



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLAN



**EPIDEMIOLOGIA Y MANEJO DE LA ROYA BLANCA**  
**(*Puccinia horiana* P. Henn.) DEL CRISANTEMO**  
**(*Chrysanthemum morifolium* Ram.) EN VILLA GUERRERO,**  
**ESTADO DE MEXICO.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
INGENIERO AGRICOLA  
P R E S E N T A :  
JOSE ALBERTO RODRIGUEZ NAVARRO

DIRECTOR: DRA. EMMA ZAVALETA MEJIA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1995

FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FEB-CUAUTITLÁN  
PRESENTE.

AT'NI: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Epidemiología y manejo de la roya blanca (Puccinia horfana P. Henn.) del crisantemo (Chrysanthemum morifolium Ram.) en Villa Guerrero, Estado de México"

que presenta el pasante: José Alberto Rodríguez Navarro  
con número de cuentas: 8620864-0 para obtener el TÍTULO de:  
Ingeniero Agrícola. ; en colaboración con:

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE.  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 17 de febrero de 1995.

PRESIDENTE M. en C. Mo. del Yasmín Cuervo Usan  
VOCAL Ing. Hilda Carina Gómez Villar.  
SECRETARIO Biol. Marcos Espadas Reséndiz  
PRIMER SUPLENTE Ing. César Maycotte Morales  
SEGUNDO SUPLENTE Ing. Angel López Cortez

UAE/DEP/VAP/03

FALLA DE ORIGEN

## DEDICATORIA

- A DIOS: Por permitirme realizar una de las metas más importantes de mi vida.
- A MIS PADRES: ELENA y SALVADOR, a quienes debo lo que soy, porque siempre han sido fuente de unidad, dignidad, amor y comprensión, con lo cual han guiado mi camino, a ustedes mi eterno agradecimiento.
- A: VICKY, en quien siempre he encontrado comprensión, cariño y apoyo incondicional, por lo que este trabajo es fruto del esfuerzo constante de los dos y representa el primer gran paso en nuestro camino.
- A MIS HERMANOS: ROSA, JUAN, CARLOS, CRISTINA, TERESA, LUCINA y ADRIANA, por su cariño y apoyo que siempre me han brindado.
- A MIS ABUELITOS: SEBASTIANA, y a la memoria de FLORENTINO, ANTONIA y MIGUEL, quienes a través de su ejemplo me enseñaron lo valioso de la vida y del trabajo, por medio del cual se puede lograr todo lo que uno se propone.
- A MIS SOBRINOS.

## A G R A D E C I M I E N T O S

Al pueblo de México, a la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios profesionales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto 1260.

A la Dra. Emma Zavaleta Mejía por su valioso apoyo, asesoramiento e interés mostrado en el desarrollo de la investigación y por transmitirme parte de su enorme conocimiento.

Al Biol. Marcos Espadas Reséndiz por participar como coasesor en la investigación y por el tiempo brindado en la revisión y sugerencias realizadas al trabajo.

A los integrantes del jurado: M. C. Ma. del Yazmín Cuervo Usan, Ing. Hilda Carina Gómez Villar, Biol. Marcos Espadas Reséndiz, Ing. César Maycotte Morales, Ing. Angel López Cortes, por las correcciones y sugerencias realizadas al presente trabajo.

A todos los profesores de Ingeniería Agrícola que de alguna forma participaron en mi formación profesional.

A mis compañeros de la "Catorceava Generación" con quienes compartí buenos momentos y en especial a Victor, César S., Angela, Verónica, César L., David, Jorge y Julio.

"Es de importancia fundamental entender que la enfermedad es una condición de fisiología anormal y que el límite que separa la salud de la enfermedad es vago y difícil de definir"

(Marshall, W. H. 1854-1906)

"Cada vez que las pequeñas semillas de la roya se depositan en las hojas, encontrando algunas bocas abiertas de los vasos exhalantes, incrustan sus fibras radicales diminutas y se infiltran ahí de tal forma que se injertan en las débiles y delicadas arterias características de la planta".

(Targioni-Tozzetti, H. 1712-1783)

"La nuestra es una campaña militar para combatir los agentes que destruyen nuestras plantas. No podemos librar exitosamente esta campaña sin conocer la magnitud de la capacidad del enemigo para destruir".

(Starr, C. K. 1906- )

"Finalmente, sólo era cosa de poner a prueba un gran número de remedios, asegurándose de sus méritos, que fueran fáciles de aplicar, tomando en cuenta sobre todo la economía de su aplicación y de ganar la confianza del agricultor.

(Tillet, M. 1714-1791)

## CONTENIDO

	Págs.
LISTA DE CUADROS .....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	vi
RESUMEN .....	ix
INTRODUCCION .....	1
OBJETIVOS .....	6
REVISION DE LITERATURA	
1. Roya Blanca del Crisantemo	
1.1. Agente Causal .....	7
1.2. Importancia y Daños .....	9
1.3. Infección y Síntomas .....	10
1.4. Variación Genética del Crisantemo .....	11
1.5. Ciclo del Patógeno .....	12
2. Epidemiología Agrícola	
2.1. Concepto .....	13
2.2. Componentes Epidemiológicos .....	15
2.2.1. Planta Hospedera .....	15
2.2.2. Patógeno .....	16
2.2.3. Ambiente .....	16
2.3. Desarrollo de Epidemias .....	17
2.3.1. Patógenos Monocíclicos .....	18
2.3.2. Patógenos Policíclicos .....	18

2.4. Análisis Temporal de Epidemias .....	19
2.4.1. Modelos de Análisis de Epidemias .....	20
3. Estrategias de Manejo de Enfermedades	
3.1. Métodos Físicos .....	22
3.1.1. Polímeros (Cubiertas Epidermales) .....	23
3.2. Biológicos .....	24
3.2.1. Organismos Antagónicos .....	26
3.2.1.1. <u>Bacillus spp</u> .....	28
3.2.2. Organismos Micoparásitos .....	29
3.2.2.1. <u>Verticillium lecanii</u> .....	30
3.3. Químicos .....	30
3.3.1. Fungicidas a Base de Sales Inorgánicas ....	31

#### MATERIALES Y METODOS

1. Ubicación de los Lotes Experimentales .....	33
2. Efecto de Antagonistas, Cubiertas Epidermales y Sales Inorgánicas Sobre la Roya Blanca del Crisantemo.	
Primer Experimento	
2.1. Tratamientos y Diseño Experimental .....	33
2.2. Antagonistas .....	35
2.3. Cubiertas Epidermales .....	36
2.4. Sales Inorgánicas .....	37
2.5. Evaluación del Efecto de los Tratamientos Sobre la Enfermedad .....	37

<b>Segundo Experimento</b>	
2.6. Tratamientos y Diseño experimental .....	38
2.7. Evaluación del Efecto de los Tratamientos Sobre la Enfermedad .....	39
2.8. Evaluación del Efecto de los Tratamientos Sobre la Producción del Crisantemo .....	40
<b>3. Estudio Epidemiológico</b>	
3.1. Trampeo de Esporas .....	40
3.2. Datos Climatológicos .....	41
3.3. Analisis Temporal de Epidemias .....	41
<b>RESULTADOS</b>	
<b>Efecto de Antagonistas, Cubiertas Epidermales y Sales Inorgánicas Sobre la Roya Blanca del Crisantemo</b>	
Primer Experimento .....	44
Segundo Experimento .....	48
<b>Estudio Epidemiológico</b>	
Primer Experimento .....	51
Segundo Experimento .....	60
<b>DISCUSION</b> .....	73
<b>CONCLUSIONES</b> .....	82
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	84

## LISTA DE CUADROS

	Pág.
1. Producción de flores y plantas de ornato a nivel comercial por estado y especie. ....	2
2. Principales flores producidas en el Estado de México. ....	3
3. Exportación de flores a los Estados Unidos en 1992. ....	3
4. Efecto de los tratamientos sobre la severidad (% de área foliar dañada) de la roya blanca del crisantemo en diferentes estratos de la planta. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	45
5. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	49
6. Efecto de los tratamientos sobre la severidad (% de área foliar dañada) de la roya blanca de crisantemo en diferentes estratos de la planta. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	50
7. Correlación de los factores climáticos con la severidad de la enfermedad en el primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	53
8. Parámetros epidemiológicos ( $R^2$ , CME) de los tres modelos de crecimiento para la severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	57
9. Modelo epidemiológico y tasa de incremento ( $r$ ) de la severidad de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	58

10. Separación de medias del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	59
11. Correlación de los factores climáticos con el nivel de inóculo y severidad de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	64
12. Parámetros epidemiológicos ( $R^1$ , CME) de los tres modelos de crecimiento para la incidencia de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	65
13. Modelo epidemiológico y tasa de incremento ( $r$ ) de la incidencia de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	66
14. Parámetros epidemiológicos ( $R^2$ , CME) de los tres modelos de crecimiento para la severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	67
15. Modelo epidemiológico y tasa de incremento ( $r$ ) de la severidad de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	68
16. Separación de medias del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	70
17. Efecto de los tratamientos sobre la producción del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	71

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

1. Efecto de las sales inorgánicas: Bicarbonato de Potasio (Bk), Bicarbonato de Sodio (Bna), Carbonato de Amonio (Ca) y Sulfato de Cobre (Sc) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. .... 46
2. Efecto de las cubiertas epidermales: Insul Crop (Ic), Saf-T-Side (Ss) y Nu Film 17 (Nf) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. .... 46
3. Efecto de los microorganismos Bacillus subtilis (Bs), Bacillus licheniformis (Bl) y Verticillium lecanii (Vl) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. .... 47
4. Efecto de las sales inorgánicas: Bicarbonato de Potasio (Bk) y Sulfato de Cobre (Sc), solas o combinadas con la cubierta epidermal Nu Film 17 (Nf), en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo; n= Agua potable; d= Agua destilada. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. . 52

5. Efecto del antagonista <u>Verticillium lecanii</u> (Vl), solo o combinado con la cubierta epidermal Nu Film 17 (Nf) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo; n= Agua potable; d= Agua destilada. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	52
6. Relación de la severidad de la roya blanca del crisantemo en el Testigo (C), con la temperatura máxima, media y mínima (A) y la humedad máxima, media y mínima (B). Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	54
7. Relación de la severidad de la roya blanca del crisantemo en el Testigo (C), con la precipitación (A) y evaporación (B). Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994. ....	55
8. Relación entre el nivel de inóculo y la incidencia de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	61
9. Relación entre el nivel de inóculo y la severidad de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	61
10. Relación de la severidad de la roya blanca del crisantemo en el Testigo (C), con la temperatura máxima, media y mínima (A) y la humedad máxima, media y mínima (B). Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994. ....	62

11. Relación de la severidad de la roya blanca del crisantemo en el Testigo (C), con la precipitación (A) y evaporación (B). Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994 .....	63
---	----

## RESUMEN

El cultivo del crisantemo (Chrysanthemum morifolium Ram) es de gran importancia en México, ocupa el tercer lugar en cuanto a superficie cultivada de flores y al valor de la producción. Los principales estados productores de este cultivo son: Estado de México, Michoacán, Puebla y Morelos. Las enfermedades son un factor que merita la cantidad y calidad de sus flores, destacando entre ellas la roya blanca (Puccinia horiana P. Henn.), que ha provocado que actualmente su producción se base en la utilización excesiva de productos químicos. Ante esta problemática, se realizó la presente investigación en el municipio de Villa Guerrero, Estado de México, y tuvo por objetivos: a) realizar un estudio epidemiológico de la roya blanca del crisantemo y b) evaluar diversas estrategias de manejo de la enfermedad como sales inorgánicas (control químico), cubiertas epidermales (control físico) y microorganismos antagonistas (control biológico).

Los factores climáticos que presentaron una correlación altamente significativa con el desarrollo de la enfermedad en dos ciclos de cultivos fueron: la temperatura máxima ( $R^2 = -0.54$  y  $-0.92$ ); la temperatura mínima ( $R^2 = -0.85$  y  $-0.86$ ); la humedad relativa máxima ( $R^2 = 0.78$  y  $0.82$ ) y la precipitación ( $R^2 = -0.54$  y  $0.76$ ).

En cuanto al desarrollo epidemiológico de la enfermedad el modelo Gompertz fue el que explicó mejor el comportamiento de la roya blanca del crisantemo.

En los dos experimentos realizados, todos los tratamientos redujeron significativamente la severidad de la enfermedad con respecto al Testigo. En el primer experimento destacaron las sales Sulfato de Cobre con 84.5% de reducción, Bicarbonato de Potasio con 82.6% y Bicarbonato de Sodio con 67.2%, la cubierta epidermal Nu Film 17 con 62.2% y el antagonista Verticillium lecanii con 53.5%. En el segundo experimento, realizado durante el período en que la roya blanca se presenta con mayor intensidad, sobresalieron el Bicarbonato de Potasio con agua destilada + Nu Film 17 (69.8% de reducción), Bicarbonato de Potasio con agua potable + Nu Film 17 (67.6%) y el Sulfato de Cobre con agua destilada (67.6%). Asimismo, el análisis del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), reafirmó que todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes al Testigo. Sin embargo, al momento del desbotonado, la severidad de la enfermedad se incrementó rápidamente, provocando que al final del ciclo del cultivo (floración) las diferencias en severidad entre el Testigo y los tratamientos no fueran tan contrastantes.

## INTRODUCCION

México es un país que cuenta con una serie de microclimas favorables, con características especiales para la producción de plantas ornamentales, flores de corte y follaje; no obstante, la potencialidad de esta actividad no ha sido explotada en forma adecuada, en parte por la crisis económica que ha afectado fuertemente a la floricultura, dado que la flor no es un producto de primera necesidad, y a que no existe en el país un centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico especializado en floricultura que permita obtener productos que cumplan con las normas de calidad exigidas en el extranjero y ampliar la gama de variedades con posibilidades de exportación.

Se estima que la superficie destinada a la floricultura en nuestro país es de 8,416 ha; bajo invernadero se cuenta con 313 ha (4%), 119 ha en semi-invernadero (1%) y las 7,984 ha (95%) restantes se encuentran a la intemperie (Peniche y Holguin, 1994). Las principales entidades federativas productoras de flores en nuestro país son: Puebla, Estado de México, Guanajuato, Michoacán, Morelos y Guerrero (Cuadro 1). En el Estado de México la superficie destinada a la floricultura en 1994 fue de 1670 ha, de las cuales 94 ha se cultivan bajo invernadero, 76 ha en semi-invernadero y las 1500 ha restantes a cielo abierto. Los cultivos más importantes en el estado son clavel, crisantemo pompón y estándar, gladiola, rosa y margaritón (Cuadro 2).

Cuadro 1. Producción de flores y plantas de ornato a nivel comercial por estado y especie.

ESTADO	ESPECIES	RECTAREAS			
		CA	I	SI	ST
AGUASCALIENTES	Rosas	-	4	-	4
BAJA CALIFORNIA	Petunia, Crisantemo, Rosa, Geranios, Clavel.	7	28	-	35
COAHUILA	Rosas	-	2	-	2
D.F.	Gladiola, Gerbera, Pensamiento.	-	10	7	17
GUANAJUATO	Crisantemo, Pompón, Rosa, Clavel.	1541	70	26	1637
GUERRERO	Plantas ornamentales	239	-	-	239
HIDALGO	Hortencia, Rosa, Crisantemo, Dalia.	-	8	-	8
MEXICO	Gladiola, Clavel, Crisantemo, Rosa.	1500	94	76	1670
MICHOACAN	Crisantemo, Pompón, Rosa, Clavel.	994	19	-	1013
MORELOS	Rosa, Nardo, Crisantemo, Nochebuena.	614	35	10	659
OAXACA	Rosa, Crisantemo, Orquideas.	-	4	-	4
PUEBLA	Margaritas, Gladiola, Crisantemo, Clavel.	3000	25	-	3025
QUERETARO	Nochebuena, Crisantemo, Rosas.	-	12	-	12
VERACRUZ	Gladiola, Orquidea, Azalea, Anthurium.	89	2	-	91
TOTAL:		7984	313	119	8416

Fuente: BANCOMEXT (Peniche y Olguin, 1994).

CA= Cielo abierto, I= Invernadero, SI= Semi-invernadero, ST= Superficie total.

Cuadro 2. Principales flores producidas en el Estado de México.

TIPO DE FLOR	SUPERFICIE	
	Ha	%
Clavel	501	30
Crisantemo pompón	451	27
Crisantemo estándar	134	8
Gladiola	134	8
Rosa	116	7
Margaritón	67	4
Otros	267	16
Total:	1,670	100

Fuente: Consejo de la flor del Estado de México (Vargas, 1992).

Cuadro 3. Exportación de flores a los Estados Unidos en 1992.

PRODUCTO	GRAMOS	% (PARTICIPACION)
Rosas	6,882,143	43.65
Pollajes	4,447,152	28.20
Clavel estándar	219,325	1.39
Clavel miniatura	34,961	0.22
Orquideas	11,769	0.07
Crisantemo pompón	3,151	0.02
Crisantemo	-	0.00
Otras flores	2,234,768	14.17
No especificados	1,934,711	12.28
Total:	15,767,980	100.00

Fuente: BANCOMEXT (Peniche y Olguin, 1994).

A nivel estatal el cultivo del crisantemo (Chrysanthemum morifolium Ram) ocupa el tercer lugar en cuanto a superficie cultivada (134 ha) y al valor de la producción (Vargas, 1992). En los últimos años el crisantemo estándar y el pompón mexicanos han perdido aceptación en los E. U. por lo que su exportación (Cuadro 3) en 1992 disminuyó a solamente el 2% y el 98% se comercializó en el país, principalmente en el D.F., Guadalajara, Monterrey y el Noroeste de México (SEDAGRO, 1992).

