utilizaron cebos con Furadan y se colocaron trampas pegajosas en lugares estratégicos por donde pudieran entrar.

Caracterización de *Streptomyces scabies*

Los resultados expresados en la prueba de tinción de Gram dieron positivo y de acuerdo al manual de Schaad *et al.* 2001 se procedió a realizar la siembra en el medio específico (YME) para *S. scabies* en el cual se expresó un crecimiento favorable, donde se obtuvo un crecimiento de micelio. De este micelio se realizó una monta donde se obtuvo un resultado con las estructuras específicas de *S. scabies* (Figura 11).

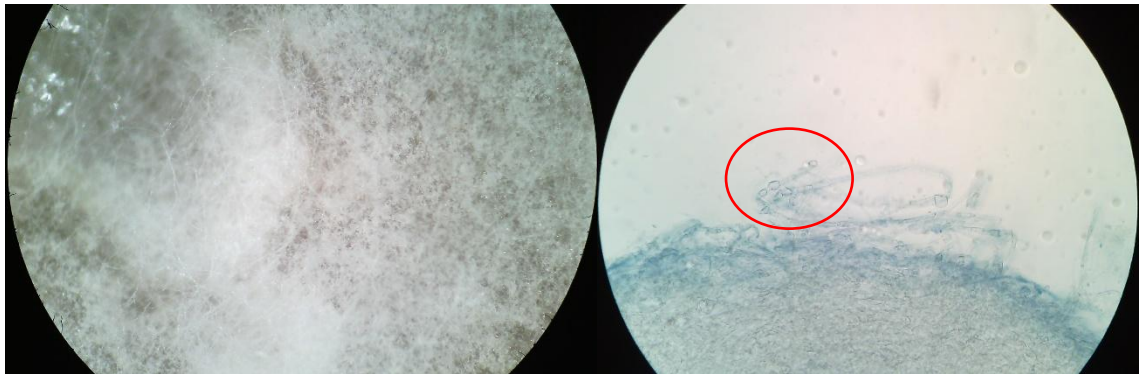


Figura 11. Crecimiento de micelio en YME (yaest malt astract agar) y estructuras de *S. scabies* en microscopio estereoscopio.

Evaluación de Parámetros

El análisis de varianza detectó diferencia significativa entre tratamientos a nivel de $P \leq 0.05$. Conforme a la (Figura 12) se observa que se obtuvo mayor crecimiento con en el tratamiento de *B. subtilis* aplicado a la semilla esto se debe ya que de acorde a las investigaciones realizadas por Idris *et al.* (2002) detectaron altos niveles de AIA en filtrados de cultivos celulares de cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus subtilis*.

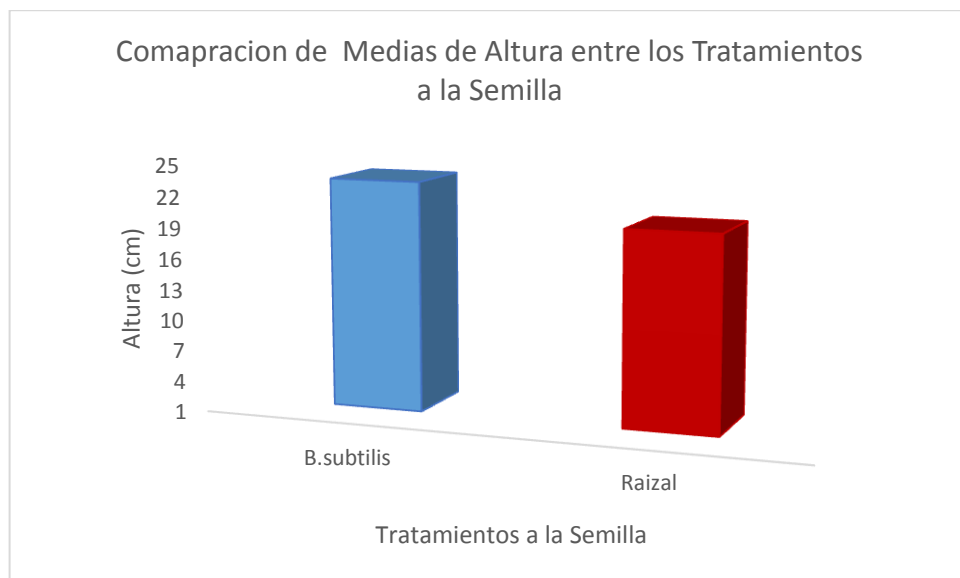


Figura 12. Comparación de medias de crecimiento en (cm) entre los tratamientos a la semilla.

La comparación de las medias muestran que la mayoría de los tratamientos con inoculación de *B. subtilis* a la semilla a excepción del tratamiento 1 mostraron

mayor crecimiento como puede observarse en la (Figura 13), en particular el mejor tratamiento que obtuvo mayor crecimiento fue el testigo comercial con inoculación de *B. subtilis*, por otro lado tanto el tratamiento 1 con *B. subtilis* y el testigo comercial y el tratamiento 3 con Raizal a la siembra mostraron el menor crecimiento siendo el tratamiento 3 con raizal el que obtuvo menor crecimiento. En tanto a los tratamientos 2 y 3 con inoculación de *B. subtilis* a la siembra mostraron una similitud en el crecimiento junto a los tratamientos 1 y 2 con raizal a la siembra.

