

Efecto de intensidad inicial de enfermedad en la caracterización temporal y espacial de la Mancha Negra del nopal (*Opuntia ficus-indica*)

Effect of initial disease intensity of cactus black spot (*Opuntia ficus-indica*) in the temporal and spatial characterization

Elías Hernández-Sánchez¹, Gustavo Mora-Aguilera^{2*}, Bertha Tlapal Bolaños³, Esteban Rodríguez-Leyva⁴ y Dionicio Alvarado Rosales⁵. ^{1,2,5}Fitopatología, ⁴Entomología y Acarología. Campus Montecillo, Colegio de Posgraduados. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, México. C.P. 56230. ³Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, México. C.P. 56230. *Autor de correspondencia: morag@colpos.mx.

Recibido: Diciembre 01, 2014

Aceptado: Enero 27, 2016

Hernandez-Sánchez E, Mora-Aguilera G, Tlapal-Bolaños B, Rodríguez-Leyva E y Alvarado-Rosales D. 2014. Intensidad de enfermedad inicial en la caracterización temporal y espacial de la Mancha Negra del nopal (*Opuntia ficus-indica*). Revista Mexicana de Fitopatología 32: 132-146.

RESUMEN

La mancha negra, causada por *Pseudocercospora opuntiae*, es la principal enfermedad fungosa del nopal verdura en Tlalnepantla, Morelos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el progreso espacio-temporal de la enfermedad y evaluar la efectividad de seis fungicidas sistémicos. La intensidad epidémica de otoño no fue dependiente del nivel de severidad inicial ($r^2=0.49$), lo que sugiere la ocurrencia de un ciclo principal de infección en verano. La incidencia final (Y_f) de la enfermedad

ABSTRACT

Black spot caused by *Pseudocercospora opuntiae* is a major nopal fungus disease in Tlalnepantla, Morelos. The objective of this research was to characterize the temporal and spatial progress of the disease and evaluate the efficacy of six systemic fungicides. The epidemics intensity in the autumn did not depend on the initial disease severity ($r^2=0.49$), which suggested the occurrence of a major infection cycle in the summer. Final incidence (Y_f) of the disease ranged from 85 to 88 %. From 20.9 to 52.3 % cladodes per plant were damaged and from 37 to 56.4 % plants showed severity levels higher than 20 %. It started with 46 % initial severity (Y_o) and developed to a higher epidemic intensity ($Y_f = 90.5$ spots and ABCPE = 8.6 number of spots per day⁻¹), which led to the development of 3.1 spots per day⁻¹ in a 29-day

varió de 85 y 88 %. Entre 20.9 y 52.3 % de los cladodios por planta resultaron dañados y del 37 al 56.4 % de las plantas presentaron una severidad mayor al 20 %. Con severidad inicial (Y_0) de 46 %, se originó la mayor intensidad epidémica ($Y_f = 90.5$ manchas y ABCPE = 8.6 número manchas día⁻¹), lo que implicó el desarrollo en 29 días de 3.1 manchas día⁻¹. Sin embargo, este nivel de severidad fue estadísticamente similar al tipo de epidemias inducidas por $Y_0 = 20.7$ y 73.5 % ($p = 0.05$). La humedad relativa baja (<60 %) estuvo asociada con un largo estadio de las lesiones nuevas. La alta (>80 %) se asoció con un periodo corto para alcanzar una mancha madura. La temperatura mínima tuvo similar asociación con valores de 8 a 12 °C e inferiores a 8 °C para los mismos eventos. Los cambios en la expresión de síntomas determinaron la velocidad de epidemia. Mediante interpolación geoestadística e índices de agregación (I. Morisita de 1.6 a 1.9) se detectó la formación de agregados con dirección a los surcos y efecto de orilla, indicativa del efecto de manejo agronómico en la dispersión de la enfermedad. Dos benzimidazoles tuvieron la mayor efectividad biológica contra el hongo reduciendo en promedio 85.7 % del ABCPE con respecto al testigo ($p = 0.05$). Estos fungicidas sistémicos constituyen una opción para reducir en otoño la expresión epidémica derivada de infecciones en verano.

Palabras clave: *Pseudocercospora* sp, epidemiología, fungicidas.

INTRODUCCIÓN

La mancha negra del nopal, causada por *Pseudocercospora Opuntiae* (Ayala-Escobar *et al.*, 2006; Quezada-Salinas *et al.*, 2006), el picudo del nopal (*Metamasius spinolae*) y la cochinilla del no-

period. However, this severity level was statistically similar to the type of epidemics induced by $Y_0 = 20.7$ y 73.5 % ($p = 0.05$). Low relative humidity (<60 %) was associated with a large stage of new lesions. High relative humidity (>80 %) was associated with a short period for the spot to mature. Minimum temperature had a similar association with values from 8 to 12 °C and lower values for the same events. Changes in the expression of symptoms defined the epidemics speed. Aggregate formation was detected through geostatistical interpolation and aggregation indexes (I. Morisita from 1.6 to 1.9) in direction to rows and border effect, which suggested the effect of agronomic management of disease spreading.