Ante esta situación los productores se han interesado en cultivar esquejes de buena calidad para lograr cubrir las exigencias del mercado nacional e internacional, pero debido a la carencia de material vegetativo con estas características en nuestro país, se ha optado por importarlo de E. U., Holanda, Inglaterra e Israel. Esto ha generado la salida de divisas e introducción de enfermedades por la dudosa calidad del material procedente de esos países (Arias et al, 1990). Las importaciones de esquejes de crisantemo provocaron la entrada a nuestro país de la roya blanca del crisantemo (Puccinia horiana P. Henn.), la cual en 1993 se presentó de manera devastadora, estimándose que en la actualidad son 600 ha, distribuidas en seis municipios del Estado de México (Villa Guerrero, Coatepec de Harinas, Malinalco, Ixtapan de la Sal, Tenancingo y Zampahuacán), las que se encuentran amenazadas por dicha enfermedad (SARH, 1994).

En ataques severos la roya blanca puede causar la pérdida total de las plantas (Smits et al, 1992). La roya blanca, que anteriormente no representaba problemas de importancia económica, se ha constituido en una de las principales causas de reducciones en la producción tanto en cantidad como en calidad de la flor de crisantemo, no sólo en nuestro país, sino en todos los lugares en los que se ha presentado, donde el uso exclusivo y excesivo de fungicidas químicos, ha sido la estrategia empleada para contrarrestar las pérdidas. Ante esta situación surge la necesidad de implementar un manejo que sea eficaz, que proteja el ecosistema, y que constituya además una alternativa real que permita mantener la enfermedad por debajo de los niveles de daño económico. Para poder lograr ésto, es necesario conocer el comportamiento de la enfermedad en el tiempo y en el espacio (Zadoks y Schein, 1979), así como los factores que favorecen su desarrollo. Solamente a través de un estudio epidemiológico podremos conocer las etapas en las que el patógeno es más susceptible de ser controlado (Burrage, 1978) y por lo tanto estaremos en mejores condiciones de hacerle frente al problema con mayores probabilidades de éxito.

El estudio epidemiológico de la roya blanca proveerá de bases para un mejor manejo de la enfermedad, preferentemente mediante el uso de productos o agentes cuyo impacto en el ambiente sea mínimo o nulo. Entre éstos está el uso de polímeros (cubiertas epidermales), para prevenir la penetración del patógeno (Elad et al, 1989; Hang, 1990; Kamp, 1985; Ziv y Frederiksen, 1983; 1987;

Ziv y Hagiladi, 1984), sales simples (Bicarbonato de Potasio, Bicarbonato de Sodio, Carbonato de Amonio y Sulfato de Cobre), que impidan el desarrollo normal del patógeno en la planta (Homma et al, 1981; Horst et al, 1992; Ziv y Zitter, 1992); y agentes de control biológico como Bacillus spp. (Baker et al, 1983; 1985; García y Díaz, 1991; Uthhede, 1983) y Verticillium lecanii (Campbell, 1989; Carrión et al, 1992; Mukerji y Garg, 1988; Srivastava et al, 1985). Esto contribuirá a contrarrestar problemas tales como: la resistencia de patógenos a fungicidas, aparición de enfermedades secundarias, destrucción de especies benéficas, contaminación del ecosistema y aumento en los costos de producción, originados por el uso exclusivo de fungicidas químicos orgánicos.

Con base en lo expuesto anteriormente, esta investigación tuvo los siguientes **objetivos**:

- Realizar un estudio epidemiológico de la roya blanca (Puccinia horiana P. Henn) del crisantemo.
- Evaluar diversas estrategias de manejo de la roya blanca.

## REVISION DE LITERATURA

### 1. Roya Blanca del Crisantemo.

#### 1.1. Agente Causal.

El hongo Puccinia horiana P. Henn., causante de la enfermedad conocida como roya blanca del crisantemo es originario de China y Japón donde fue reportado por primera vez en 1895 (Baker, 1967; SARH, 1993; Smits et al, 1992; Walker, 1983) y descrito por Hennings en 1901 (Dickens, 1968; Firman y Martin, 1968; Smits et al, 1992).

P. horiana es una roya microcíclica que no produce espermogonio, eciosporas ni urediosporas. Presenta teleutosoros hipófilos de 0.5-4 mm de diámetro, con teliosporas leptospóricas de forma variable (fusiformes, oblongas y/o elipsoidales), aguzadas en el apice y levemente estranguladas en la septa; miden de 40-51  $\mu\text{m}$  X 12-19  $\mu\text{m}$ ; con pared lisa de 1-2  $\mu\text{m}$  de color amarillo claro y pedicelo hialino persistente de hasta 38.7  $\mu\text{m}$  de largo. Las teliosporas son generalmente de dos células y al germinar producen un promicelio sobre el cual son formadas de 2 a 4 basidiosporas (esporidias), hialinas, ligeramente curvadas de 12-18  $\mu\text{m}$  X 9-15  $\mu\text{m}$ , que son descargadas y dispersadas por corrientes de aire (Baker, 1967; Peterson et al, 1978; Smits et al, 1992; Yang et al, 1992; Whipps, 1993).

Con base en estas características ha sido ubicado taxonómicamente de la siguiente manera:

Reino: Fungi  
División: Eumycota  
Subdivisión: Basidiomycotina  
Clase: Heterobasidiomycetes  
Orden: Uredinales  
Familia: Pucciniaceae  
Género: Puccinia  
Especie: P. horiana P. Henn.

La importancia internacional del hongo era muy poca debido a que no se había reportado en otros sitios fuera de su lugar de origen. Fue hasta 1963 cuando comenzó su dispersión a través del mundo (Smith et al, 1992), detectándose en Inglaterra sobre plantas de origen japonés y para 1964 ya se había diseminado a Alemania, Noruega, Dinamarca y Holanda, por medio de esquejes procedentes de Sudáfrica (Baker, 1967; Firman y Martin, 1968). Actualmente se ha reportado en gran parte de Europa, Asia, Australasia, Oceanía y América. En México en 1993 hizo su aparición en forma devastadora (SARH, 1993).

## 1.2. Importancia y Daños.

La roya blanca del crisantemo (*P. horiana*), ataca a diversas especies del género *Chrysanthemum*, es más destructiva que la roya común (*P. chrysanthemi*) debido a que es capaz de infectar brotes tiernos, hojas y tallos. Las pústulas producidas por la roya blanca se presentan principalmente en las hojas basales y a partir de aquí la infección se extiende hacia la zona apical, secándose progresivamente las hojas. Dependiendo del cultivar, la intensidad de la infección y el estado de desarrollo de las plantas, éstas mueren o si llegan a la fase de floración las flores son pequeñas, deformes y por consiguiente de poco valor comercial (Dickens, 1970; Smits et al, 1992).

*P. horiana* se dispersa principalmente con el material vegetativo (esquejes de crisantemo) y su importancia en Europa se debió al aumento de las importaciones por viveristas especializados, originando con ello problemas directos como es la pérdida de hasta el 100% en cultivos de crisantemo, o a la vez problemas indirectos al dificultar la exportación (Water citado por Smith et al, 1992). De ahí que los países que aún no tienen el problema de esta enfermedad deben mantener procedimientos de control por medio de inspecciones intensas en cuanto al material que importan y evitar el paso de material infectado procedente de Estados Unidos, Holanda y Brasil, países donde se ha presentado dicha enfermedad.

### 1.3. Infección y Síntomas.

Las basidiosporas germinan y producen un tubo germinativo corto que penetra la cutícula y las paredes celulares de la epidermis directamente; entre las 6 y las 48 h en las células del hospedero se desarrolla una vesícula pequeña, la cual se extiende y forma una ramificación septada; el desarrollo continúa con la producción de una hifa intercelular y un haustorio intracelular (Whipps, 1993).

Las hojas infectadas por basidiosporas muestran manchas cloróticas de 5 mm aproximadamente tanto en el haz como en el envés de la hoja, posteriormente en el envés se desarrollan pústulas de color pardo claro a rosado, las cuales contienen teliosporas (Smith et al, 1992). Las teliosporas germinan *in situ* (Dickens, 1968) sin un período de dormancia (Firman y Martin, 1968) produciendo un promicelio sobre el cual se forman las basidiosporas y el soro adquiere entonces una tonalidad blanquecina. En el haz se produce una depresión, en la mancha clorótica correspondiente al teleutosoro del envés, observándose en este último lesiones prominentes. El número de pústulas por hoja varía con la intensidad de la infección y la susceptibilidad de la variedad; hojas severamente infectadas se marchitan y cuelgan del tallo, posteriormente se secan en forma gradual y ocurre una defoliación prematura, siendo más intensa desde la zona basal hacia la apical. Cuando las plantas son muy afectadas, se pueden

observar pústulas en brácteas y tallos; mientras que la infecciones en flores se han reportado como necrosis con desarrollos ocasionales de pústulas (Dickens, 1970; González y Montealegre, 1981; SARH, 1993; Smith et al, 1992).

#### 1.4. Variación Genética del Crisantemo

Se ha determinado que las reacciones de las diferentes especies y cultivares de crisantemo a la roya blanca van desde resistentes hasta susceptibles (Dickens, 1968, 1970, 1971; Martin y Firman, 1970). Dichas reacciones han sido clasificadas por de Jong y Rademaker (1986) y Rademaker y de Jong (1987) en cuatro grupos: 1) reacción resistente (R), cuando las plantas no muestran lesiones macroscópicas visibles, tal resistencia es controlada por un sólo gene dominante; 2) reacción de resistencia incompleta (RI), cuando se desarrollan lentamente pocas pústulas y la esporulación es limitada; 3) reacción necrótica (RN), provocada por la reacción de hipersensibilidad como respuesta a la invasión del patógeno y de esta manera la planta previene la esporulación completamente; y 4) reacción susceptible (RS), cuando se desarrollan rápidamente una gran cantidad de pústulas originando una esporulación muy abundante. Las hojas de plantas susceptibles también pueden mostrar cierta resistencia a la infección con la edad pero nunca llegan a ser inmunes (Zandvoort, 1968).

### 1.5. Ciclo del Patógeno

La roya blanca era considerada una enfermedad exclusiva de invernaderos según lo reportado en todos los países donde se había presentado, pero en México se presentó de forma devastadora bajo condiciones de cielo abierto (SARH, 1993).

El patógeno sobrevive en el hospedero a lo largo de todo su ciclo vegetativo; las teliosporas sobreviven durante poco tiempo sobre hojas caídas, de siete a ocho semanas con humedades relativas del 50% o bien, tres semanas bajo condiciones de humedad relativa más elevada o cuando son enterradas en seco (Firman y Martin, 1968; Smith et al, 1992). La germinación de teliosporas se dá entre 13-24 °C y la infección por basidiosporas requiere de humedad relativa alta, de una película de agua sobre las hojas y temperaturas de 14-20 °C (óptima de 17 °C). La descarga de basidiosporas comienza antes de 3 horas en condiciones favorables. Las basidiosporas son capaces de penetrar al hospedero en 2 horas, por lo que nuevas infecciones en plantas adyacentes pueden ocurrir en tan sólo 5 horas si las condiciones de temperatura y humedad son apropiadas. El período de incubación normalmente es de 7 a 10 días, pero períodos de temperatura elevada retrasan el desarrollo y la producción de pústulas ocurre en 17 días bajo condiciones normales de invernadero; las basidiosporas son muy sensibles a la desecación y por tanto no es probable que puedan ser transportadas por el viento a distancias muy largas (Firman y Martin, 1968; Smith et al, 1992; Whipps, 1993); aunque,

según Zandvoort (1968) esta transportación puede ser de 700 m o más cuando la humedad relativa es de 90%, pero si el transporte es a mayores distancias las basidiosporas pierden su viabilidad rápidamente.

La elevada producción de basidiosporas que son dispersadas a cortas distancias por el viento, salpicadura de agua y movimiento del hombre entre el cultivo (Whipps, 1993), hace que este hongo se constituya en un patógeno eficiente e importante económicamente.

## **2. Epidemiología Agrícola.**

### **2.1. Concepto.**

La Epidemiología de enfermedades de plantas o Epidemiología Agrícola es una rama ecológica de la Fitopatología que trabaja en los niveles de población y comunidad, representa la interfase científica entre el trabajo fitopatológico en el laboratorio y el manejo de la enfermedad en el campo (Kranz y Rotem, 1988). En un sentido amplio es el estudio del progreso de las enfermedades en poblaciones de plantas, de los factores del ambiente que influyen en su incremento y distribución, y las modificaciones que éstas tienen en función de las interacciones entre poblaciones del hospedero y del patógeno con respecto al ambiente, a través del tiempo y del espacio (Cárdenas, 1983; Chaube y Singh, 1991; Kranz y Rotem, 1988; Zadoks y Schein, 1979).

Literalmente la epidemia es definida como el desarrollo de una enfermedad con carácter extensivo en un cultivo determinado o en los cultivos de una área geográfica (Cárdenas, 1983); al mismo tiempo es una erupción de la enfermedad caracterizada por un repentino y rápido crecimiento, propagación y desarrollo (Chaube y Singh, 1991; Fry, 1982), que puede ser medida cuantitativamente como el cambio en la intensidad de la enfermedad en el rango de 0 a 1 (Kranz y Rotem, 1988), la cual incluye la proporción de plantas infectadas (incidencia), y la proporción de tejido afectado de cada planta individual (severidad) (Hernández et al, 1987 citados por Nieto, 1990; Seem, 1984).

Tradicionalmente el concepto de enfermedad fue simbólicamente representado por un triángulo en cuyos vértices se encuentran el patógeno, hospedero y ambiente, utilizándose adecuadamente en ecosistemas naturales según Zadoks y Schein (1979); sin embargo, los mismos autores establecen: "que los fitopatólogos están involucrados exclusivamente en sistemas de producción agrícola, en los cuales el hombre cambia profundamente el funcionamiento del patosistema al efectuar labores culturales, manejo genético y al aplicar control químico, volviéndose por consecuencia parte esencial de la comunidad estudiada". Así, para este tipo de patosistemas proponen el tetrahedro de la enfermedad, en cuya base se presenta la interacción patógeno-hospedero y ambiente y en el vértice superior al hombre incidiendo positiva o negativamente en el desarrollo de la epidemia.

## **2.2. Componentes Epidemiológicos.**

En el desarrollo de las enfermedades causadas por agentes infecciosos (como hongos, bacterias, virus y nematodos) están presentes tres componentes, una planta hospedera susceptible, un agente causal (patógeno) y un ambiente favorable.

### **2.2.1. Planta Hospedera.**

La planta hospedera resiente directamente los efectos dañinos del patógeno y esto está en función de la genética de su susceptibilidad o resistencia, el grado de uniformidad genética, la edad, el vigor y el estado de crecimiento en el que se encuentre. El desarrollo de la epidemia también está influenciada por la distancia del hospedero susceptible de la fuente primaria de inóculo; la abundancia y distribución de hospederos susceptibles, ya que una planta una vez enferma sirve como fuente de infección hacia otras plantas; así como la manifestación de la enfermedad en el hospedero debido al ambiente, y la habilidad del patógeno de contar con hospederos alternantes o de desarrollar nuevas cepas o razas con mayor virulencia (Chaube y Singh, 1991; Maloy, 1993).

### **2.2.2. Patógeno.**

Los agentes causales bióticos cuentan con ciertas propiedades intrínsecas que les permiten establecerse con éxito en sus hospederos y generar enfermedades en las plantas; pueden variar en patogenicidad, es decir, la habilidad de causar enfermedad; o en su virulencia, que es la patogenicidad relativa (Maloy, 1993).

Los patógenos que adoptan invariablemente la forma epidémica tienen la capacidad de producir enormes cantidades de inóculo (tasa reproductiva alta), que está adaptado a dispersiones rápidas y a largas distancias en un tiempo corto; el inóculo generalmente corresponde a esporas producidas sobre las superficies expuestas del hospedero, de manera que son dispersadas rápidamente por el viento, agua e insectos. Estas características son típicas de patógenos foliares policíclicos, royas y cenicillas, que son responsables de las enfermedades epidémicas más catastróficas en el mundo (Chaube y Singh, 1991; Kranz y Rotem, 1988; Maloy, 1993).

### **2.2.3. Ambiente.**

El ambiente está integrado de muchos componentes, pero la temperatura y la humedad son probablemente los dos factores que más constantemente influyen sobre el desarrollo de las enfermedades, por el hecho de estar íntimamente relacionados.

La mayoría de los patógenos de las plantas son activos en un rango de 10 a 25 °C, aunque existen algunos que pueden desarrollarse por abajo y arriba de este rango.

La humedad puede encontrarse en una gran variedad de formas que influyen en muchas enfermedades. Las formas más frecuentes son el agua libre en la superficie de las plantas y la humedad relativa del aire, siendo a menudo el factor limitante para la germinación de esporas, invasión bacterial, y formación, movilidad e infección por zoosporas.

El viento es importante porque influye sobre la humedad del aire que circunda a la planta, además de ser un mecanismo de dispersión de patógenos.

La luz y la radiación influyen en la biología de los patógenos en diferentes formas directa e indirectamente; tienen efecto en la inducción de eventos periódicos en el desarrollo de un patógeno por el cambio de luz y obscuridad y por variación estacional de la longitud del día. Se ha encontrado alta correlación entre estos dos factores y las enfermedades de varios cultivos (Chaube y Singh, 1991; Maloy, 1993).

### **2.3. Desarrollo de Epidemias.**

El tiempo requerido para el crecimiento y reproducción de un patógeno y la forma de dispersión de la progenie afecta directamente la dinámica de la enfermedad.

### **2.3.1. Patógenos Monocíclicos.**

Los patógenos monocíclicos completan parte o todo su ciclo de patogénesis en una estación de crecimiento, teniendo una generación por estación. Algunos patógenos son monocíclicos porque el ambiente evita más de un ciclo de patogénesis, o bien, porque en algunos otros su ciclo de vida requiere mínimo una estación de crecimiento (Fry, 1982; Robinson, 1987).