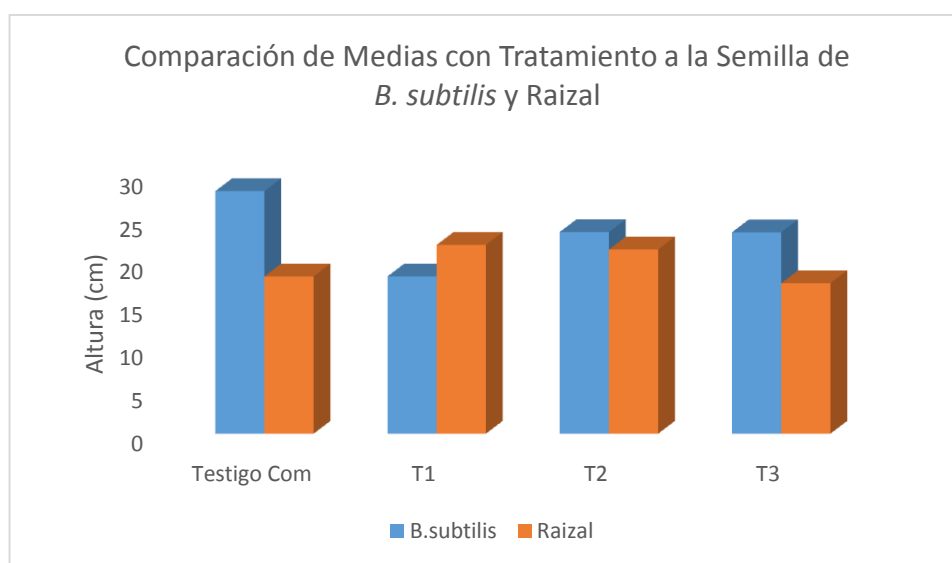


Figura 13. Comparación del crecimiento entre tratamientos con *B. subtilis* a la semilla y Raizal a la siembra

El análisis de varianza no detectó diferencia significativa entre tratamientos a nivel de $P \leq 0.05$. De acuerdo a la (Figura 14) a pesar de no haber gran diferencia entre las medias de los tratamientos, el tratamiento con Raizal a la semilla tuvo mejor resultado en cuanto al diámetro de la raíz del rábano, esto puede deberse a que a pesar de no tener gran altura las plantas tenían un buen desarrollo foliar que permitió marcar una pequeña diferencia.

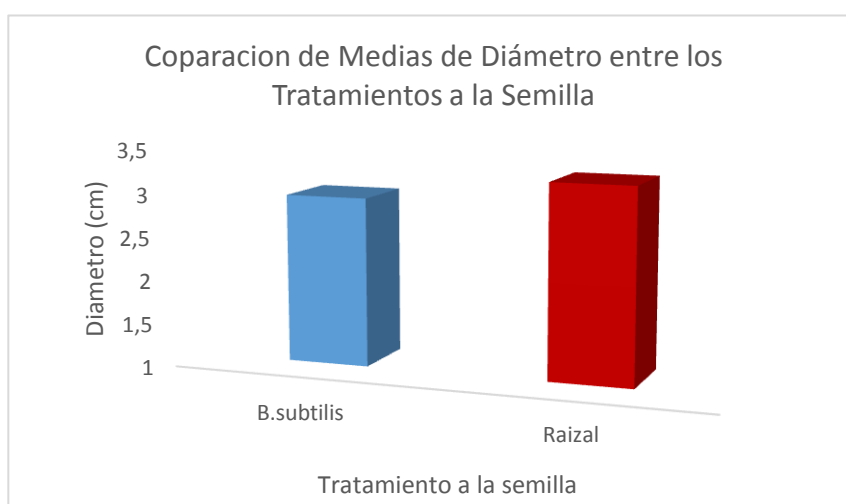


Figura 14. Comparación de medias de diámetro de la raíz en (cm) entre los tratamientos a la semilla.

Al comparar las medias de la (Figura 15) muestra que el testigo comercial y los tratamientos 1 y 3 con inoculación de *B. subtilis* en la semilla tienen gran similitud con el testigo comercial y el tratamiento 3 de Raizal a la siembra ya que muestran un diámetro que va de 2.7 – 3.0 cm, de manera particular el tratamiento que presentó una media menor en cuanto al diámetro es el tratamiento 3 con inoculación a la semilla. Así mismo el tratamiento 1 con inoculación de *B. subtilis* en la semilla y los tratamientos 1 y 2 con enraizador químico a la siembra mostraron semejanza en cuanto al diámetro en una escala que va de 3.2 – 3.5 cm, siendo de estos el tratamiento 2 con Raizal a la siembra el que obtuvo mayor diámetro.