El aumento de las enfermedades monocíclicas está en función del tamaño de la población inicial del patógeno (inóculo) y la eficacia que éste tenga para desarrollar enfermedad, así como el tiempo en que el hospedero y el patógeno interactúan en su ambiente. Es característica de este tipo de enfermedades, que el patógeno no produce inóculo adicional que sea efectivo para infectar durante la misma estación. Así, el tamaño de la población inicial del patógeno no incrementa durante la misma estación. Esto originó que Vanderplank (1963), se refiriera a ellas como enfermedades de interés simple. El interés (inóculo del patógeno), es calculado solamente al final de la estación.

### **2.3.2. Patógenos Policíclicos.**

Los patógenos policíclicos tienen más de una generación por estación de crecimiento, algunos tienen muchas generaciones por año y además producen propágulos casi continuamente como lo permitan las condiciones ambientales.

Las enfermedades inducidas por los patógenos policíclicos están influenciadas por el tamaño y distribución de la población inicial del patógeno, la habilidad inherente del patógeno para inducir la enfermedad, resistencia del hospedero, factores ambientales incluidas las manipulaciones culturales, el tiempo que dura la interacción del hospedero con el patógeno y la tasa de reproducción del patógeno (Fry, 1982).

Debido a que los patógenos policíclicos producen inóculo que puede seguir infectando a la misma planta o iniciar nuevas infecciones en plantas sanas en el curso de una epidemia dentro de un mismo ciclo de cultivo, Vanderplank (1963), se refirió a ellas como enfermedades de interés compuesto; donde las tasas de incremento de la enfermedad se van haciendo mayores en cada generación porque se van sumando a la cantidad de enfermedad inicial.

#### **2.4. Análisis Temporal de Epidemias.**

La intensidad de la enfermedad presente en una población de plantas, es evaluada a través del tiempo originando una curva del progreso de la enfermedad que integra los efectos que ocurren entre el hospedero, patógeno y ambiente durante la epidemia; dichas curvas permiten analizar, comparar y comprender la dinámica de las enfermedades epidémicas de las plantas (Campbell y Madden, 1990).

Un análisis temporal de epidemias nos permite: 1) comparar tratamientos experimentales programados para evaluar estrategias de

manejo de enfermedades; 2) emplear los modelos de progreso de enfermedad para determinar e interpretar los cambios de la epidemia reflejados por las modificaciones en la curvas del progreso de la enfermedad; y 3) comparar epidemias con el propósito de identificar similitudes y diferencias basadas en la naturaleza o conducta de las curvas del progreso de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990).

#### **2.4.1. Modelos de Análisis de Epidemias.**

Los fitopatólogos han recurrido al empleo de modelos matemáticos para analizar y comprender el complejo dinamismo de las epidemias. Van der Plank (1963) fue uno de los primeros en utilizar los modelos cuantitativos para identificar la curva de progreso de las enfermedades y para ello propuso los siguientes modelos:

a) Exponencial: considera que la tasa de incremento de la enfermedad, es directamente proporcional a los niveles de enfermedad en un tiempo dado ( $y$ ).

$$dy/dt = ry$$

b) Monomolecular: establece que la tasa de cambio de la enfermedad, es proporcional al nivel de tejido aparentemente sano o la proporción de plantas aparentemente sanas ( $1-y$ ).

$$dy/dt = r(1-y)$$

c) Logístico: estima que la tasa de incremento de la enfermedad, es proporcional al nivel de plantas infectadas ( $y$ ) y al nivel de plantas sanas ( $1-y$ ).

$$dy/dt = ry(1-y)$$

d) Gompertz: considera que la tasa de incremento de la enfermedad depende del nivel de plantas infectadas ( $y$ ) y el nivel de plantas sanas ( $1-y$ ), la curva integrada es sigmoïdal, pero es asimétrica considerando el punto de inflexión.

$$dy/dt = ry[-\ln(y)]$$

Donde:  $dy$ = cambio en la enfermedad

$dt$ = cambio infinitesimal en el tiempo

$r$ = tasa de incremento relativo de la enfermedad por día

$y$ = proporción de plantas enfermas

$1-y$ = proporción de plantas sanas

$\ln$ = logaritmo natural

### 3. Estrategias de Manejo de Enfermedades.

#### 3.1. Métodos Físicos

Las estrategias físicas para el control de enfermedades son medidas directas que se aplican para destruir a los patógenos que se encuentran en las plantas, reduciendo el tamaño de la población inicial mediante la perturbación de la actividad fisiológica normal. Estas tienen la finalidad de modificar el ambiente haciendolo poco favorable para el desarrollo del patógeno o bien, limitar su habilidad para inducir la enfermedad al impedir que penetre a las plantas. Estos métodos se basan en un conocimiento completo de la ecología del patógeno, lo que permite aprovechar de mejor manera los aspectos que les son desfavorables.

Entre los métodos físicos más comunmente empleados destacan, la manipulación de temperaturas (máximas y mínimas) y la humedad; el empleo de vapor de agua y el uso de barreras físicas. Esta última ha adquirido gran importancia debido a que ha sido probada con éxito contra diversas enfermedades en varios cultivos, lo que ha permitido que en países como Israel ( Elad et al, 1989; Zekaria-Oren et al, 1991; Ziv y Frederiksen, 1983), Estados Unidos (Horst et al, 1992; Kamp, 1985) y China (Hang, 1990), esta estrategia se haya convertido en un importante elemento de prevención y manejo de enfermedades.

### 3.1.1. Polímeros (Cubiertas Epidermales).

Martin (1974) (citado por Elad et al, 1989) señala que los tratamientos con polímeros (cubiertas epidermales), originalmente fueron probados para proteger a las plantas de la pérdida de agua causada por la excesiva transpiración. Posteriormente se observó que las plantas tratadas con los antitranspirantes presentaban menos problemas de ataques de enfermedades foliares, lo que abrió la posibilidad de emplearlos como antitranspirantes y como agentes de control de enfermedades (Ziv y Frederiksen, 1983).

A raíz de este hallazgo varias cubiertas de polímeros tales como aceites, ceras, polietileno, alcoholes y silicones, han sido experimentados como barreras artificiales sobre la superficie de las hojas para reforzar los mecanismos de defensa naturales de las plantas, proporcionando una barrera efectiva contra la penetración de algunos patógenos (Zekaria-Oren et al, 1991; Ziv y Frederiksen, 1983). Dichas cubiertas alteran la topografía de la superficie de la hoja y evitan que se forme una película de agua sobre ella, inhibiendo con ello el proceso de germinación de las esporas. Además con la cubierta artificial se interfiere directamente en la adhesión del tubo germinativo y el reconocimiento de sitios de penetración (Zekaria-Oren et al, 1991).

Estos materiales presentan importantes características, destacando las siguientes: 1) los polímeros son barreras protectoras no fitotóxicas; 2) forman una película o membrana continua que permite la difusión de oxígeno y bióxido de carbono, pero inhibe el paso del agua; 3) son resistentes a las variaciones

en el ambiente y a la penetración de la radiación; y 4) son biodegradables, lo que los convierte en materiales inocuos al ambiente (Hang, 1990; Zekaria-Oren et al, 1991; Ziv y Frederiksen, 1983; 1987). Por estas características constituyen una estrategia con grandes posibilidades de ser empleadas contra gran cantidad de enfermedades foliares.

Se ha reportado el control de Puccinia polysora y P. recondita f. sp. tritici; Peronosclerospora sorghi (Ziv y Frederiksen, 1983); Sphaerotheca pannosa (Horst 1992); y Erysiphe graminis f. sp. tritici (Ziv y Frederiksen 1987). También se ha logrado controlar entre otras muchas a: Glomerella cingulata; Septoria lycopersici; Guignardia bidwellii.

Son muchas las evidencias sobre el control de enfermedades con polímeros y estos éxitos motivan a continuar probando este tipo de compuestos contra enfermedades en otros cultivos.

### 3.2. Biológicos

Cook y Baker (1983) definieron el control biológico como "la reducción de inóculo del patógeno o de su capacidad de producir enfermedad mediante el uso de uno o más organismos excluyendo al hombre. Asimismo, indican que ésto se puede lograr naturalmente o a través de la manipulación del ambiente hospedero o mediante la introducción masiva de microorganismos antagonistas".

El control biológico mediante el uso de microorganismos antagonistas según Cook (1982) (citado por Nigam y Mukerji, 1988)

comprende tres facetas: 1) reducción de la población del patógeno a través del uso de microorganismos que destruyan el inóculo del patógeno o reduzcan su vigor y agresividad; 2) protección de la superficie de las plantas con el establecimiento de microorganismos en las heridas, hojas o en la rizosfera donde sirvan como una barrera biológica mediante la competencia, antibiosis o acción parasítica inhibitoria de los patógenos; y 3) establecimiento de organismos no patogénicos dentro de la planta o área infectada, para estimular la resistencia de la planta al patógeno, o bien, ocupar el sitio infectado y matar al patógeno o desplazarlo de la lesión.

Los mecanismos anteriores pueden no librar a la planta o a la hoja ya infectada, pero ayudan a impedir que el inóculo se extienda a las plantas todavía no infectadas.

Baker y Cook (1974) establecieron una serie de características que debe reunir un microorganismo antagonista ideal:

a) El organismo debe producir inóculo en exceso, resistir, escapar o tolerar a otros antagonistas, germinar y crecer rápidamente, invadir u ocupar sustratos orgánicos; b) sobrevivir y crecer en la rizosfera para prevenir la infección, o cerca de las estructuras de reposo del patógeno, o en el suelo para reducir la supervivencia del patógeno; c) producir un antibiótico altamente tóxico y de amplio espectro, que sea efectivo a concentraciones bajas, y que no cause daño a la planta hospedera; d) adaptarse a una producción y manejo a gran escala comercial; e) la germinación

de sus propágulos debe ocurrir rápidamente o por lo menos tan rápida y prolíficamente como la del patógeno y su regreso a la fase de latencia debe ser menos rápida; y f) debe ser más adaptable que el patógeno a las condiciones extremas del ambiente.

Aunque el microorganismo ideal no existe, algunos pueden acercarse a él y han probado ser útiles en inoculaciones sobre semillas o en cualquier órgano de la planta contra una gran cantidad de fitopatógenos (Baker y Cook, 1974).

### 3.2.1. Organismos Antagónicos

Los microorganismos antagonistas tienen el potencial para interferir con el crecimiento y supervivencia de los patógenos en las plantas, contribuyendo así al control biológico que de manera natural se está dando.

Los organismos antagonistas pueden ser residentes o introducidos. Se consideran antagonistas residentes a aquellos habitantes naturales del suelo, la rizosfera, la superficie de la hoja, u otros sitios ocupados por los patógenos. Los antagonistas introducidos son cultivados en condiciones especiales y posteriormente aplicados en los sitios donde son necesarios, ejemplo, al suelo, semillas o rociados sobre las hojas o algún otro órgano de la planta (Nigam y Mukerji, 1988).

Los mecanismos de acción de los antagonistas pueden ser, antibiosis y competencia. La antibiosis estrictamente es un antagonismo que se manifiesta por la producción de metabolitos específicos y no específicos de origen microbial, incluidos agentes líticos, enzimas, compuestos volátiles, y otras sustancias tóxicas (Jarvis, 1992). En conjunto estas sustancias son conocidas como antibióticos que operan a bajas concentraciones, regularmente menos de 10 ppm, y por medio de los cuales se logra la inhibición de un organismo por otro (Campbell, 1989). El metabolito producido puede penetrar las células e inhibir su actividad mediante toxicidad química (Baker y Cook, 1974), causando la ruptura interna y desintegración de las células atacadas.

La competencia ocurre cuando dos o más organismos requieren de un elemento indispensable al mismo tiempo, y logran sobrevivir aquellos que están mejor adaptados. Los organismos que cuentan con mejores mecanismos obtienen los nutrientes necesarios para crecer, mientras que los que no los obtienen en cantidades suficientes sufren de inanición, posteriormente lisis y muerte. Los nutrientes por los que existe mayor competencia son el carbono y el nitrógeno, aunque también es posible que ocurra por oxígeno y espacio (Campbell, 1989). El punto esencial en la competencia es la eliminación de uno de los organismos por parte de otro (Campbell, 1989; Vega, 1989).

Los mecanismos que conllevan a una lisis son básicamente de dos tipos: endolisis, disolución interna del protoplasma celular sin previa disolución de la pared; y exolisis, disolución de la pared y membrana celular, seguida por el vaciado del contenido celular (Campbell, 1989; Cook y Baker, 1983).

### 3.2.1.1. Bacillus spp.

Muchas bacterias tienen una excelente actividad antifúngica por lo que se les considera organismos útiles para el biocontrol de hongos fitopatógenos. Algunas bacterias residentes del suelo, de la superficie de la hoja, o de otros habitats han mostrado su efectividad antagonica contra enfermedades fungosas. Entre las bacterias antagonicas destacan especies del género Bacillus.

Bacillus subtilis, ha sido empleada con éxito contra Uromyces appendiculatus y Uromyces phaseoli (Baker et al, 1985; Stavely et al, 1981), Sclerotium cepivorum, Pythium ultimum, Rhizoctonia solani, Phytophthora cinamomi, Nectria galligena (Upadhyay y Bharat, 1988), Alternaria citri y Geotricum candidum (Singh y Deverall, 1984).

Bacillus cereus subsp. mycoides ha sido empleada contra Alternaria alternata, Gaeumannomyces graminis var. tritici, y Pythium aphanidermatum (Upadhyay y Bharat, 1988); y Bacillus thuringiensis contra A. alternata (Upadhyay y Bharat, 1988).

### 3.2.2. Organismos Micoparásitos

Un parásito es un organismo que vive en el exterior o interior de otro organismo vivo, a partir del cual toma nutrientes que requiere para crecer, sin conferir a cambio beneficio alguno (Manners, 1982).

El hiperparásito es un parásito de otro parásito (Cook, citado por Papavizas, 1981). Dentro del hiperparasitismo se encuentra el micoparasitismo que es el parasitismo que ocurre entre hongos.

Recientemente ha surgido el interés por explotar las relaciones hiperparasíticas en el control biológico de las enfermedades de plantas. Barnett y Binder (1973), así como Cook y Baker (1983), separaron los micoparásitos o parásitos de hongos en dos grupos, biotróficos y necrotróficos, basados en su modo de parasitar. Los parásitos necrotróficos son aquellos que matan las células del hospedante antes, o justo después de la invasión y luego utilizan los nutrientes liberados de la hifa muerta. Los parásitos biotróficos son capaces de obtener los nutrientes directamente de las células vivas del hospedero o mediante su penetración y crecimiento dentro de la célula hospedera causándole poco daño en los estados tempranos de parasitismo, debido a que depende completamente de él para sobrevivir.

Entre los micoparásitos destacan aquellos que son parásitos de royas (Verticillium lecanii, Eudarlucá caricis, Tubercularia spp. y Aplanocadium album); y de cenicillas (Ampelomyces spp., Tilletiopsis spp. y Cladosporium spp.) (Sundheim y Tronsmo, 1988).

### 3.2.2.1. Verticillium lecanii

Verticillium lecanii es un parásito de royas, cenicillas, y de muchos otros hongos, además de artrópodos. Dicho hongo es muy común encontrarlo en las pústulas formadas por las royas y algunas cenicillas, forma una maraña micelial en la superficie de las pústulas y penetra en ellas aprovechando los nutrientes presentes (Spencer y Atkey, 1981).

El empleo de este hongo se ha incrementado en los últimos años destacando su empleo para el control de enfermedades foliares provocadas por las royas: Uromyces appendiculatus, Puccinia chrysanthemi, Hemileia vastatrix, P. striiformis, P. horiana, P. malvacearum, P. graminis sp. tritici, P. recondita, y Uromyces dianthi (Carrión et al 1992; Hall, 1980; Spencer, 1980; Spencer y Atkey, 1981; Sundhein y Tronsmo, 1988; Srivastava et al, 1985).

También se ha encontrado parasitando a Sphaerotheca fuliginea, al nematodo formador de quistes, Heterodera schachtii y al áfido Brachyocaudus helichrysi (Deacon, 1988).

### 3.3. Químicos

El uso de fungicidas orgánicos, con sus beneficios y sus efectos colaterales adversos, se ha convertido en un problema tanto de salud ambiental y humana como técnico en todo el mundo. Por tal motivo los trabajos realizados actualmente, están encaminados a mejorar la efectividad de los fungicidas mediante formulaciones que

permitan maximizar la acción biológica del principio activo y al mismo tiempo causen menos problemas al ecosistema.

Las presiones de protección ecológica han obligado a un grupo de investigadores a buscar fungicidas químicos que sean efectivos y poco contaminantes. Homma et al (1981), desarrollaron una nueva vía de protección de las plantas denominandola "fitomineraloterapia" (terapia mineral de plantas), basada en el empleo de compuestos químicos que además de influir directamente en la nutrición de las plantas por la aportación de elementos útiles, las protegen del ataque de enfermedades.

Otros autores como Horst et al (1992), los denominaron "fungicidas biocompatibles", por ser compuestos de baja toxicidad a mamíferos y al ambiente y que además protegen a las plantas contra el ataque de hongos patogénicos específicos. Estos compuestos químicos con gran potencial para el control de enfermedades son las sales inorgánicas (Homma et al, 1981; Horst et al, 1992)

### **3.3.1. Fungicidas a Base de Sales Inorgánicas**

El control químico de enfermedades basado en la utilización de "sales inorgánicas" es una estrategia de manejo que cada vez adquiere mayor importancia, debido a los resultados logrados hasta ahora. Estos compuestos pueden reducir la severidad de las enfermedades por efectos directos de toxicidad sobre las

estructuras del patógeno, por la reducción de la susceptibilidad del hospedero (Punja y Grogan, 1982) o bien, por la modificación del pH en la superficie de las hojas de la planta (Horst et al, 1992).

Los materiales más empleados para el control de enfermedades han sido: Bicarbonato de Sodio, Bicarbonato de Amonio, Bicarbonato de Potasio y Sulfato de Cobre.