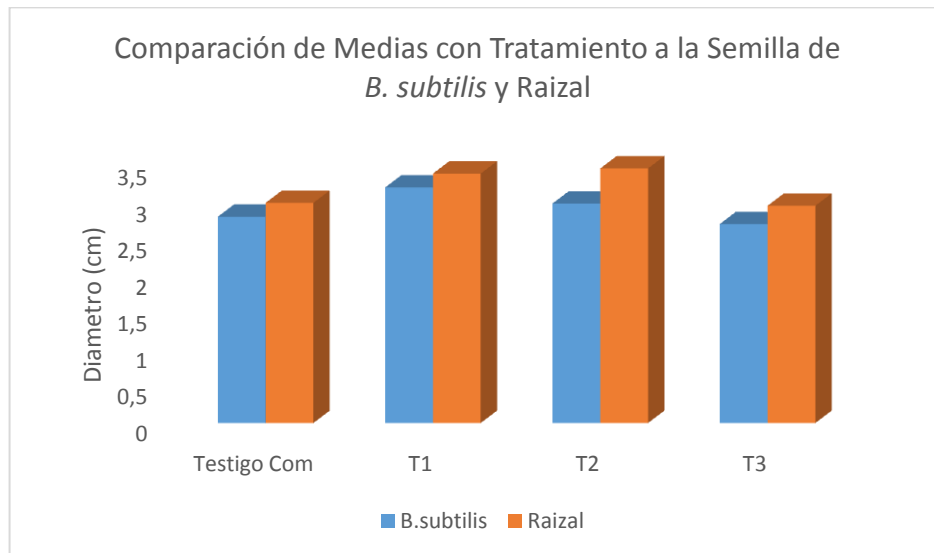


Figura 15. Comparación del diámetro (cm) entre tratamientos con *B. subtilis* a la semilla y Raizal a la siembra.

El análisis de varianza detectó diferencia significativa entre tratamientos a nivel de $P \leq 0.05$, conforme a la (Figura 16) a pesar de no haber una marcada diferencia entre las medias de los tratamientos, el tratamiento de raizal a la siembra obtuvo

un mayor peso, este resultado también puede deberse a que se tenía un buen desarrollo foliar, lo cual permitió tener más fotosintatos y por ende mejor peso.

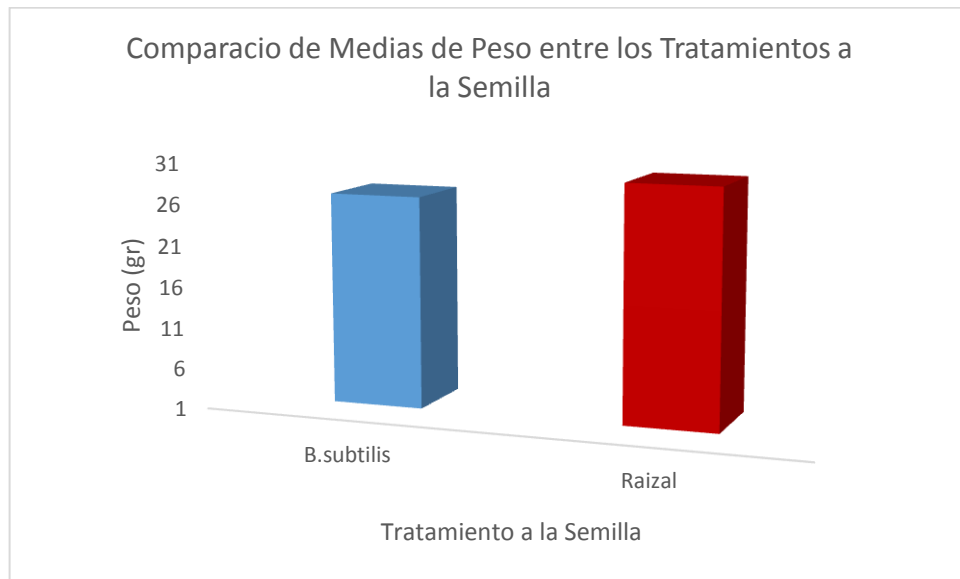


Figura 16. Comparación de medias de peso de la raíz en (gr) entre los tratamientos a la semilla.

Conforme a la (Figura 17) muestra que el mejor tratamiento en cuanto al peso fue el tratamiento 1 con inoculación de *B. subtilis* en la semilla pero no marco una gran diferencia con el tratamiento 1 y 2 con Raizal a la siembra ya que las medias entre estos tratamientos son semejantes. En cuanto al testigo comercial con raizal y el tratamiento 3 con inoculación de *B. subtilis* mostraron de igual manera una similitud en sus medias de pesos. Los tratamientos que mostraron las menores medias de peso fueron los tratamientos 2 con *B. subtilis* a la siembra, el tratamiento 3 con Raizal y el testigo comercial con *B. subtilis*, siendo este último el tratamiento que mostro menor peso a comparación de los demás tratamientos.

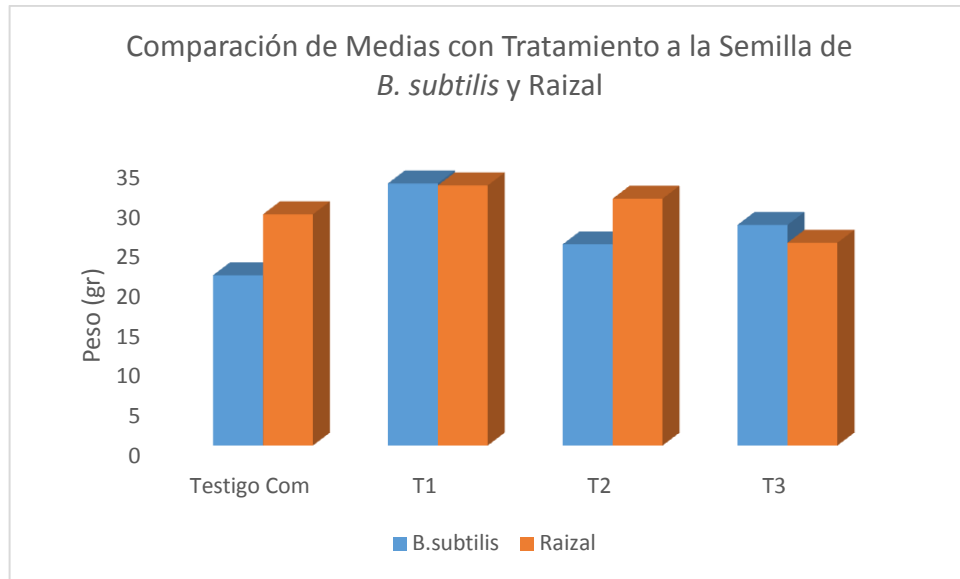


Figura 17. Comparación del diámetro (cm) entre tratamientos con *B. subtilis* a la semilla y Raizal a la siembra.