El Bicarbonato de Sodio se ha utilizado con buenos resultados contra Sclerotium rolfsii (Punja y Grogan, 1982), Penicillium digitatum (Homma et al, 1981), Sphaerotheca pannosa, Diplocarpon rosae (Horst et al, 1992), Sphaerotheca fuliginea, Colletotricum orbiculare (Ziv y Zitter, 1992), y Oidium euonymi-japonica (Ziv y Hagiladi, 1993); el Bicarbonato de Amonio por otra parte, suprimió a Sclerotium rolfsii (Punja y Grogan, 1982) y Sphaerotheca fuliginea (Ziv y Zitter, 1992); el Bicarbonato de Potasio ha sido probado contra Sphaerotheca pannosa, Sphaerotheca fuliginea y Alternaria alternata (Homma et al, 1981; Horst et al, 1992); y el Sulfato de Cobre previno el efecto de Xanthomonas citri y Phytophthora infestas (Homma et al, 1981).

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Ubicación de los Lotes Experimentales.

Durante esta investigación se realizaron dos experimentos, uno ubicado en el poblado de Buenavista y otro en el de Villa Guerrero, pertenecientes al municipio de Villa Guerrero, Estado de México. Este municipio se encuentra situado en el Sureste del Estado de México, localizándose a 18° 56' de Latitud Norte y 99° 38' de Longitud Oeste, con una altitud de 2,095 msnm. Presenta un clima subhúmedo con lluvias en Verano, una precipitación anual de 1,057.3 mm, concentrándose la mayor parte de ésta en cuatro meses (de Junio a Septiembre), la temperatura media anual es de 18.6 °C, alcanzando una máxima de 32 °C y una mínima de 4.22 °C (SEDAGRO, 1992).

### 2. Efecto de Antagonistas, Cubiertas Epidermales y Sales Inorgánicas Sobre la Roya Blanca del Crisantemo.

#### PRIMER EXPERIMENTO.

##### 2.1. Tratamientos y Diseño Experimental.

El experimento se realizó a la intemperie en Buenavista, de Marzo a Julio de 1994. Se probaron 11 tratamientos en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Se tuvo un total de 44 unidades experimentales, cada una con una superficie de 2 m<sup>2</sup> (2 m de largo por 1 m de ancho) y un total de 84 plantas.

El material empleado en el experimento fue el cultivar de crisantemo Spider, el cual ha sido reportado como el más susceptible al ataque de la enfermedad en la región de estudio.

Se trabajó en un lote con crisantemo ya establecido que en el ciclo anterior había sido severamente atacado por la roya, y que fue podado para permitir su rebrote.

La aplicación de los tratamientos se realizó semanalmente a partir de que se observaron los primeros síntomas. Para su aplicación los productos fueron suspendidos o disueltos en agua destilada para evitar la posible interferencia de las sales presentes en el agua potable.

El surfactante empleado para las sales inorgánicas y cubiertas epidermales fue el Cittowet plus (eter poliglicólico del isooctifenol con siete moles de óxido de etileno, BASF Co.) y para los microorganismos el Bionex (Alcohol tridecílico polioxi-etilenado, GBM Co.).

Los tratamientos que se probaron fueron:

- |                           |     |
|---------------------------|-----|
| 1) Testigo                | T   |
| 2) Insul Crop             | Ic  |
| 3) Saf-T-Side             | Ss  |
| 4) Nu Film 17             | Nf  |
| 5) Bicarbonato de Potasio | Bk  |
| 6) Bicarbonato de Sodio   | Bna |
| 7) Carbonato de Amonio    | Ca  |
| 8) Sulfato de Cobre       | Sc  |

- |                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 9) <u>Bacillus subtilis</u>       | Bs |
| 10) <u>Bacillus licheniformis</u> | B1 |
| 11) <u>Verticillium lecanii</u>   | V1 |

## 2.2. Antagonistas.

Las bacterias empleadas en el experimento fueron Bacillus subtilis y Bacillus licheniformis. La primera fue proporcionada por el M.C. Miguel Santos Ojeda y la segunda por el Biol. Miguel Angel Molina Báez, ambas provenientes del Laboratorio de Fitobacteriología del Instituto de Fitosanidad (IFIT) del Colegio de Postgraduados (CP).

Posteriormente el inóculo fue incrementado empleando para ello un sustrato de polipeptona-agua 1%, colocando 50 ml del medio en un matraz de 250 ml, el cual después de haber sido inoculado fue puesto en un agitador rotativo a 120 rpm durante 3 días a una temperatura de 28 °C. Transcurrido este tiempo el cultivo fue centrifugado a 20,000 g por 20 minutos y una vez centrifugado, a la pastilla (pellet) se le agregó agua destilada y la concentración ( $1.2 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias (ufc)/ml) fue estimada con la escala de McFarland's (Király et al, 1974).

El inóculo del hongo Verticillium lecanii fue proporcionado por la Dra. Raquel Alatorre Rosas (Profesora del IFIT del CP) y fue incrementado empleando como sustrato arroz semicocido. Para su

aplicación el inóculo fue separado con tierra de diatomeas, la cual fue agregada para que absorviera la humedad y se adhirieran a ella los conidios, posteriormente la tierra de diatomeas, que contenía los conidios, se diluyó en agua destilada y después fue filtrada con pañalina para realizar la cuantificación de conidios con un hematocímetro, la concentración del inóculo fue de  $1 \times 10^{10}$  conidios/ml. Las aspersiones fueron dirigidas al follaje preferentemente en el envés de las hojas para lograr la colonización de las pústulas de P. horiana. Para reforzar la adherencia de los conidios en las hojas, se le agregó 0.5 ml de surfactante Bionex por litro de agua.

### 2.3. Cubiertas Epidermales.

Los materiales formadores de cubiertas epidermales usados en este experimento fueron los siguientes: Nu Film 17 (poly-1-p-mentaeno antitranspirante de baja viscosidad; Dupont Co.); Insul Crop (aminoácidos orgánicos y enzimas orgánicas conjugadas, Co. California) y Saf-T-Side (aceite parafinado al 70%, Imex S.A.). Los polímeros fueron aplicados sobre el follaje a una concentración de 1% (v/v) del producto comercial en el caso de Nu Film 17 y Saf-T-Side y 3% (v/v) para el Insul Crop. El surfactante Cittowet plus se agregó en una proporción de 0.25 ml por litro de agua.

#### 2.4. Sales Inorgánicas.

Las sales inorgánicas empleadas fueron: Bicarbonato de Sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), Bicarbonato de Potasio ( $\text{KHCO}_3$ ), Carbonato de Amonio [ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ] y Sulfato de Cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), las cuales fueron aplicadas a una concentración de 1, 1, 0.5 y 0.1% (p/v), respectivamente. Se agregó 0.25 ml de surfactante por cada litro de solución.

#### 2.5. Evaluación del Efecto de los Tratamientos Sobre la Enfermedad.

En este experimento no se registro la incidencia de la enfermedad debido a que la primera evaluación se realizó 30 días después de haber sido podadas las plantas y para ese entonces los niveles de incidencia fueron superiores al 75%, por lo que se optó por realizar solamente la evaluación de la severidad. Para esto, en 10 plantas de la parte central de cada unidad experimental (parcela útil) semanalmente se registró el porcentaje de área foliar dañada (severidad) en una hoja de la parte apical, media y basal; se calculó el promedio semanal por estrato y la media de los tres estratos fue el promedio semanal de toda la planta. Se consideró como máximo el 60% de área foliar dañada, correspondiendo esto al 100% de daño, debido a que se señala que ningún organismo cubre más allá del 60% de área foliar (Kranz, comunicación personal, 1994).

## SEGUNDO EXPERIMENTO.

## 2.6. Tratamientos y Diseño Experimental.

Del 18 de Julio al 30 de Octubre de 1994 se condujo un segundo experimento en Villa Guerrero con los tratamientos que dieron los mejores resultados en el primero (Verticillium lecanii, Nu Film 17, Bicarbonato de Potasio y Sulfato de Cobre), los cuales fueron aplicados en las mismas concentraciones, solos o combinados y tanto con agua destilada como con agua potable.

En total se tuvieron 12 tratamientos:

1) Testigo	T
2) Bicarbonato de Potasio con agua destilada	Bkd
3) Bicarbonato de Potasio con agua potable	Bkn
4) Sulfato de Cobre con agua destilada	Scd
5) Sulfato de Cobre con agua potable	Scn
6) Nu Film 17 con agua potable	Nfn
7) <u>Verticillium lecanii</u> con agua destilada	Vld
8) Bicarbonato de Potasio con agua destilada+ Nu Film 17	Bkd+Nf
9) Bicarbonato de Potasio con agua potable+ Nu Film 17	Bkn+Nf
10) Sulfato de Cobre con agua destilada+ Nu Film 17	Scd+Nf
11) Sulfato de Cobre con agua potable+ Nu Film 17	Scn+Nf
12) <u>Verticillium lecanii</u> con agua destilada+ Nu Film 17	Vld+Nf

Se empleó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones dando un total de 48 unidades experimentales. Cada unidad experimental fue de 2m<sup>2</sup> con 72 plantas, los esquejes de éstos fueron sumergidos en el tratamiento correspondiente antes del trasplante y posteriormente cada 5 días se aplicaron aspersiones foliares, dado que en este período del año es cuando la enfermedad se ha presentado con mayor intensidad. El surfactante Cittowet plus se aplicó en una proporción de 0.25 ml por litro de agua.

## **2.7. Evaluación del Efecto de los Tratamientos Sobre la Enfermedad.**

En este segundo experimento, mediante una evaluación piloto se determinó que el tamaño óptimo de muestra (Kranz y Rotem, 1988) era de ocho plantas, las cuales fueron evaluadas cada 10 días.

Para el cálculo del porcentaje de incidencia se utilizó la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de } I = n/N (100)$$

Donde: I: Incidencia de la enfermedad expresada en porcentaje.

n: Número de plantas enfermas en el momento de la evaluación.

N: Número total de plantas evaluadas en el momento de la evaluación.

Para determinar la severidad se etiquetaron ocho plantas al azar, las cuales fueron evaluadas cada 10 días durante todo el ciclo del cultivo y con los datos obtenidos se determinó la curva de desarrollo de la enfermedad. La evaluación de la severidad del daño foliar se hizo de la misma manera como se describió en el primer experimento.

### **2.8. Evaluación del Efecto de los Tratamientos Sobre la Producción del Crisantemo.**

En el segundo experimento, se realizó la evaluación de la producción del crisantemo, para lo cual se emplearon las variables número de tallos (NT), longitud de tallos (LT), diámetro de tallos (DT), porcentaje de tallos sin botón floral (%TSB), porcentaje de tallos con botón floral (%TB), porcentaje de flores semiabiertas (%FSA), porcentaje de flores abiertas (%FA) y diámetro de flores abiertas (DFA).

## **3. Estudio Epidemiológico.**

### **3.1. Trampeo de Esporas.**

En el segundo experimento se realizó la captura de esporas con un trapeador, que consistió en un portaobjetos untado con pegamento y colocado horizontalmente (trampeo por sedimentación e impactación) en una base de madera a una altura de 30 cm en cada

una de las cuatro repeticiones del testigo. Las trampas fueron expuestas por 24 horas cada 10 días y el conteo de esporas atrapadas se hizo colocando un cubreobjetos sobre el portaobjetos observandolo en el microscopio a 10x.

Con los datos obtenidos del conteo de esporas se realizó un análisis de correlación entre el promedio de esporas y la incidencia y severidad final de la enfermedad, para determinar el grado de relación entre estos parámetros.

### **3.2. Datos Climatológicos.**

Los datos climatológicos se obtuvieron de la estación meteorológica de Villa Guerrero, y con los datos de temperatura máxima y mínima, humedad relativa, precipitación y evaporación se realizó un análisis de correlación para determinar la relación de cada uno de estos factores climáticos con el desarrollo de la enfermedad.

### **3.3. Análisis Temporal de Epidemias.**

Para obtener una mejor descripción del progreso de la enfermedad en los dos experimentos realizados, los datos de intensidad de la enfermedad (incidencia y severidad) por unidad experimental fueron ajustados a la forma linearizada de los siguientes modelos epidémicos; Monomolecular, Logístico y Gompertz (Campbell y Madden, 1990). Para decidir el modelo de mejor ajuste,

se eligió aquel que presentó el coeficiente de determinación más alto ( $R^2$ ) y el cuadrado medio del error (CME) más bajo, los cuales se obtuvieron mediante el procedimiento de regresión lineal simple utilizando el paquete SAS (Statistical Analysis System).

Una vez seleccionado el modelo se efectuó una homologación de tasas de incremento de la enfermedad al modelo de mayor frecuencia de ajuste mediante el método de Richard (citado por Campbell y Madden, 1990), el cual especifica que:

$$\text{Rho} = r / [(m)(2)+2]$$

Donde:

Rho= Tasa relativa de incremento de la enfermedad transformada al modelo de mayor ajuste.

r= Tasa relativa de incremento de la enfermedad en cada modelo de ajuste.

m= 0 para el modelo Monomolecular

m= 1 para el modelo Gompertz

m= 2 para el modelo Logístico

Cuando se obtiene el valor de Rho, se despeja la (r) de la fórmula anterior:

$$r = \text{Rho} [(m)(2)+2]$$

Una vez realizadas estas conversiones ya es posible comparar las tasas de incremento de la enfermedad de cada uno de los tratamientos.

Para comparar el efecto de los tratamientos, se empleó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) aplicando la ecuación propuesta por Campbell y Madden (1990).

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} (Y_{i+1} + Y_i / 2) (T_{i+1} - T_i)$$

Donde:  $Y_i$  = Proporción de la enfermedad en la  $i$ -ésima observación.

$T_i$  = Tiempo en la  $i$ -ésima observación.

$n$  = Número total de observaciones.

## RESULTADOS

### Efecto de Antagonistas, Cubiertas Epidermales y Sales Inorgánicas Sobre la Roya Blanca del Crisantemo.

#### PRIMER EXPERIMENTO.

Todos los tratamientos aplicados redujeron significativamente la severidad de la roya blanca del crisantemo con respecto al Testigo, destacando los tratamientos con sales inorgánicas que fueron las que mostraron los niveles de severidad más bajos, mientras que las menores reducciones en severidad se registraron en los tratamientos donde se aplicaron los microorganismos antagonistas (Cuadro 4). Dentro del grupo de sales inorgánicas destacó el Sulfato de Cobre que redujo en un 84.5% la severidad de la enfermedad con respecto al Testigo, seguida por el Bicarbonato de Potasio (82.6%) y el Bicarbonato de Sodio (67.6%) (Cuadro 4, Fig. 1). Al analizar el efecto de estos productos en el desarrollo de la enfermedad en los diferentes estratos de la planta, a lo largo de todo el ciclo del cultivo, sobresalieron el Sulfato de Cobre y el Bicarbonato de Potasio que redujeron la severidad en 91.3% y 90.3% en el estrato apical; 78.3% y 79.9% en el medio y 79.0% y 85.6% en el basal, respectivamente (Cuadro 4).

De las cubiertas epidermales el Nu Film 17 redujo la severidad de la roya blanca en 62.2% en comparación con el Testigo, asimismo, el Insul Crop y el Saf-T-Side la disminuyeron en 47.9% y 45.8%, respectivamente (Cuadro 4, Fig. 2).

Cuadro 4. Efecto de los tratamientos sobre la severidad (% de área foliar dañada) de la roya blanca del crisantemo en diferentes estratos de la planta. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	% DE ÁREA FOLIAR DAÑADA			
	ESTRATO DE LA PLANTA			
	APICAL	MEDIO	BAJAL	PROMEDIO
T	40.4 a	57.1 a	30.5 a	42.6 a
Ic	18.2 bc	36.7 bc	11.8 bcd	22.2 bcd
Ss	14.6 bcd	32.0 bc	22.2 abc	23.1 bc
Nf	10.3 cde	29.2 cd	8.8 d	16.1 cde
Bk	3.5 e	12.4 e	6.4 d	7.4 ef
Bna	7.3 de	20.4 de	14.0 bcd	13.8 def
Ca	9.6 cde	30.0 bcd	11.2 cd	16.9 cd
Sc	3.9 e	11.5 e	4.4 d	6.6 f
Bs	21.1 b	41.4 b	16.5 bcd	26.3 b
Bl	17.5 bc	36.8 bc	24.0 ab	26.1 b
Vl	14.6 bcd	27.8 cd	16.9 bcd	19.8 bcd

T= Testigo; Ic= Insul Crop; Ss= Saf-T-Side; Nf= Nu Film 17; Bk= Bicarbonato de Potasio; Bna= Bicarbonato de Sodio; Ca= Carbonato de Amonio; Sc= Sulfato de Cobre; Bs= Bacillus subtilis; Bl= Bacillus licheniformis; Vl= Verticillium lecanii. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

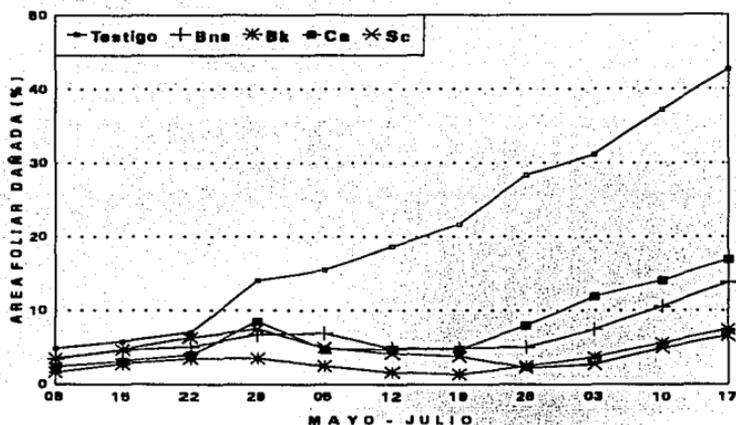


Fig. 1 Efecto de las sales inorgánicas: Bicarbonato de Potasio (Bk), Bicarbonato de Sodio (Bna), Carbonato de Amonio (Ca) y Sulfato de Cobre (Sc) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

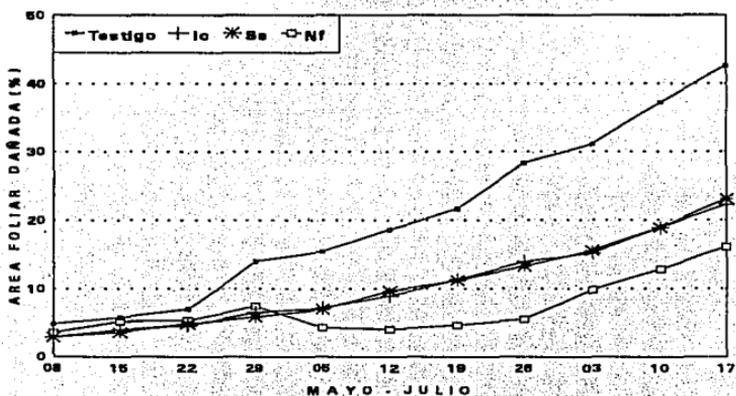


Fig. 2 Efecto de las cubiertas epidérmicas: Insul Crop (Ic), Saf-T-Side (Ss) y Nu Film 17 (Nf) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

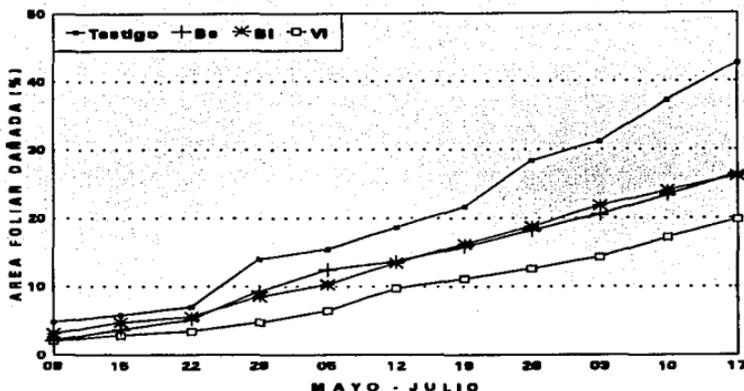


Fig. 3 Efecto de los microorganismos *Bacillus subtilis* (Bs), *Bacillus licheniformis* (Bl) y *Verticillium lecanii* (Vl) en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo. Primer experimento. Buenavista., 1994.

Al comparar la severidad en cada uno de los estratos de la planta observamos que el efecto del Nu Film 17 fue mucho más acentuado con una reducción de 74.5% en el estrato apical, 48.9% en el medio y 71.1% en el basal (Cuadro 4); en tanto, las otras dos cubiertas epidermales, Insul Crop y Saf-T-Side, la redujeron en 55.0% y 63.9% en el estrato apical; 35.7% y 44.0% en el medio y 61.3% y 27.2% en el basal, respectivamente (Cuadro 4).

Los microorganismos antagonistas tuvieron efectos moderados en la disminución de la severidad de la enfermedad, destacando el hongo *Verticillium lecanii* con una reducción promedio de 53.5% y de 63.9% en el estrato apical, 51.3% en el medio y 55.4% en el basal (Cuadro 4). La reducción promedio obtenida con la aplicación de

Bacillus subtilis y B. licheniformis fue muy baja 38.3% y 38.7%, respectivamente (Cuadro 4, Fig. 3).

En general los mejores resultados se obtuvieron con las sales inorgánicas Sulfato de Cobre, Bicarbonato de Potasio y Bicarbonato de Sodio, seguidas por la cubierta epidermal Nu Film 17 y el microorganismo V. lecanii (Cuadro 4).

#### SEGUNDO EXPERIMENTO.

No se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos en la incidencia de la roya blanca del crisantemo en las primeras tres evaluaciones; para la cuarta evaluación, realizada 40 días después del trasplante, el tratamiento Scd+Nf presentó la incidencia más baja (62.5%) y el Testigo la más alta (93.8%). En la quinta evaluación, esto es, a los 50 días después del trasplante todos los tratamientos presentaron 100% de incidencia de la enfermedad (Cuadro 5).

Respecto al efecto de los tratamientos sobre la severidad de la enfermedad, todos los tratamientos mostraron una reducción significativa de 53.6% a 69.8% con respecto al Testigo (Cuadro 6).

El Bicarbonato de Potasio con agua destilada + Nu Film 17 (Bkd+Nf), disminuyó la severidad de la enfermedad en un 69.8% con respecto al Testigo, seguido por el Bicarbonato de Potasio con agua potable + Nu Film 17 (Bkn+Nf) con 67.6% y el Sulfato de Cobre con agua destilada (Scd) con 67.6%; estos tres tratamientos fueron

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos sobre la incidencia de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	INCIDENCIA (%) - DDDT				
	10	20	30	40	50
T	9.4 a	25.0 a	50.0 a	93.8 a	100.0 a
Bkd	0.0 a	3.1 a	37.5 a	75.0 ab	100.0 a
Bkn	6.3 a	18.8 a	43.8 a	84.4 ab	100.0 a
Scd	0.0 a	3.1 a	28.1 a	65.6 ab	100.0 a
Scn	3.1 a	9.4 a	37.5 a	71.9 ab	100.0 a
Nfn	0.0 a	0.0 a	34.4 a	71.9 ab	100.0 a
Vld	9.4 a	18.8 a	50.0 a	78.1 ab	100.0 a
Bkd+Nf	3.1 a	15.6 a	50.0 a	81.3 ab	100.0 a
Bkn+Nf	3.1 a	3.1 a	34.4 a	65.6 ab	100.0 a
Scd+Nf	3.1 a	6.3 a	31.3 a	62.5 b	100.0 a
Scn+Nf	3.1 a	9.4 a	40.6 a	71.9 ab	100.0 a
Vld+Nf	6.3 a	12.5 a	43.8 a	81.3 a	100.0 a

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobre; Nf= Nu Film 17; Vl= Verticillium lecanii; n= Agua potable; d= Agua destilada; DDDT= Días después del trasplante. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

Cuadro 6. Efecto de los tratamientos sobre la severidad (% de área foliar dañada) de la roya blanca del crisantemo en diferentes estratos de la planta. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	% DE ÁREA FOLIAAR DAÑADA			
	ESTRATO DE LA PLANTA			
	APICAL	MEDIO	BASAL	PROMEDIO
T	30.6 a	52.7 a	51.8 a	45.0 a
Bkd	14.3 bcd	27.0 b	19.0 b	20.1 bc
Bkn	15.9 bcd	26.4 b	15.0 b	19.1 bcd
Scd	8.3 d	22.0 bcd	13.5 b	14.6 cd
Scn	12.6 bcd	22.7 bcd	16.0 b	17.1 bcd
Nfn	13.2 bcd	22.1 bcd	14.9 b	16.2 bcd
Vld	16.6 bc	26.9 b	19.3 b	20.9 b
Bkd+Nf	11.6 cd	16.3 d	13.0 b	13.6 d
Bkn+Nf	11.2 cd	17.9 cd	14.7 b	14.6 cd
Scd+Nf	3.1 bcd	18.9 cd	16.9 b	15.8 bcd
Scn+Nf	14.6 bcd	17.9 cd	15.5 b	16.0 bcd
Vld+Nf	20.3 b	24.2 bc	17.6 b	20.7 bc

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobre; Nf= Nu Film 17; Vl= *Verticillium lecanii*; n= Agua potable; d= Agua destilada. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey, P<0.05).

estadísticamente diferentes a los demás tratamientos (Cuadro 6, Fig. 4) y consecuentemente fueron los que presentaron las mayores reducciones en los diferentes estratos (Cuadro 6).

Los tratamientos que presentaron menores reducciones de la enfermedad fueron Verticillium lecanii (Vld) con 53.6%, la combinación de Verticillium lecanii + Nu Film 17 (Vld+Nf) con 54.0% y el Bicarbonato de Potasio con agua destilada (Bkd) con 55.3% (Cuadro 6, Fig. 5).

En general los mejores resultados se lograron con los tratamientos donde se hizo la combinación de una sal inorgánica con la cubierta epidermal Nu Film 17 (Nfn) y prácticamente no hubo diferencias entre emplear agua destilada y agua potable (Cuadro 6).

### **Estudio Epidemiológico.**

#### **PRIMER EXPERIMENTO**

El análisis de correlación entre los factores climáticos y el desarrollo de la enfermedad mostró que la humedad relativa máxima, mínima y media tienen una influencia muy marcada sobre la enfermedad, obteniéndose una correlación positiva altamente significativa ( $R^2 = 0.82, 0.85$  y  $0.89$ , respectivamente), esto es, que a medida que aumenta la humedad relativa se incrementa la enfermedad; en cambio la temperatura máxima, mínima y media, tuvieron una correlación negativa altamente significativa ( $R^2 =$

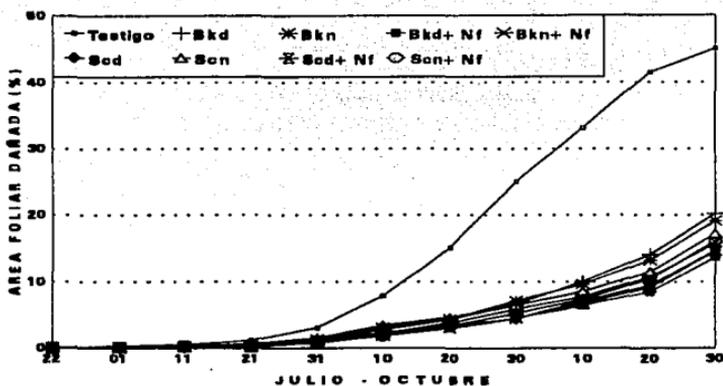


Fig. 4 Efecto de las sales inorgánicas: Bicarbonato de Potasio (Bk) y Sulfato de Cobre (Sc), solas o combinadas con la cubierta epidérmica Nu Film 17 (Nf), en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo; n= Agua potable, d= Agua destilada. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

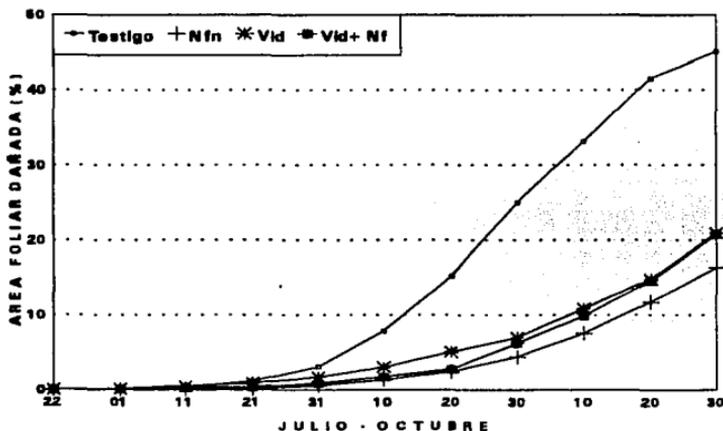


Fig. 5 Efecto del antagonista *Verticillium lecanii* (VI) solo o combinado con la cubierta epidérmica Nu film 17 en el daño foliar inducido por la roya blanca del crisantemo; n= Agua potable, d= Agua destilada. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

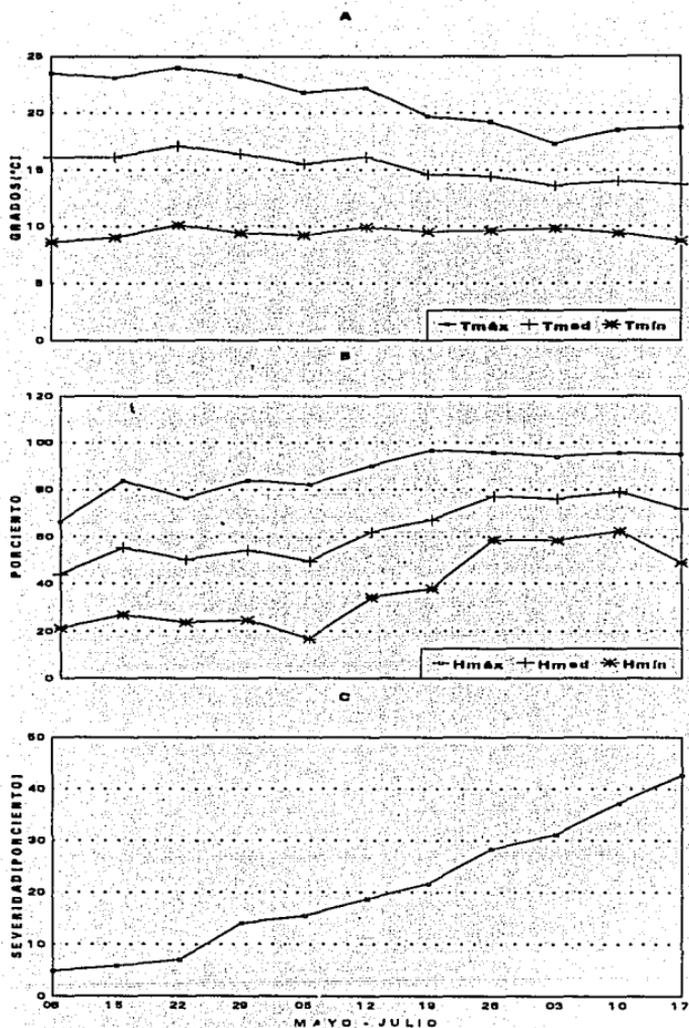
-0.92, -0.85 y -0.94, respectivamente), así en los períodos de temperatura más alta la enfermedad estuvo en los niveles más bajos (Cuadro 7, Fig. 6). Por otra parte, la precipitación y la evaporación presentaron también correlación significativa ( $R^2=0.76$  y  $R^2=-0.67$ , respectivamente), aunque menos marcada (Cuadro 7, Fig. 7).

Cuadro 7. Correlación de los factores climáticos con la severidad de la enfermedad en el primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

	Hmáx	Hmed	Hmín	Tmáx	Tmed	Tmín	Pp	Evap
Sev	0.82 <sup>a)</sup>	0.89	0.85	-0.94	-0.85	-0.92	0.76	-0.67
	0.0020 <sup>b)</sup>	0.0003	0.0008	0.0001	0.0010	0.0001	0.0060	0.0240

Sev= Severidad; Hmáx= Humedad máxima; Hmed= Humedad media; Hmín= Humedad mínima; Tmáx= Temperatura máxima; Tmed= Temperatura media; Tmín= Temperatura mínima; Pp= Precipitación; Evap= Evaporación; <sup>a)</sup>= Valor de correlación, <sup>b)</sup>= Probabilidad.

Para una mayor comprensión del efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de la enfermedad se realizó el ajuste de epidemias a modelos de crecimiento, la comparación de tasas de incremento de la enfermedad y se estimó también el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). De las 11 epidemias, correspondientes a los 11 tratamientos del primer experimento, cinco se ajustaron al modelo Gompertz (G), uno al modelo Logístico (L) y las cinco restantes, que corresponden a los tratamientos que



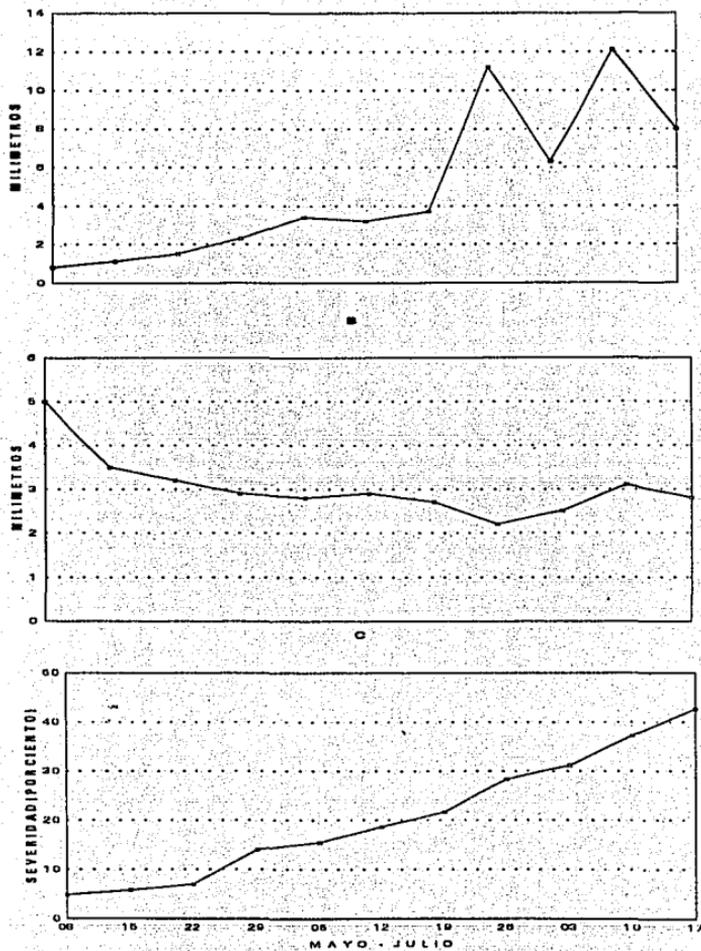


Fig.7. Relación de la severidad de la roya blanca del crisantemo en el Testigo (C), con la precipitación (A) y evaporación (B). Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

presentaron los valores más bajos de severidad de la enfermedad, no se ajustaron a ninguno de los tres modelos aplicados (Cuadros 8 y 9). Así pues, no se tuvo un modelo que explicara de manera categórica el desarrollo de la roya blanca del crisantemo. Para fines comparativos de epidemias, las tasas de incremento de la enfermedad se homologaron al modelo G por ser el que explicó un mayor número de epidemias, no obstante, después de ser ajustadas a este modelo por medio de la técnica de Richards (Campbell y Madden, 1990), no se encontraron diferencias significativas entre tasas relativas de incremento de la enfermedad en los tratamientos (Cuadro 9); esto reafirmó aún más la necesidad de recurrir a una prueba de medias del ABCPE, que es el análisis recomendado cuando existen epidemias que por sus características no se ajustan a ningún modelo de crecimiento.