El análisis de varianza detectó no diferencia significativa entre tratamientos a nivel de $P \leq 0.05$, en cuestión de la incidencia en el rábano, los tratamientos no mostraron ninguna diferencia como se muestra en la (Figura 18), esto puede deberse a que la distancia entre tratamientos era muy corta por lo cual hubo una diseminación de la bacteria por salpicadura cuando se realizaban los riegos ya que de acuerdo con Frank y Leach (1980) el agente *Streptomyces scabies* se encuentra en el suelo y permanece viable durante más de 10 años.

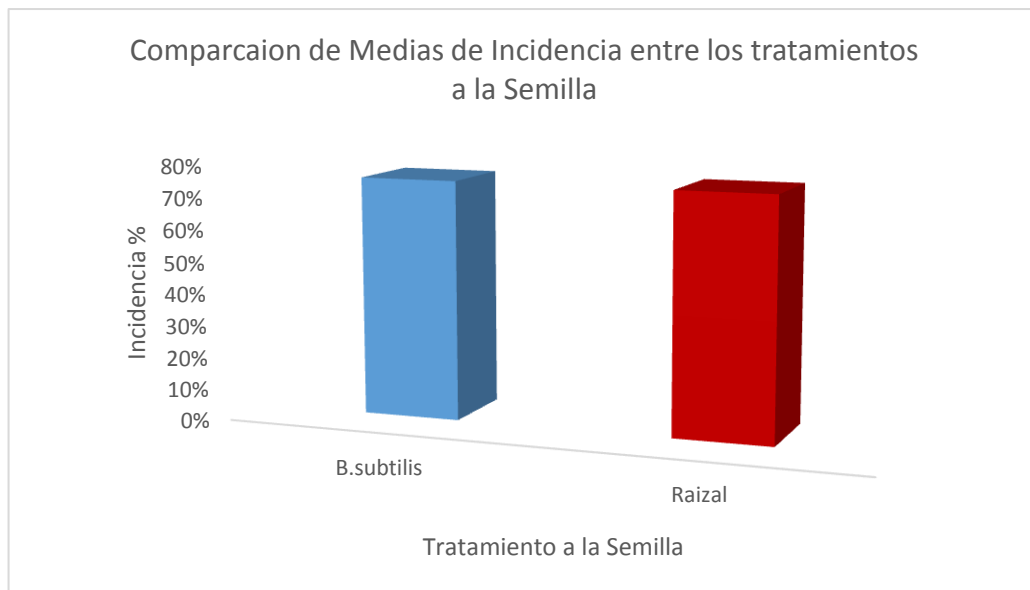


Figura 18. Comparación de medias de incidencia en Rábano en entre los tratamientos a la semilla.

Al observar las medias expresadas en la (Figura 19) se muestra una similitud, ya que los porcentajes de incidencia son similares entre algunos tratamientos. El testigo comercial con Raizal a la siembra muestra el nivel más bajo de incidencia con un 58%, siendo que este no debería de haber presentado síntoma alguno pero fue infectado por la cercanía entre los tratamientos, así mismo el tratamiento que mantuvo la misma incidencia fue el tratamiento 1 con inoculación de *B. subtilis* a la semilla, siguiéndoles a estos, el tratamiento 2 con inoculación de *B. subtilis* y el tratamiento 3 con Raizal que tuvieron un 67% de incidencia. En cuanto al testigo comercial con inoculación de *B. subtilis*, que por la cercanía entre tratamientos fue infectado, junto al tratamiento 2 con Raizal tuvieron un 83% de incidencia, siendo el tratamiento 3 con inoculación de *B. subtilis* y el tratamiento 1 con Raizal los que tuvieron mayor incidencia de *S. scabies* con un 92%.

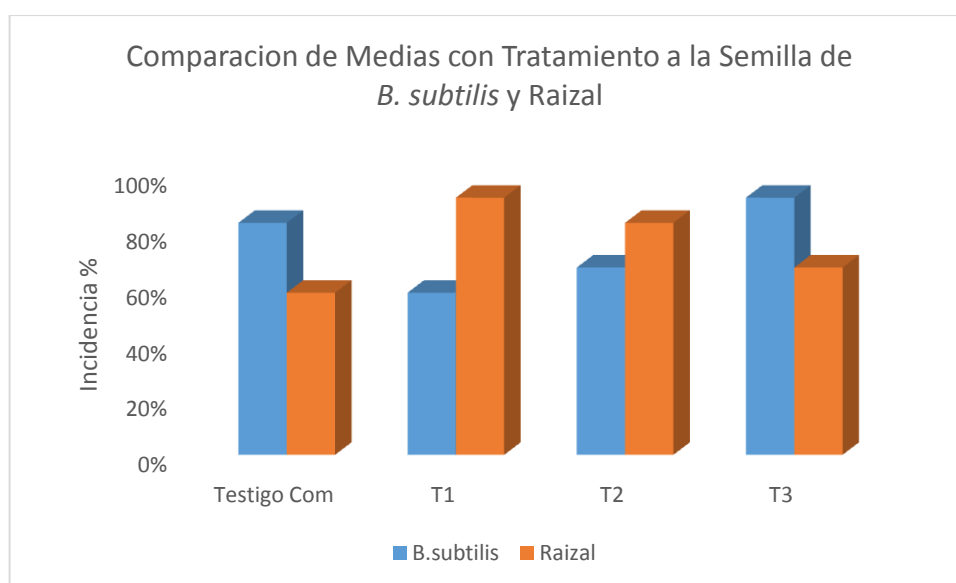


Figura 19. Comparación de incidencia entre tratamientos con *B. subtilis* a la semilla y Raizal a la siembra.

El análisis de varianza no detectó diferencia significativa entre tratamientos a nivel de $P \leq 0.05$, en cuanto al daño en el Rábano, refiriéndose a la parte comercial de este, el mejor tratamiento como se muestra en la (Figura 20) fue el de *B. subtilis* ya que ofreció mayor protección a comparación de la media con los tratamientos propuestos con Raizal a la siembra. De acuerdo a Chen *et al.* (2009) y León *et al.* (2009) las cepas de *Bacillus* en especial las cepas de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* tienen la capacidad de sintetizar compuestos de tipo

lipopeptídico, en particular la fengicina, surfactina e iturinas que han mostrado su efectividad para suprimir el crecimiento de fitopatógenos.

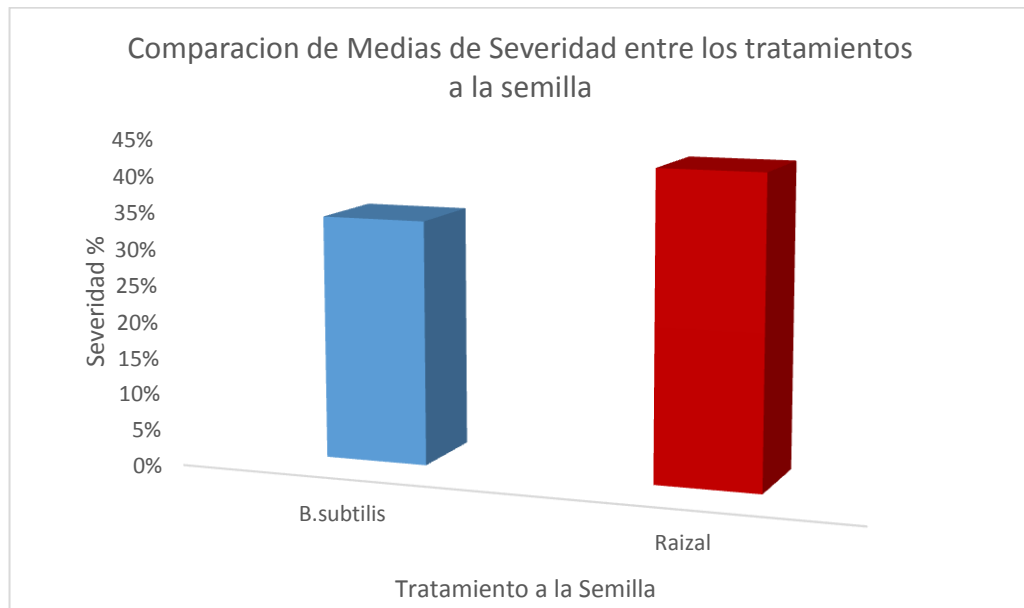


Figura 20. Comparación de medias de severidad en rábano en (%) entre los tratamientos a la semilla.

A pesar de los resultados expresados de incidencia en la (Figura 19) se muestra que *B. subtilis* mantuvo una baja severidad en la mayoría de sus tratamientos. Como se observa en la (Figura 21) los que tuvieron una baja severidad con tan solo un 21% fueron los tratamientos 1 y 2 con inoculación de *B. subtilis* a la semilla, seguidos del testigo comercial con el mismo tratamiento a la semilla que los anteriores. En cuanto a los demás tratamientos tuvieron una media por arriba del 50% de severidad, siendo el tratamiento 1 con Raizal a la siembra el que tuvo mayor severidad con un 92%, seguido del tratamiento 2 con el mismo tratamiento a la semilla con un 83% de severidad. Por lo que respecta al tratamiento 3 con inoculación de *B. subtilis*, el tratamiento 3 y el testigo comercial con Raizal a la siembra tuvieron una similitud en severidad dentro de una diferencia que va de 58%-68%.