Los tratamientos con menor área bajo la curva de severidad fueron el Bicarbonato de Potasio con (218%-días), el Sulfato de Cobre con (322.4%-días), el Bicarbonato de Sodio (451.9%-días) y el Nu Film 17 (322.4%-días), lo que indica que a lo largo del desarrollo del cultivo fueron los tratamientos que presentaron menor ataque por la roya blanca del crisantemo (Cuadro 10). Entre los tratamientos con mayor área bajo la curva de severidad están el Testigo (1419.6%-días), seguido por Bacillus licheniformis y B. subtilis (964.3%-días y 952.5%-días, respectivamente) que fueron los tratamientos atacados más severamente por la enfermedad (Cuadro 10). El rango del ABCPE fue de 218.0%-días para el Bicarbonato de

Cuadro 8. Parámetros epidemiológicos ( $R^2$ , CME) de los tres modelos de crecimiento para la severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	MODELOS EPIDEMIOLOGICOS					
	GOMPERTZ		LOGISTICO		MONOMOLECULAR	
	$R^2$	CME	$R^2$	CME	$R^2$	CME
T	0.8201	0.0390	0.8228	0.1764	0.7465	0.0092
Ic	0.9263	0.0059	0.9243	0.0419	0.8648	0.0008
Ss	0.8568	0.0132	0.8499	0.0988	0.7817	0.0014
Nf	0.3738	0.0378	0.3506	0.3267	0.3937	0.0018
Bk	0.1690	0.0376	0.1445	0.5470	0.2273	0.0005
Bna	0.2053	0.0547	0.1842	0.5308	0.2404	0.0020
Ca	0.5006	0.0440	0.4660	0.4102	0.5224	0.0019
Sc	0.0015	0.0372	0.0009	0.3947	0.0037	0.0010
Bs	0.8466	0.0198	0.8230	0.1547	0.8046	0.0021
Bl	0.7742	0.0294	0.7626	0.1956	0.7337	0.0032
Vl	0.7755	0.0234	0.7960	0.1607	0.6706	0.0021

T= Testigo; Ic= Insul Crop; Ss= Saf-T-Side; Nf= Nu Film 17; Bk= Bicarbonato de Potasio; Bna= Bicarbonato de Sodio; Ca= Carbonato de Amonio; Sc= Sulfato de Cobre; Bs= *Bacillus subtilis*; Bl= *Bacillus licheniformis*; Vl= *Verticillium lecanii*;  $R^2$ = Coeficiente de determinación; CME= Cuadrado medio del error.

Cuadro 9. Modelo epidemiológico y tasa de incremento (r) de la severidad de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	MODELO EPIDEMIOLOGICO	r, a <sup>1</sup>
T	GOMPERTZ	0.0125 a
Ic	GOMPERTZ	0.0120 a
Ss	GOMPERTZ	0.0124 a
Nf	(-)	(-)
Bk	(-)	(-)
Bna	(-)	(-)
Ca	(-)	(-)
Sc	(-)	(-)
Bs	GOMPERTZ	0.0146 a
B1	GOMPERTZ	0.0140 a
V1	LOGISTICO	0.0233 a

T= Testigo; Ic= Insul Crop; Ss= Saf-T-Side; Nf= Nu Film 17; Bk= Bicarbonato de Potasio; Bna= Bicarbonato de Sodio; Ca= Carbonato de Amonio; Sc= Sulfato de Cobre; Bs= Bacillus subtilis; B1= Bacillus licheniformis; V1= Verticillium lecanii; <sup>1</sup>= Tasa de incremento de la enfermedad transformada al modelo Gompertz; (-)= Ausencia de ajuste. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey, P<0.05).

Cuadro 10. Separación de medias del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Primer experimento. Buenavista, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	ABCPE (% días)
T	1419.6 a
Ic	721.0 bc
Ss	719.2 bc
Nf	482.3 bc
Bk	218.0 c
Bna	451.9 bc
Ca	511.9 bc
Sc	322.4 a
Bs	952.5 ab
Bl	964.3 ab
Vl	652.8 bc

T= Testigo; Ic= Insul Crop; Ss= Saf-T-Side; Nf= Nu Film 17; Bk= Bicarbonato de Potasio; Bna= Bicarbonato de Sodio; Ca= Carbonato de Amonio; Sc= Sulfato de Cobre; Bs= Bacillus subtilis; Bl= Bacillus licheniformis; Vl= Verticillium lecanii. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey, P<0.05).

Potasio a 1419.6%-días para el Testigo, esto significa que el Testigo fue atacado en una proporción seis veces mayor en relación al ataque registrado en las plantas tratadas con Bicarbonato de Potasio (Cuadro 10).

#### SEGUNDO EXPERIMENTO

El análisis de correlación entre el nivel de inóculo e incidencia de la roya blanca del crisantemo indicó una correlación positiva y altamente significativa ( $R^2= 0.84$ ) y entre el nivel de inóculo y severidad de la enfermedad también fue positiva y altamente significativa ( $R^2= 0.95$ ); esto es, que en los dos casos a mayor cantidad de esporas más alto es el nivel de incidencia y severidad de la enfermedad (Fig. 8 y 9), característica típica de las enfermedades policíclicas como la roya blanca del crisantemo.

En contraste con el primer experimento en este segundo experimento el análisis de correlación indicó que solamente la humedad relativa máxima ( $R^2= 0.78$ ), la temperatura mínima ( $R^2= -0.78$ ) y la precipitación ( $R^2= -0.67$ ) tuvieron correlación altamente significativa con la severidad de la enfermedad (Cuadro 11, Fig. 10 y 11).

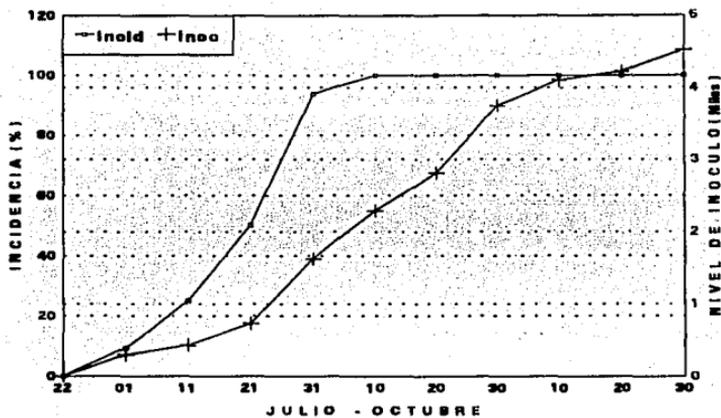


Fig. 8 Relación entre el nivel de inóculo y la incidencia de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

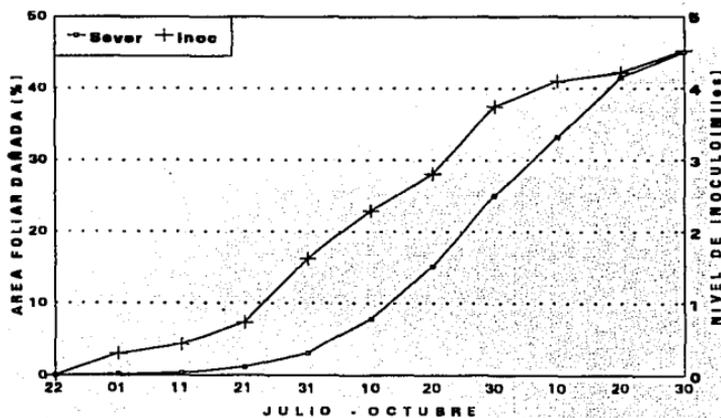


Fig. 9 Relación entre el nivel de inóculo y la severidad de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

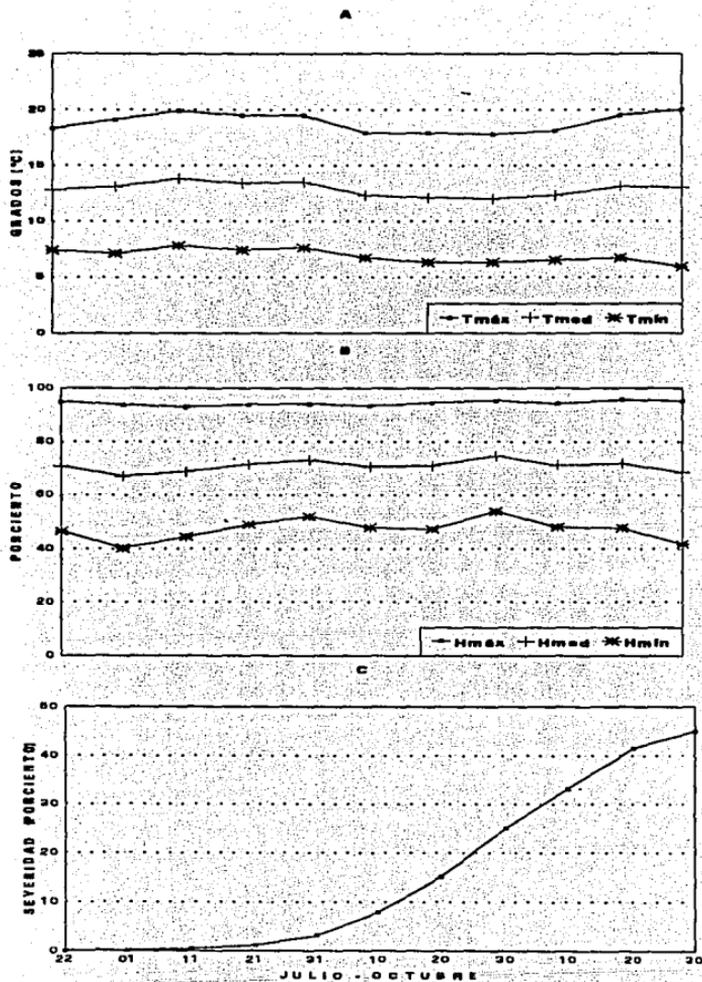


Fig. 10. Relación de la severidad de la roya blanca del orientado en el Testigo (C), con la temperatura máxima, media y mínima (A) y la humedad máxima, media y mínima (B). Segundo experimento. Villa Querrero, Méx., 1994.

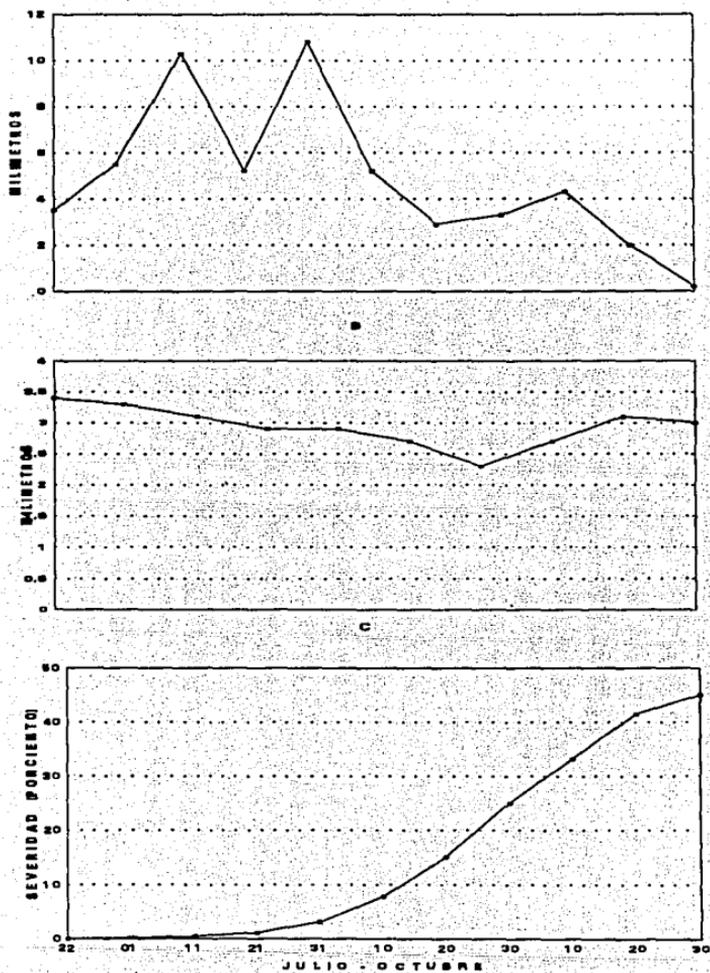


Fig. 11. Relación de la severidad de la roya blanca del crisantemo en el Testigo (C), con la precipitación (A) y evaporación (B). Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

Cuadro 11. Correlación de los factores climáticos con el nivel de inóculo y severidad de la roya blanca del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

	Hmáx	Hmed	Hmín	Tmáx	Tmed	Tmín	Pp	Evap
	0.78 <sup>a)</sup>	0.34	0.21	-0.54	-0.76	-0.86	-0.54	-0.60
Ni	0.0082 <sup>b)</sup>	0.3290	0.5598	0.1069	0.0101	0.0016	0.1035	0.0650
	0.78	0.13	-0.02	-0.29	-0.57	-0.78	-0.67	-0.36
Sev	0.0072	0.7118	0.9598	0.4206	0.0854	0.0078	0.0324	0.3063

Ni= Nivel de inóculo; Sev= Severidad; Hmáx= Humedad máxima; Hmed= Humedad media; Hmín= Humedad mínima; Tmáx= Temperatura máxima; Tmed= Temperatura media; Tmín= Temperatura mínima; Pp= Precipitación; Evap= Evaporación; <sup>a)</sup>= Valor de correlación y <sup>b)</sup>= Probabilidad

Respecto al desarrollo de la enfermedad en los diferentes tratamientos, para el caso de la incidencia se encontró que las 12 epidemias estudiadas, correspondientes a los 12 tratamientos en el experimento, se ajustaron al modelo Gompertz (Cuadro 12 y 13). Por otra parte para el caso de la severidad, 11 de las 12 epidemias estudiadas se ajustaron al modelo Gompertz y una al modelo Logístico, lo que permite establecer categóricamente que en este caso el modelo de Gompertz es el que mejor explica el comportamiento de la roya blanca del crisantemo (Cuadro 14 y 15).

Una vez determinado el modelo de mejor ajuste para la incidencia y severidad se procedió a homologar las tasas relativas

Cuadro 12. Parámetros epidemiológicos ( $R^2$ , CME) de los tres modelos de crecimiento para la incidencia de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	MODELOS EPIDEMIOLOGICOS					
	COMPETE		LOGISTICO		MONOMOLECULAR	
	$R^2$	CME	$R^2$	CME	$R^2$	CME
T	0.6421	3.6143	0.6461	4.3658	0.6368	3.1114
Bkd	0.6280	3.1260	0.6271	3.6671	0.6266	2.7547
Bkn	0.7359	2.6771	0.7408	3.1435	0.7293	2.3673
Scd	0.6147	3.4783	0.6166	4.0896	0.6115	3.0448
Scn	0.6981	3.1044	0.7041	3.6590	0.6907	2.7332
Nfn	0.5773	3.3878	0.5736	3.9780	0.5781	2.9818
Vld	0.7380	2.7459	0.7423	3.2799	0.7313	2.4058
Bkd+nf	0.7294	2.7374	0.7351	3.2136	0.7215	2.4295
Bkn+Nf	0.6123	3.3735	0.6139	3.9063	0.6098	2.9832
Scd+Nf	0.6419	3.4042	0.6465	3.9811	0.6372	2.9832
Scn+Nf	0.6815	3.0128	0.6842	3.5692	0.6767	2.6412
Vld+Nf	0.7151	2.7927	0.7209	3.2626	0.7074	2.4850

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobre; Nf= Nu Film 17; Vl= *Verticillium lecanii*; n= Agua potable; d= Agua destilada.  $R^2$ = Coeficiente de determinación; CME= Cuadrado medio del error.

Cuadro 13. Modelo epidemiológico y tasa de incremento (r) de la incidencia de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	MODELO EPIDEMIOLÓGICO	r <sub>0</sub> <sup>a)</sup>
T	GOMPERTZ	0.0897 a
Bkd	GOMPERTZ	0.0945 a
Bkn	GOMPERTZ	0.0992 a
Scd	GOMPERTZ	0.0983 a
Scn	GOMPERTZ	0.1011 a
Nfn	GOMPERTZ	0.0927 a
Vld	GOMPERTZ	0.0993 a
Bkd+Nf	GOMPERTZ	0.0992 a
Bkn+Nf	GOMPERTZ	0.0963 a
Scd+Nf	GOMPERTZ	0.0985 a
Scn+Nf	GOMPERTZ	0.0981 a
Vld+Nf	GOMPERTZ	0.0978 a

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobro; Nf= Nu Film 17; Vl= Verticillium lecanii; <sup>a)</sup> = Tasa de incremento de la enfermedad transformada al modelo Gompertz; n= Agua potable; d= Agua destilada. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey, P<0.05).

Cuadro 14. Parámetros epidemiológicos ( $R^2$ , CME) de los tres modelos de crecimiento para la severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	MODELOS EPIDEMIOLOGICOS					
	COMPETITIVO		LOGÍSTICO		HIERARQUICO	
	$R^2$	CME	$R^2$	CME	$R^2$	CME
T	0.9808	0.0098	0.9494	0.2001	0.8900	0.0055
Bkd	0.0046	0.9417	0.9417	0.1231	0.8495	0.0009
Bkn	0.0022	0.9656	0.9656	0.0838	0.8592	0.0007
Scd	0.0039	0.9289	0.9289	0.1353	0.8706	0.0003
Scn	0.0061	0.9141	0.9141	0.1721	0.8489	0.0006
Nfn	0.0037	0.9571	0.9571	0.1002	0.8496	0.0006
Vld	0.0019	0.9702	0.9702	0.0679	0.8340	0.0010
Bkd+NF	0.0031	0.9745	0.9745	0.0499	0.8033	0.0004
Bkn+NF	0.0030	0.9396	0.9396	0.1109	0.8586	0.0004
Scd+NF	0.0055	0.9323	0.9323	0.1256	0.8318	0.0004
Scn+NF	0.0120	0.9226	0.9226	0.1704	0.7238	0.0011
Vld+NF	0.0052	0.9875	0.9875	0.0317	0.8050	0.0012

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobre; Nf= Nu Film 17; Vl= Verticillium lecanii; n= Agua potable; d= Agua destilada;  $R^2$ = Coeficiente de determinación; CME= Cuadrado medio del error.