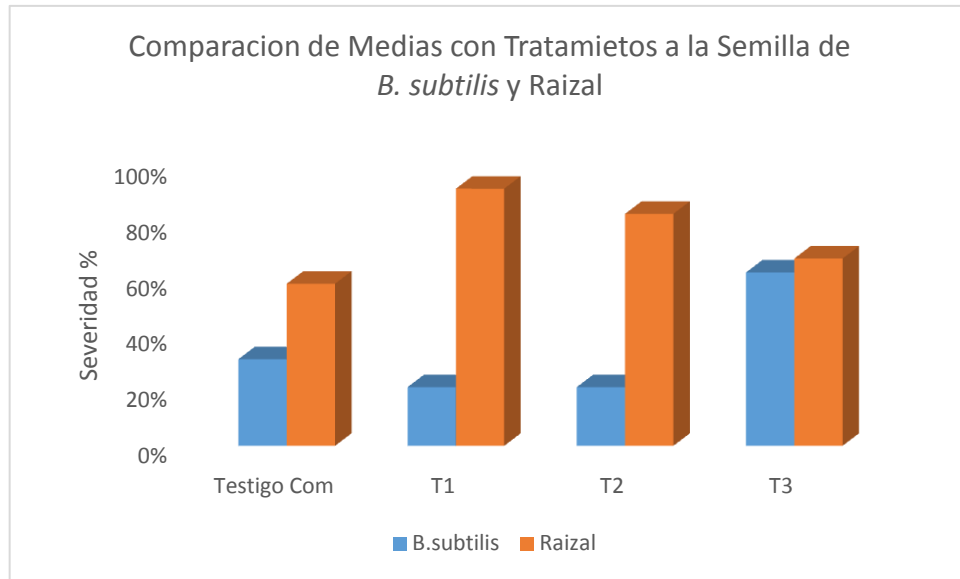


Figura 21. Comparación de severidad (%) entre tratamientos con *B. subtilis* a la semilla y Raizal a la siembra.

CONCLUSIONES

Conforme a las condiciones en las que se desarrolló el presente trabajo se concluye:

1. *B. subtilis* controla a *S. scabies* y se comportó de forma similar al combinarlo con nutrientes químicos y bactericida comercial.
2. No existió diferencia entre el uso de *B. subtilis* y el enraizador comercial para la obtención de plantula.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5^{ta} Edition. Elsevier Academic Press. San Diego. CA. USA. Pág. 922.
- Bignell D.R., J.C. Huguet-Tapia, M.V. Joshi, G.S. Pettis and R. Loria. 2010. What does it take to be a plant pathogen: genomic insights from *Streptomyces* species. Antonie Van Leeuwenhoek DOI 10.1007/s010-9429-1
- Bryan A. J. 1981. Bacteriología Principios y Prácticas. Ed. C.E.C.S.A. 6^a. Ed. México D.F. Pp. 162-163.
- Cabrera., M., M.; V., Galán., S.; F., González., T.; L., H., Fernandez., Cano.; J., V., Maroto., B.; J., M., Mateo., B.; J., Navarro., F.; C., De la Puerta., C.; C., Rojo., H., y S., Zaragoza., A. 2005. Prontuario de Agricultura. Grupo Mundi-Prensa. D. F. México. Pág. 613-615.
- Calderoni, A. 1978. Enfermedades de la papa y su control. 3^{ra} Edición. Argentina. Hemisferio Sur. Pág. 141.
- Cancino L.S. 2003. Evaluación del daño causado por *Streptomyces scabies* (Thaxter) sobre tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* ssp. *Tuberosum* Hawkes.) Durante el almacenaje. Tesis de grado Universidad Austral de Chile
- Carling, D.E., Leiner, R.H., y Westphale, P.C. 1989. Symptoms, signs, and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato reduced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. Am. Potato J. 66. Pág. 693–701.
- Cazorla, F. y Romero. D. 2007. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity. J Appl Microbiol 103. Pág. 1950-1959
- Centro internacional de la papa (CIP). 1998. La papa en cifras: Producción, Uso, Consumo, Comercialización. [Fecha de consulta 26 de Septiembre de 2014]. [En línea: <http://www.cipotato.org/market/Potatofacts/papapdf/papaprod.pdf>].
- Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Schneider, K., Vater, J., Süssmuth, R., Piel, J. y Borriss, R. J. 2009. "Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens". Biotechnology. 140. Pág. 27-37.

- CONABIO. 2001. *Raphanus sativus* L. Rábano. . [Fecha de consulta 20 de Octubre 2015]. [En línea: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/brassicaceae/raphanus-sativus/fichas/ficha.htm>].
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Copyright. Columbia University Press.
- Cullen, D., W. y A., Less., K. 2006. Detection of the nec1 virulence gene and its correlation with pathogenicity in *Streptomyces* species on potato tubers and in soil using conventional and real time PCR. *J. Appl. Microbiol.* 102. Pág. 1082-104
- De Castro, L. N. G. 2010. *Bacillus subtilis*. [Fecha de consulta 6 de octubre de 2014]. [En línea: http://www.eppo.org/QUARANTINE/bacteria/Xanthomonas_vesicatoria/XANTVE_ds.pdf].
- Edwards, S. G. y Seddon. B. Selective medium based on tyrosine metabolism for the isolation and enumeration of *Brevibacillus brevis* (*Bacillus brevis*). *Lett Appl Microbiol.* 2000 [Fecha de consulta 18 de Octubre de 2011]. [En línea: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTREVIS1_BACILLUS.pdf].
- FAO. 2012. Estadísticas de Producción de Raíces y Tuberculos. Food and Agricultural Organization.
- Flores-González, R., I. Velasco, y F. Montes. 2008. Detection and characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Western Europe. *Plant Pathology.* 57. Pág. 162-169.
- Frank, J. y Leach., 1980. *Rhizoctonia*sis, costranegra. In: Hooker, W. J. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional. De la Papa. Lima, Perú. Pág. 73-75
- FRUTYHO, 2013. Frutas y Hortalizas. Rábano (*Raphanus sativus*). . [Fecha de consulta 1 de Diciembre 2014]. [En línea: <http://www.frutas-hortalizas.com/Hortalizas/Presentacion-Rabano.html>].
- Giacconi, M., V., y M., Escaff., G. 1998. Cultivo Hortalizas. Editorial Universitaria. Santiago de Chile, Chile. Pág. 251-254.