Cuadro 15. Modelo epidemiológico y tasa de incremento (r) de la severidad de la roya blanca del crisantemo en los diferentes tratamientos. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTOS	MODELO EPIDEMIOLOGICO	$r_0$ <sup>a1</sup>
T	GOMPERTZ	0.0247 a
Bkd	GOMPERTZ	0.0170 a
Bkn	GOMPERTZ	0.0154 a
Scd	GOMPERTZ	0.0147 a
Scn	GOMPERTZ	0.0143 a
Nfn	GOMPERTZ	0.0174 a
Vld	GOMPERTZ	0.0150 a
Bkd+Nf	GOMPERTZ	0.0129 a
Bkn+Nf	GOMPERTZ	0.0146 a
Scd+Nf	GOMPERTZ	0.0135 a
Scn+Nf	GOMPERTZ	0.0146 a
Vld+Nf	LOGISTICO	0.0383 a

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobre; Nf= Nu Film 17; Vl= *Verticillium lecanii*; <sup>a1</sup>= Tasa de incremento de la enfermedad transformada al modelo Gompertz; n= Agua potable; d= Agua destilada. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey,  $P < 0.05$ )

de crecimiento al modelo Gompertz con el fin de realizar pruebas de separación de medias. No se encontraron diferencias estadísticas significativas en las tasas de crecimiento de la incidencia y severidad de la enfermedad (Cuadro 13 y 15).

El análisis del ABCPE para la severidad permitió confirmar que los tratamientos que a lo largo del ciclo de cultivo mostraron menor ataque por la enfermedad, fueron también los que tuvieron la menor área bajo la curva de severidad: Bkd+Nf con 323.1%-días, Bkn+Nf con 335.0%-días, Scd+Nf con 345.5%-días y Scd con 347.0%-días; y los que presentaron mayor área bajo la curva fueron el Testigo (1479.6%-días), Vld (537.3%-días) y Bkd (490.0%-días) (Cuadro 16). El rango del ABCPE fue de 323.1%-días para el Bicarbonato de Potasio con agua destilada + Nu Film 17 (Bkd+Nf) y 1479.6%-días para el Testigo, indicando que el tratamiento con mayor ABCPE (Testigo) fue atacado cuatro veces más que el Bkd+Nf que presentó la menor ABCPE (Cuadro 16).

En relación al efecto de los tratamientos en el número de tallos (NT), diámetro de tallos (DT), porcentaje de flores semiabiertas (%FSA), porcentaje de tallos con botón (%TB) y diámetro de flores abiertas (DFA), no hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Cuadro 17). En la variable longitud de tallos (LT), el tratamiento Bkd+Nf fue el único que mostro un incremento significativo (64.6 cm); en tanto que el Scd tuvo los tallos más cortos (46.8 cm) (Cuadro 17). En la variable

Cuadro 16. Separación de medias del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRATAMIENTO	ABCPE (5-días)
T	1479.6 a
Bkd	490.0 bc
Bkn	484.6 bcd
Scd	347.0 def
Scn	448.4 bcdef
Nfn	360.9 cdef
Vld	537.3 b
Bkd+Nf	323.1 f
Bkn+Nf	335.0 ef
Scd+Nf	345.5 def
Scn+Nf	372.5 cdef
Vld+Nf	464.9 bcde

T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobre; Nf= Nu Film 17; Vl= Verticillium lecanii; n= Agua potable; d= Agua destilada. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey,  $P < 0.05$ ).

Cuadro 17. Efecto de los tratamientos sobre la producción del crisantemo. Segundo experimento. Villa Guerrero, Méx., 1994.

TRAT.	SEV	NT	LT	DT	%TSB	%TB	%FSA	%FA	DFA
T	45.0 a	2.2 a	53.6 bc	0.48 a	0.00 a	18.1 a	33.1 a	48.8 a	7.7 a
Bkd	20.1 bc	2.3 a	54.6 bc	0.45 a	0.76 a	20.9 a	42.0 a	34.7 a	7.3 a
Bkn	19.1 bcd	2.5 a	56.8 abc	0.45 a	0.90 a	26.4 a	33.1 a	39.6 a	7.6 a
Scd	14.6 cd	2.2 a	46.8 c	0.45 a	41.20 a	29.6 a	27.0 a	2.2 b	7.8 a
Scn	17.1 bcd	2.6 a	55.8 abc	0.48 a	7.15 a	21.2 a	35.4 a	36.3 a	7.7 a
Nfn	16.2 bcd	2.2 a	57.0 ab	0.48 a	0.00 a	17.9 a	32.9 a	49.3 a	7.9 a
Vld	20.9 b	2.1 a	60.1 ab	0.50 a	0.00 a	17.9 a	42.0 a	40.2 a	7.7 a
Bkd+Nf	13.6 d	2.5 a	64.6 a	0.50 a	0.00 a	20.8 a	40.9 a	38.3 a	7.8 a
Bkn+Nf	14.6 cd	2.5 a	58.1 ab	0.45 a	2.70 a	18.2 a	41.4 a	37.7a	7.3
Scd+Nf	15.8 bcd	2.4 a	58.5 ab	0.50 a	0.00 a	12.8 a	44.5 a	42.7 a	7.3 a
Scn+Nf	16.0 bcd	2.3 a	54.9 abc	0.43 a	1.05 a	15.0 a	29.3 a	53.6 a	7.1 a
Vld+Nf	20.7 bc	2.6 a	60.4 ab	0.50 a	0.00 a	19.3 a	34.5 a	46.3 a	7.6 a

TRAT= Tratamientos; SEV= Severidad; NT= Número de tallos; LT= Longitud de tallos; DT= Diámetro de tallos; %TSB= Porcentaje de tallos sin botón floral; %TB= Porcentaje de tallos con botón floral; %FSA= Porcentaje de flores semiabiertas; %FA= Porcentaje de flores abiertas; DFA= Diámetro de flores abiertas; T= Testigo; Bk= Bicarbonato de Potasio; Sc= Sulfato de Cobres; Nf= Nu Film 17; Vl= *Verticillium lecanii*; n= Agua potable; d= Agua destilada. Valores seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente (Tukey, P<0.05).

por ciento de tallos con flores abiertas (%FA), el Scd presentó el valor más bajo de tallos floreados (2.2%), siendo estadísticamente diferente a los demás tratamientos, esto se reflejó en que dicho tratamiento tuviera el porcentaje más alto de tallos sin botón (%TSB), siendo también en esta variable estadísticamente diferente del resto de los tratamientos (Cuadro 17).

Las observaciones y resultados obtenidos en ambos experimentos indican que el avance de la roya blanca del crisantemo se da del estrato basal al apical. La enfermedad inicia en el estrato basal por ser la parte de la planta que está expuesta durante más tiempo al inóculo mientras la planta se establece y produce más follaje, después aparece en forma acentuada en el estrato medio y posteriormente en el apical, situación que coincide con lo reportado por Smits et al (1992) y Whipps (1993). Cabe mencionar que al momento del desbotonado se incrementa rápidamente la severidad de la enfermedad en el estrato apical, lo que provocó que pese haber mantenido a la enfermedad en niveles bajos durante la mayor parte del ciclo del cultivo, ésta se dispara en el tercio superior del tallo floral, convirtiéndose en una fuerte limitante para la comercialización del producto. En ambos experimentos al momento del corte de la flor no se observaron diferencias marcadas en la severidad de la enfermedad entre los tratamientos y el Testigo.

## D I S C U S I O N

Para el desarrollo de las enfermedades en las plantas es necesario la interacción de un hospedero susceptible, un patógeno virulento y un ambiente favorable, dentro de este último destacan los factores climáticos que tienen una influencia determinante en la presencia o ausencia de la enfermedad. Los resultados del presente trabajo indicaron que la precipitación, temperatura y humedad relativa fueron fundamentales para el desarrollo de la roya blanca del crisantemo.

En términos generales las condiciones de temperatura y humedad que prevalecieron durante el desarrollo de ambos experimentos estuvieron en el rango que favorece el desarrollo de la enfermedad (10-24 °C y más de 90% de humedad relativa) (Fig. 6 y 10). Lo anterior coincide con lo reportado por Yamada (1956) y Firman y Martin (1968), quienes determinaron que las condiciones bajo las cuales se desarrollan las diferentes fases de *Puccinia horiana* se encuentran en el rango de 10 a 24 °C, ocurriendo la germinación de teliosporas a 13-24 °C, la de basidiosporas a 10-20 °C y la penetración de basidiosporas en las hojas a 17-24 °C; para todos estos procesos la temperatura óptima es de 17 °C, siempre y cuando la humedad relativa sea superior a 90%.

La correlación positiva altamente significativa existente entre la cantidad de inóculo e intensidad de la enfermedad (incidencia y severidad) resulta lógica debido a que generalmente las enfermedades policíclicas comienzan con poco inóculo, pero éste se incrementa con el tiempo si las condiciones son apropiadas para su desarrollo, provocando directamente un aumento en la incidencia y severidad de la enfermedad. De ahí la importancia de cuantificar la densidad de inóculo primario y posteriormente del inóculo secundario por ser el responsable de las siguientes infecciones. En el segundo experimento la cantidad de inóculo cuantificado en las parcelas tratadas con Scd+Nf (2362.8 esporas/día) fue estadísticamente diferente a la del Testigo (2475.5 esporas/día), sugiriendo que con los tratamientos aplicados se logró reducir la producción de inóculo y por tanto se tuvo un retraso en la fase de crecimiento exponencial de la enfermedad, por lo que la severidad (% de área foliar dañada) fue significativamente menor en todos los tratamientos en relación al Testigo. Sin embargo, no fue posible impedir elevados niveles de incidencia de la roya blanca del crisantemo, la cual fue del 100% a los 50 días después del trasplante (Cuadro 5). Siendo la roya blanca del crisantemo una enfermedad policíclica, la sola reducción del inóculo primario es insuficiente para disminuir la enfermedad, por lo que la atención se debe centrar en evitar la producción de inóculo secundario (Dickinson y Lucas, 1987).

Las estrategias de manejo que fueron probadas en este trabajo estuvieron dirigidas en el primer experimento, a evitar la producción de inóculo secundario dado que las aplicaciones se iniciaron en el momento en que fueron detectados los primeros síntomas; y en el segundo a reducir tanto el efecto del inóculo primario como secundario por lo que la aplicación de los tratamientos se inició desde el momento del trasplante.

En el primer experimento, al realizar el ajuste de las epidemias a los modelos de crecimiento no hubo un modelo que explicara en forma predominante el comportamiento de la enfermedad, ésto debido tal vez a que el seguimiento de la enfermedad no se hizo en las mismas plantas, obteniendo así datos demasiado heterogéneos. En el segundo experimento se estimó el tamaño de muestra (Kranz y Rotem, 1988) y la secuencia del comportamiento de la enfermedad se hizo en las mismas plantas en cada uno de los tratamientos durante todo el ciclo del cultivo. Así, en el segundo experimento en el caso de la incidencia de la roya blanca, las 12 epidemias se ajustaron al modelo Gompertz (G), ésto se obtuvo considerando los parámetros epidemiológicos  $R^2$  y CME; pero como en el análisis los valores de  $R^2$  fueron bajos, y entre el modelo Logístico (L) y Gompertz (G), no hubo grandes diferencias en este parámetro, se dió mayor peso al CME con el fin de determinar al mejor modelo y en base a éste criterio las epidemias en su totalidad se ajustaron al modelo G (Cuadro 12 y 13). En el análisis de severidad, 11 de la 12 epidemias se ajustaron al modelo G

(Cuadro 14 y 15). Así pues, el modelo que mejor explicó el comportamiento de la roya blanca del crisantemo fue el Gompertz.

Las epidemias que se ajustaron al modelo G indican que hubo un crecimiento explosivo de la enfermedad tempranamente. Este modelo tiene su máxima severidad o punto de inflexión cuando alcanza el 37% de la epidemia, después del cual disminuye el ritmo de su crecimiento; tal tipo de crecimiento corresponde al comportamiento que en general tienen las enfermedades policíclicas, por la gran cantidad de inóculo secundario que producen y por las constantes infecciones que generan en sólo un ciclo de cultivo cuando las condiciones climáticas les son favorables.

Los tratamientos con los que se obtuvo una mayor disminución de la severidad de la enfermedad en el primer experimento, fueron el Sulfato de Cobre (84.5% de reducción), Bicarbonato de Potasio (82.6%), Bicarbonato de Sodio (67.6%), Nu Film 17 (62.2%) y Verticillium lecanii (53.5%); en el segundo experimento la combinación del Bicarbonato de Potasio con agua destilada+ Nu Film 17 redujo la enfermedad en 69.8%, el Bicarbonato de Potasio con agua potable + Nu Film 17 en 67.6% y el Sulfato de Cobre con agua destilada en 67.6%. Los resultados obtenidos con las sales inorgánicas fueron similares a los reportados contra enfermedades en rosa, cucurbitáceas y euonymus (Homma et al, 1981; Horst et al, 1992; Ziv y Hagiladi, 1993; Ziv y Zitter, 1992); y los de la

cubierta epidermal a los reportados contra la roya de la hoja y cenicilla del trigo, y cenicilla de las cucurbitáceas (Ziv y Frederiksen, 1987; Ziv y Zitter, 1992).

Los microorganismos antagonistas aunque también redujeron significativamente la severidad de la enfermedad con respecto al Testigo, la magnitud de la reducción fue menor en comparación con las sales y cubiertas epidermales. El hongo Verticillium lecanii fue el que mostró mayor efecto, reduciendo la severidad en 53.5% y 53.6% en el primer y segundo experimento, respectivamente. Dichos resultados distan mucho de los reportados por Srivastava et al (1985), quienes mencionan que en condiciones de invernadero la infección de teliosporas de P. horiana por V. lecanii fue de 90-95% en sólo 5 días. El mismo autor menciona un control de 84-92% de P. dianthi, 56-64% de P. malvacearum y 60-62% de P. glomerata, en tanto que Monzón (1993) reporta 80% de infección sobre las pústulas de la roya del cafeto en invernadero. Estas diferencias tan contrastantes entre nuestros resultados y los obtenidos por otros investigadores, podrían explicarse por las diferentes condiciones bajo las cuales el micoparasitismo de V. lecanii fue probado, en campo en nuestro caso e invernadero en los trabajos citados.

La acción que ejerce V. lecanii es básicamente sobre las teliosporas, las cuales al germinar rápidamente sin pasar por un periodo de dormancia son penetradas más fácilmente que aquellas donde la germinación es más lenta (Srivastava et al, 1985),

previniendo con ello la producción de inóculo secundario, disminuyendo así la severidad de la enfermedad.

Respecto a los mecanismos de acción fungicida de las sales inorgánicas, Homma et al (1981) mencionan que las sales alteran el pH de la superficie de la hoja, generando un alto potencial osmótico que hace muy difícil la sobrevivencia de los patógenos; este efecto se observó con la aplicación de Bicarbonato de Sodio, el cual incrementó el pH a 8.5 impidiendo la germinación de Penicillium digitatum en cítricos y Botrytis cinerea en lechuga.

La protección lograda por la cubierta epidermal Nu Film 17 puede deberse a alguno de los mecanismos de protección que se han sugerido para las cubiertas epidermales: bajo potencial hídrico debido a sus características hidrofóbicas; barrera física difícil de penetrar por la resistencia enzimática que posee (Ziv y Hagiladi, 1993); y alteración de la topografía de la superficie de la hoja (Zekaria-Oren et al, 1992), interfiriendo de esta manera con el reconocimiento del hospedante por el hongo y en general con los tropismos que tienen lugar durante la fase de penetración (Wynn y Staples, 1981).

El análisis del ABCPE permitió realizar una mejor valoración del efecto de los tratamientos aplicados, sobre el impacto de la enfermedad en el cultivo. En el primer experimento los tratamientos con mayores áreas bajo la curva de severidad de la enfermedad

(Testigo (T), Bacillus subtilis (Bs) y Bacillus licheniformis (Bl)), no necesariamente fueron los que mostraron las tasas de crecimiento más altas, las cuales correspondieron al T, Saf-T-Side (Ss), Insul Crop (Ic) y Verticillium lecanii (Vl) (Cuadro 9 y 10), y la explicación de esto es que el aumento de la enfermedad en el caso del T, Ss, Ic y Vl fue retardado y sólo se incrementó al final del ciclo del cultivo, mientras que T, Bs y Bl tuvieron desde el principio niveles altos de severidad, manteniendo tasas moderadas pero sostenidas de incremento de la enfermedad, Así que al final por ser un valor acumulado durante todo el ciclo presentaron mayores áreas bajo la curva de severidad; resultados similares fueron reportados por Pedroza (1993) para el tizón común del frijol, roya y mosaico común del frijol.

En el caso del segundo experimento la situación fue similar siendo el Testigo (T), Verticillium lecanii con agua destilada (Vld), Bicarbonato de Potasio con agua destilada (Bkd) y Bicarbonato de Potasio con agua potable (Bkn), los tratamientos con mayor área bajo la curva de severidad; pero los que presentaron mayores tasas de crecimiento fueron Verticillium lecanii con agua destilada + Nu Film 17 (Vld+NF), T y Nu Film 17 con agua potable (NFn). Esto nos indica que para fines de comparación de epidemias el ABCPE es un parámetro muy importante ya que muestra los tratamientos que resultan con menores daños a lo largo del ciclo del cultivo, independientemente de las tasas de crecimiento registradas, porque como se vio en los casos anteriores esta

variable puede resultar engañosa dependiendo de la etapa en la que se presente la mayor tasa de crecimiento.