- González, R., L. 2012. La Huerta en Macetas, Cultivo de Vegetales en Espacios Pequeños. Ediciones Lea. Buenos Aires, Argentina. Pág. 25-32
- Gouws R. 2006. Etiology and integrated control of common scab on seed potatoes in South Africa. Master's Thesis. University of Pretoria, South Africa. .
- Gustafson. 1993. Technical Bolletín Kodiak, Plano Texas. E.U.A. Pág. 19
- Hooker, W. 1981. Compendium of potato diseases. Minnesota. United States of America. APS Press, St Paul. Pág. 125
- Idriss, E., E., S., Makarewicz, O., Farouk, A., Rosner, K., Greiner, R., Bochow., H, Richter., T., Borriss, R. 2002. "Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 45 contributes to its plant-growth-promoting effect". Microbiology 148. Pág. 2097–2109
- James, W.C., y McKenzie, A.R. 1972. The effect of tuberborne sclerotia of *Rhizoctonia solani* Kuhn on the potato crop. Am. Potato J. 49. Pág. 296–301.
- Janse, J. D. 2005. Phytobacteriology, Principles y Practice. CABI Publishing. Pág. 282-285
- León, M., M. Yaryura, P., S. Montecchia, M., I. Hernández, A., S. Correa O., L. Pucheu, N., L. Kerber, N. y F. García, A. 2009. "Antifungal activity of selected indigenous pseudomonas and bacillus from the soybean rhizosphere". International Journal of Microbiology. 57. Pág. 20-49.
- Loria R., J. Kers and M. Joshi. 2006. Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. Annu. Rev. Phytopathol. 44. Pág. 469-487.
- Loria, R. 1991. Vegetable Crops: Potatoscab. Cooperative Extension, New York State, Cornell University. Fact Sheet. 8. Pág. 725.
- Loria, R; Braghida, B. y FRY, B. 1997. Plant pathogenicity in the genus streptomyces. Plant disease. 81 (8). Pág. 836 – 846.
- Powelson, M.L., Johnson, K.B., y Rowe, R.C. 1993. Management of diseases caused by soilborne plant pathogens. In Potato health management. Edited by R.C. Rowe. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minn. Pág. 149–158.
- Raghavendra, J. y Brian. B. Identification and Characterization of Novel Genetic Markers Associated with Biological Control Activities in *Bacillus subtilis*. 2005. [Fecha de consulta 18 de Octubre de 2014]. [En línea:

http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTREVIS1_BACILLUS.pdf].

- Sanford, G.B. 1937. Studies on *Rhizoctonia solani* Kuhn. II. Effect on yield and disease of planting potato sets infested with *Sclerotia*. Sci. Agric. 17. Pág. 601–611.
- Schad, N. W., J. Jones, B. y W. Chun. 2001. Plant Pathogenic Bacteria. APS Press, The American Phytopathological Society. St Paul, Minesota. 3ed. Pág. 236-242.
- Shirling E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for caracterizacion of *Streptomyces* species. Int. J. Syst. Bacteriol. 16. Pág. 313-340
- SIAP. 2014. Estadísticas de Rabanito Siembras y Cosechas. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Slepecky R., A. y E. Hemphill. H. 1992. The Genus *Bacillus* Nonmedical Cap. En The Prokaryotes 2a. Edición. Ed. Dworkin M, Schleifer KH y Stackebrandt, Springer Verlag, New York, EUA
- Smith, M. DUNEZ, J. Ielliot, R. phillips, D y Archer, S. 1992. Manual de enfermedades de la plantas. Madrid (España). Mundi- prensa. Pág. 671.
- Srivastava y Mishra, .2004. Common scab of potato in India: varietal screening and disease management. Department of Mycology and Plant Pathology, Institute of Agricultural Sciences, Banaras Hindu University, Varanasi- 221005, India. IPSS: 2004.
- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Molecular Microbiology. Vol. 56. Pág. 845-857.
- Swain M.R. y R. Ray. C. 2006 Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cowdung microflora. [Fecha de consulta 20 de Octubre 2014]. [En línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501307000079>].
- Torrez, T., M., S. 2011. Evaluación del cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.) variedad Crimson Giant Utilizando Sustratos Mejorados y Determinación de los Coeficientes “Kc” y “Ky”, Bajo riego. Tesis para obtener el título Ingeniería Agrícola Para el Desarrollo Sostenible. Universidad Nacional Agraria Facultad de Agronomía. Managua. Nicaragua.

- Wanner L.A. 2006. A survey of genetic variation in streptomycetes isolates causing potato common scab in the United States. *Phytopathology*. 96. Pág.1363-1371.
- Wolfgang, L. 1986. Antifungal Effects of Bacilysin and Fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29-3 A Comparison with Activities of Other *Bacillus* Antibiotics. *Journal of Phytopathology*. Volume 115. 3. Pág. 204–213.
- Youngfeng, L. 2007. Bacisubin, an Antifungal protein with ribonuclease and hemagglutinating activities from *Bacillus subtilis* strain B-916. Vol. 28. Pág. 553–559.

ANEXO

Parámetros

**a Evaluar
Rábano**

**en
con**

		Altura	Diámetro	Peso	Incidencia	%Severidad
Testigo comercial	R1	18.75	2.95	23.75	2	42%
	R2	32.95	1.55	6.9	2	42%
	R3	23.5	2.85	23	2	25%
	R4	16.5	3.6	23	2	42%
	R5	47.5	2.7	15.75	1	19%
	R6	30	3.25	36	1	19%
	Promedios	28.2	2.82	21.40	83%	31%

Tratamiento de *B. subtilis* a la Semilla

		Altura	Diámetro	Peso	Incidencia	%Severidad
Tratamiento 1	R1	23.5	1.75	12.05	2	42%
	R2	19.75	3.55	35.15	1	19%
	R3	17	2.55	17.2	2	25%
	R4	17.5	4.05	49.75	1	19%
	R5	25	2.95	27	1	19%
	R6	7	4.45	56.5	0	0%
	Promedios	18.29	3.22	32.94	58%	21%

		Altura	Diámetro	Peso	Incidencia	%Severidad
Tratamiento 2	R1	20.5	2.7	20.25	2	25%
	R2	5.9	2.45	21.75	1	19%
	R3	18.05	3.45	26	1	19%
	R4	53.5	2.45	18.5	2	25%
	R5	32.25	3	18.5	1	19%
	R6	10.5	3.95	46.75	1	19%
	Promedios	23.45	3.00	25.29	67%	21%

		Altura	Diámetro	Peso	Incidencia	%Severidad
Tratamiento 3	R1	27.75	2.65	22	1	25%
	R2	41.5	2.1	12.25	2	75%
	R3	9.75	2.5	16.5	2	75%
	R4	21.5	2.35	15.4	2	90%
	R5	16.25	3.85	52.5	2	42%
	R6	23.75	2.85	47.75	2	66%
	Promedios	23.42	2.72	27.73	92%	62%

Altura Diámetro Peso Incidencia Escala de

Parámetros a Evaluar en Rábano con Tratamiento de Raizal a la Semilla

		Altura	Diámetro	Peso	Incidencia	%Severidad
Testigo comercial	R1	8	3.15	39.5	2	25%
	R2	31.5	1.4	8.5	0	0%
	R3	26.75	2.25	12.65	1	25%
	R4	17	4.3	48.65	1	19%
	R5	8.75	2.6	15.3	2	75%
	R6	17.75	4.35	49.75	1	25%
	Promedios	18.29	3.01	29.06	58%	28%

		Altura	Diámetro	Peso	Incidencia	%Severidad
Tratamiento 1	R1	27.5	2.2	12.25	2	50%
	R2	32.25	3.8	38	1	25%
	R3	5.5	4.1	54	2	50%
	R4	20.5	3.75	36.5	2	66%
	R5	17	4.25	42.4	2	42%
	R6	29	2.35	13	2	42%
	Promedios	21.96	3.41	32.69	92%	46%

						severidad
Tratamiento 2	R1	22	3.25	35.75	2	42%
	R2	22	3.8	32.6	0	0%
	R3	22.5	2.75	20.9	2	50%
	R4	17	3	23.35	2	66%
	R5	19	3.35	21.1	2	66%
	R6	26	4.7	52.5	2	66%
	Promedios	21.42	3.48	31.03	83%	48%

						Escala de severidad
						Incidencia
						Peso
						Diámetro
						Altura
Tratamiento 3	R1	11	2.5	12.2	2	25%
	R2	8.25	2	4.15	1	50%
	R3	30.5	2.5	15.1	1	42%
	R4	21.75	2.15	24.65	1	50%
	R5	13	4.55	52.8	2	66%
	R6	20.5	4.1	43.95	1	50%
	Promedios	17.50	2.97	25.48	67%	47%

Procedimiento ANOVA *S. scabies*

Variable dependiente: Altura Rábano

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Repetición	5	159.1917187	31.8383437	0.27	0.9253
Tratamiento	7	534.8128646	76.4018378	0.65	0.7093
Error	35	4094.216198	116.977606		
Total Correcto	47	4788.220781			

Coef Var 50.15

Variable dependiente: Diámetro Rábano

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Repetición	5	8.43901042	1.68780208	2.71	0.0357
Tratamiento	7	3.04869792	0.43552827	0.70	0.6715
Error	35	21.76723958	0.62192113		
Total Correcto	47	33.25494792			

Coef Var 25.63

Variable dependiente: Peso Rábano

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Repetición	5	2930.179219	586.035844	2.92	0.0264
Tratamiento	7	682.588281	97.512612	0.49	0.8383
Error	35	7025.85953	200.73884		
Total Correcto	47	10638.62703			

Coef Var 50.23

Variable dependiente: Incidencia Rábano

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Repetición	5	10000.00000	2000.00000	2.63	0.0406
Tratamiento	7	8333.33333	1190.47619	1.56	0.1792
Error	35	26666.66667	761.90476		
Total Correcto	47	45000.00000			

Coef Var 36.80

Variable dependiente: Severidad Rábano

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Repetición	5	1732.354167	346.470833	1.10	0.3785
Tratamiento	7	9386.979167	1340.997024	4.25	0.0017
Error	35	11035.14583	315.28988		
Total Correcto	47	22154.47917			

Coef Var 46.59