En la evaluación del rendimiento realizada solamente en el segundo experimento, no se observaron diferencias significativas entre el Testigo y los demás tratamientos aún cuando en la variable severidad estas diferencias fueron considerables. Esto hace pensar que si bien los tratamientos aplicados disminuyeron la severidad de la enfermedad, también algunos de ellos pudieron haber tenido un efecto negativo en el desarrollo de la planta. Dicha especulación se sustenta en el hecho de que el Sulfato de Cobre con agua destilada (Scd) provocó un retraso considerable del cultivo, de manera que al final predominaron las plantas con tallos sin botón floral (%TSB) (Cuadro 17). Posiblemente los tratamientos al ser aplicados desde el momento del transplante influyeron negativamente en el desarrollo normal de las plantas, ya que los productos aplicados, principalmente las sales, pudieron haber sido un factor más de estrés en el transplante; por otro lado, el intervalo entre cada aplicación fue de sólo 5 días.

Desconocemos por qué después del desbotonado ocurre un aumento considerable en la severidad de la roya. ¿Será que el desbotonado ocasiona cambios bioquímicos y/o fisiológicos que favorecen el establecimiento del patógeno?, por ejemplo, que metabolitos tóxicos dejen de acumularse o disminuya su concentración; la presencia de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobiales en plantas

hospedantes está ampliamente documentada (Allen et al, 1971; Deverall, 1976; Harborne et al, 1976; Walker y Stahmann, 1955). También pudiera ser que al desbotonar, todos los fotoasimilados se canalizan a un sólo brote (demanda), que se constituye entonces en un sustrato muy favorable para el establecimiento del hongo.

Con base en los resultados obtenidos creemos que los productos probados en este trabajo pueden ser de gran utilidad para mantener niveles bajos de severidad de la enfermedad durante la mayor parte del ciclo del cultivo; sin embargo, una vez realizado el desbotonado se justificaría el empleo de algún producto químico orgánico cuya acción es mucho más efectiva en el corto plazo. Desde el punto de vista comercial sería irrelevante que durante la mayor parte del ciclo se mantengan niveles bajos de severidad, si posteriormente en poco tiempo se afecta el estrato de la planta comercialmente importante como lo es el tercio superior del tallo y la flor. En estos casos es donde cobra importancia el concepto de control integrado mediante el empleo de diversas estrategias en momentos específicos y justificados, incluyendo el empleo de productos químicos orgánicos, siempre y cuando se apliquen de manera racional.

## CONCLUSIONES

- Los factores climáticos temperatura máxima y mínima, humedad relativa máxima y precipitación, mostraron una estrecha correlación con el desarrollo de la roya blanca del crisantemo.

- El modelo de crecimiento de la enfermedad que mejor explicó el comportamiento de la roya blanca del crisantemo fue el Gompertz.

- Las observaciones y resultados obtenidos indican que el avance de la roya blanca del crisantemo se dá del estrato basal al apical.

- En el primer experimento los menores niveles de severidad se registraron con la aplicación de las sales inorgánicas Sulfato de Cobre con 84.5% de reducción en la severidad del daño foliar con respecto al Testigo, Bicarbonato de Potasio (82.6%) y Bicarbonato de Sodio (67.2%), seguidos por la cubierta epidermal Nu Film 17 (62.2%) y el microorganismo antagonista V. lecanii (53.5%).

- En el segundo experimento en general los mejores resultados se lograron con los tratamientos: Bicarbonato de Potasio con agua destilada + Nu Film 17 con 69.8% de reducción en la severidad del daño foliar con respecto al Testigo, Bicarbonato de Potasio con agua potable + Nu Film 17 (67.6%) y Sulfato de Cobre con agua destilada (67.6%) y prácticamente no hubo diferencias entre emplear agua destilada y agua potable.

- A pesar de que en ambos experimentos se lograron reducciones significativas en la severidad de daño foliar, al momento del corte de la flor no se observaron diferencias importantes en la severidad de la enfermedad entre los tratamientos y el Testigo.

- El análisis de ABCPE en ambos experimentos confirmó a los tratamientos que presentaron los niveles más bajos de severidad de la enfermedad. En el primer experimento el ABCPE más baja (218.0%-días) fue la del Bicarbonato de Potasio (Bk) y la más alta (1419.6%-días) la del Testigo (T), lo que significa que el T fue atacado en una proporción seis veces mayor que las plantas tratadas con Bk. En el segundo experimento el ABCPE fue (323.1%-días) para el Bicarbonato de Potasio con agua destilada + Nu Film 17 (Bkd+NF) y (1479.6%-días) para el Testigo, siendo éste último atacado cuatro veces más que las plantas tratadas con Bkd+NF.

- La combinación de diversas estrategias de manejo de la enfermedad incluyendo el empleo de fungicidas orgánicos puede ser una opción viable, siempre y cuando se apliquen de manera integral y racional.

## B I B L I O G R A F I A

Allen, P. J., Strange, R. N. and Elnaghy, M. A. 1971. Properties of germination inhibitors from stem rust uredospores. *Phytopathology* 61:1382-1389

Arias, G. P., Angeles, B. L. y Granada, C. L. 1990. Micropropagación de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ram.), FIRA Boletín informativo, 22:7-13

Baker, C. J., Stavely J. R. and Mock, N. 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Dis.* 69:770-772

Baker, C. J., Stavely, J. R., Thomas, C. A., Sasser, M. and MacFall, J. S. 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73:1148-1152

Baker, J. J. 1967. *Chrysanthemum* white rust in England and Wales 1963-1966. *Pl. Path.* 16:162-166

Baker, K. F. and Cook, R. J. 1974. *Biological control of plant pathogens*. W. H. Freeman, San Francisco. 433p.

Barnett, M. L. and Binder, F. L. 1973. The fungal host-parasite relationship. *Annu. Rev. Phytopathol.* 11:273-292

Burrage, S. W. 1978. Monitoring the environment in relation to epidemiology. In: Scott, P. R. and Bainbridge, A. (Eds.) *Plant Disease Epidemiology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford London, Great Britain. pp.93-101

Campbell, R. 1989. *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge University Press, Great Britain, 218p.

Campbell, C. L. and Madden, L. V. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley and Sons, New York. 532p.

Cárdenas, A. M. 1983. Aspectos introductorios sobre epidemiología de enfermedades en plantas. In: Mendoza, Z. C. y Pinto, C. B. (Compiladores): *Principios de Fitopatología y Enfermedades Causadas por Hongos*. Ed. UACH, México. pp.58-72

Carrión, G., Ruiz, B. F. y Alarcón, M. R. 1992. Control biológico de la roya del café por Verticillium lecanii en México. Memorias del VI Congreso Latinoamericano de Fitopatología y VI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, Torremolinos. pp. 194

Chaube, H. S. and Singh, U. S. 1991. Plant disease management. Principles and practices. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, Boston. 319p.

Cook, R. J. and Baker, K. F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 539p.

Deacon, J. W. 1988. Introducción a la micología moderna. Trad. Javier Jiménez Ortega, Ed. LIMUSA, México, D. F. 350 p.

de Jong, J. and Rademaker, W. 1986. The reaction of chrysanthemum cultivars to Puccinia horiana and the inheritance of resistance. Euphytica 35:945-952

Deverall, B. J. 1976. Current perspectives in research on phytoalexins. In: Friend, J. and Threlfall, D. R. (Eds.) Biochemical Aspects of Plant-Parasite Relationships. Academic Press, London, Great Britain, pp.207-223

Dickens, J. S. W. 1968. The resistance of various cultivars and species of chrysanthemum to white rust (Puccinia horiana Henn.) Pl. Path. 17:19-22

Dickens, J. S. W. 1970. Infection of chrysanthemum flowers by white rust (Puccinia horiana Henn.) Pl. Path. 19:122-124

Dickens, J. S. W. 1971. Further observations on the resistance of chrysanthemum cultivars to white rust (Puccinia horiana Henn.) Pl. Path. 20:27-28

Dickinson, C. H. and Lucas, J. A. 1987. Patología vegetal y patógenos de plantas. Trad. Manuel Guzmán Ortíz, 2a. edición. Ed. LIMUSA, México D. F. 312p

Elad, Y., Ziv, O., Ayish, N. and Katan, J. 1989. The effect of film-forming polymers on powdery mildew of cucumber. Phytoparasitica 17:279-288

**Firman, I. D. and Martin, P. H.** 1968. White rust of chrysanthemums. *Ann. appl. Biol.* 62:429-442

**Fry, W. E.** 1982. Principles of plant disease management. Academic Press, Inc., California, USA. 378p.

**García, C. J. y Díaz, P. A.** 1991. Bacillus subtilis como antagonista de Fusarium oxysporum f. ps. niveum y su eficiencia en el control del marchitamiento de la sandía en invernadero. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología, Puebla de los Angeles. pp. 182

**González, M. S. y Montealegre, A. J.** 1981. Notas sobre Uredinales Chilenos, Puccinia horiana P. Henn. sobre Chrysanthemum spp. *Agro Sur* 9:65-66

**Hall, R. A.** 1980. Laboratory infection of insects by Verticillium lecanii strains isolated from phytopathogenic fungi. *Trans. Br. mycol. Soc.* 74:445-446

**Hang, J. S.** 1990. Use of antitranspirant epidermal coatings for plant protection in China. *Plant Dis.* 74:263-266

**Harborne, J. B., Igham, J. L. and Payne, M.** 1976. The isopentenyl isoflavone luteone as a preinfectious antifungal agent in the genus Lupinus. *Phytochemistry* 15:1485-1487

**Hozma, Y., Arimoto, Y. and Misato, T.** 1981. Studies on the control of plant diseases by sodium bicarbonate formulation. *J. Pestic. Sci.* 6:145-153

**Horst, R. K., Kawamoto, S. O. and Porter, L. L.** 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Dis.* 76:247-251

**Jarvis, W. R.** 1992. Managing diseases in greenhouse crops. APS Press, St. Paul, Minnesota. 288p.

**Kamp, M.** 1985. Control of Erysiphe cichoracearum on Zinnia elegans with a polymer-based antitranspirant. *HortScience* 20:879-881

**Király, Z., Klement, Z., Solymosy, F. and Voros, J.** 1974. Methods in plant pathology. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary. 509p.

**Kranz, J. and Rotem, J. (Eds.) 1988.** Experimental techniques in plant disease epidemiology. Springer-Verlag Heidelberg. Germany. 299p.

**Maloy, O. C. 1993.** Plant disease control. Principles and practice. John Wiley and Sons. Inc, New York, USA. 346p.

**Manners, J.G. 1982.** Principles of plant pathology. Cambridge University Press, Great Britain. 264p

**Martin, P. H. and Firman, I. D. 1970.** Resistance of chrysanthemum cultivars to white rust (*Puccinia horiana*). Pl. Path. 19:180-184

**Monzón, A. y Bustamante, E. 1993.** Evaluación de dos aislamientos de *Verticillium spp.* como agente de control biológico de la roya (*H. vastatrix*) del cafeto (*Coffea arabica* L.), en condiciones de invernadero. Manejo Integrado de Plagas 28:11-16

**Mukerji, K. G. and Garg, K. L. (Eds.) 1988.** Biocontrol of plant diseases. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. Vol. I. 211p.

**Nieto, A. D. 1990.** Epidemiología del virus de la mancha anular del papayo bajo diferentes fechas de siembra, densidades de plantación y localidades en Veracruz. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 68p.

**Nigam, N. and Mukerji, K. G. 1988.** Biological control, concepts and practices. In: Mukerji, K. G., and Garg, K. L. (Eds.) Biocontrol of Plant Diseases. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, Vol. I. pp.1-13

**Papavizas, G. C. (Ed.) 1981.** Biological control of plant pathology. Cambridge University Press, Great Britain. 264p.

**Pedroza, S. A. 1993.** Efecto de variedades, densidades de plantas, dosis y fuentes de nitrógeno en la incidencia y severidad de las enfermedades del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis de Doctor en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 166p.

**Peniche, F. R. y Olguin, L. J. 1994.** Flores. Análisis de competitividad. Banco Nacional de Comercio Exterior, S. N. C. (BANCOMEXT). 25p.

Peterson, J. L., Davis, S. H. and Weber, V. V. 1978. The occurrence of Puccinia horiana on Chrysanthemum in New Jersey. Plant Dis. 62:357-360

Punja, Z. K. and Grogan, R. G. 1982. Effects of inorganic salts, carbonate, bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotial germination of Sclerotium rolfsii. Phytopathology 72:635-639

Rademaker, W. and de Jong, J. 1987. Types of resistance to Puccinia horiana in chrysanthemum. Acta Horticulturae 197:85-88

Robinson, A. R. 1987. Manejo del hospedante en patosistemas agrícolas. Trad. Roberto García Espinosa. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx. 281p.

SARE, 1993. Plan de acción para la prevención de la roya blanca del crisantemo (Puccinia horiana). Folleto del Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario, México, D. F. 13p.

SARE, 1994. Campaña contra la roya blanca del crisantemo. Folleto de la Dirección General de Sanidad Vegetal, México, D. F.

SEDAGRO, 1992. Características generales del Estado de México y situación actual de la floricultura. Metepec, México.

Seem, R. C. 1984. Disease incidence and severity relationships. Annu. Rev. Phytopathol. 22:133-150

Singh, V. S. and Deverall, B. J. 1984. Bacillus subtilis as a control agent fungal against pathogens of citrus fruit. Trans. Br. mycol. Soc. 83:487-490

Smith, I. M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D. H. y Archer, S. A. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Trad. Fernando García Arenal. Ed. Mundi-Premsa, Madrid, España. 671p

Smits, G., Rinaldi, R. y Noguera, R. 1992. Roya blanca del crisantemo en Venezuela. Fitopatología 27:90-92

Spencer, D. M. 1980. Parasitism of carnation rust (Uromyces dianthi) by Verticillium lecanii. Trans. Br. mycol. Soc. 74:191-194

Spencer, D. M. and Atkey, P. T. 1981. Parasitic effects of Verticillium lecanii on two rust fungi. Trans. Br. mycol. Soc. 77:535-542

Srivastava, A. K., Défago, G. and Kern, H. 1985. Hyperparasitism of Puccinia horiana and other microcyclic rusts. Phytopath. Z. 114:73-78

Stavely, J. R., Thomas, C. A., Baker, C. J. and MacFall, J. S. 1981. Greenhouse control of bean rust with Bacillus subtilis (Abstr.) Phytopathology 71:771

Sundheim, L. and Tronsmo, A. 1988. Hyperparasites in biological control. In: Mukerji, K. G. and Garg, K. L. (Eds.) Biocontrol of Plant Diseases. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, Vol. I. pp. 53-69

Upadhyay, R. S. and Bharat, R. 1988. Biocontrol agents of plant pathogens: their use and practical constraints. In: Mukerji, K. G. and Garg, K. L. (Eds.) Biocontrol of Plant Diseases. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, Vol. I. pp. 15-36

Uthhede, R. S. 1983. Effects of Bacillus subtilis on growth and protection of onion against white rot. Phytopathol. Z. 106:199

Vanderplank, J. E. 1963. Plant diseases: epidemics and control. Academic Press, Inc. New York. 349p.

Vargas, C. M. 1992. Informe del Consejo de la Flor del Estado de México. Floricultura Intensiva 15:24-29

Vega, M. M. 1989. Avances y perspectivas del control biológico de fitopatógenos en México. Tesis de Licenciatura, Univ. Michoacana San Nicolás de Hidalgo, Michoacán. 92p.

Walker, J. 1983. Distribution and spread of Puccinia horiana and its absence from Australia at present. Trans. Br. mycol. Soc. 81:664-667

Walker, J. C. and Stahmann. 1955. Chemical nature of disease resistance. Ann. Rev. Pl. Physiol. 6:351-366

Whipps, J. M., 1993. A review of white rust (Puccinia horiana Henn.) disease on chrysanthemum and the potential for its biological control with Verticillium lecanii (Zimm.) Viégas. Ann. appl. Biol. 122:173-187

- Wynn, W. K. and Staples, R.C. 1981. Tropisms of fungi in host recognition. In: Pirson, A. and Zimmermann, M. H. (Eds.) Physiological Plant Pathology. Encyclopedia of Plant Physiology. Springer-Verlag, Berlin. pp.45-69
- Yamada, S. 1956. Experiments on the epidemiology and control of chrysanthemum white rust, caused by Puccinia horiana P. Henn. Ann. phytopath. Soc. Japan 20:148-154
- Yang, H. C., Kao, C. W. and Leu, L. S. 1992. The ecology and control of white rust on chrysanthemum. Plant Prot. Bull. 34:125-138
- Zadoks, J. C. and Schein, R. D. 1979. Epidemiology and plant disease management. Oxford, University Press, Inc., USA. 427p.
- Zandvoort, R. 1968. Wind dispersal of Puccinia horiana. Neth. J. Pl. Path. 74:124-127
- Zekaria-Oren, J., Eyal, Z. and Ziv, O. 1991. Effect of film-forming compounds on the development of leaf rust on wheat seedlings. Plant Dis. 75:231-234
- Ziv, O., and Frederiksen, R. A. 1983. Control of foliar diseases with epidermal coating materials. Plant Dis. 67:212-214
- Ziv, O. and Frederiksen, R. A. 1987. The effect of film-forming antitranspirants on leaf rust and powdery mildew incidence on wheat. Pl. Pathol. 36:242-245
- Ziv, O. and Hagiladi, A. 1984. Control of powdery mildew on hydrangea and crape myrtle with antitranspirants. HortScience 19:708-709
- Ziv, O. and Hagiladi, A. 1993. Controlling powdery mildew in euonymus with polymer coatings and bicarbonate solutions. HortScience 28:124-126
- Ziv, O. and Zitter, T. A. 1992. Effects of bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. Plant Dis. 76:513-517