Two benzimidazoles achieved the highest biological efficacy against fungus reducing ABCPE by 85.7 % in average compared to the tester ($p = 0.05$). These systemic fungicides are an option to reduce epidemic expression in autumn caused by infections in summer.

Key words: *Pseudocercospora* sp, epidemiology, fungicides.

INTRODUCTION

Nopal black spot caused by *Pseudocercospora Opuntiae* (Ayala-Escobar *et al.*, 2006; Quezada-Salinas *et al.*, 2006), cactus weevil (*Metamasius spinolae*) and cactus cochineal (*Dactylopius coccus*) are the three main phytosanitary problems of edible nopal in the state of Morelos (GIIN, 2005⁶). In this region, these problems have been addressed as an integral part of the nopal production chain (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008). *P. opuntiae* fungus is a complex problem possibly due to its interaction with other plant pathogens and plant nutrition

pal (*Dactylopius coccus*) son los tres principales problemas fitosanitarios del nopal verdura en Morelos (GIIN, 2005). En esta región, estos problemas se han estudiado como parte integral de la cadena productiva del nopal (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008). El hongo *P. opuntiae* representa un problema complejo por su posible interacción con otros fitopatógenos y con la nutrición de la planta (Quezada-Salinas *et al.*, 2006; Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008). Un aspecto fundamental en el manejo de la enfermedad lo constituye el conocimiento de infecciones e/o inóculo latente en la planta, por el carácter perenne del tejido infectado y la intensa remoción de tejido vía podas que permanece en el suelo. En este estudio, el objetivo fue determinar el progreso espacio-temporal de la mancha negra del nopal en relación a niveles de daño inicial, con el fin de precisar el efecto en la intensidad epidémica y determinar la(s) etapa(s) crítica(s) de infección para optimizar el manejo de fungicidas.

MATERIALES Y MÉTODO

Progreso temporal

Con base en resultados previos respecto al periodo de mayor intensidad y ocurrencia regional de la enfermedad (GIIN, 2005), en otoño del 2006 se seleccionaron tres parcelas (P1-P3) en la zona de mayor incidencia de mancha negra en Tlalnepantla, Morelos (2135-2242msnm). Adicionalmente, se seleccionaron al azar ocho parcelas comerciales distribuidas en la zona. Las plantaciones de 4-6 años de edad correspondieron a nopal verdura tipo Milpa Alta. Con el fin de estimar el efecto del inóculo inicial en el progreso epidémico temporal, se seleccionaron tres cladodios correspondientes a cada una de las seis clases de severidad de la escala

(Quezada-Salinas *et al.*, 2006; Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008). A key aspect of disease management is the knowledge of infections and/or latent inoculum in plants given the perennial nature of the infected tissue and intensive tissue removal by pruning and leaving residues on the soil surface. The objective of this research was to define the spatial-temporal progress of nopal black spot in relation to initial damage levels and define its effect on the epidemic intensity, critical or infection stages, and optimize fungicide management.

MATERIALS AND METHODS

Temporal progress

Based on previous outputs regarding the period of higher regional disease intensity and occurrence (GIIN, 2005), in autumn 2006 three plots were selected (P1-P3) in the area of higher incidence of black spot in Tlalnepantla, Morelos (2135-2242masl) Also, eight commercial plots distributed across the area were randomly selected. 4-6 years old farms corresponded to the Milpa Alta edible nopal type. To estimate the effect of the initial inoculum on the temporal epidemic progress, three cladodes corresponding to each of the six types of severity, according to the scale used, were selected for a total of 18 cladodes in as many plants distributed in three blocks in P1. Each type of severity showed the initial condition of the disease (Y_0). These plants were not chemically treated to control black spot. Starting 11 November, the number of new, fresh and old spots was counted on a weekly basis. Analysis were conducted by plants block and combined. In the eight randomly

empleada, para tener un total de 18 cladodios en igual número de plantas distribuidas en tres bloques en P1. Cada clase de severidad representó la condición inicial de enfermedad (Y_0). Estas plantas no recibieron manejo químico para el control de la mancha negra. Semanalmente, a partir del 11 de noviembre, se contabilizó el número de manchas nuevas, frescas y viejas. Los análisis se realizaron por bloque de plantas y en forma combinada. En las ocho parcelas se seleccionaron al azar 100 plantas que se evaluaron por presencia o ausencia de enfermedad en julio 29 y octubre 7, en 2006, y enero 19 en 2007.

Adicionalmente, se marcaron 39 cladodios seleccionados al azar en P1. Semanalmente se tomó una fotografía digital (1920x2560dpi) con una escala de longitud para registrar la dimensión del cladodio y de la lesión. Con el análisis de 195 imágenes se estudió el desarrollo de la mancha con respecto a tiempo, color y consistencia. La velocidad de crecimiento de cladodios se estudió de yema a tamaño de cosecha para relacionar la madurez del cladodio con la expresión del síntoma. A partir de octubre se colocaron dos sensores de temperatura y humedad relativa (Hobo Data Loggers T^o/Hr). El análisis incluyó el cálculo de intensidad de enfermedad inicial (Y_0) y final (Y_f), y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) mediante programación en SAS (1988) y pruebas de t .

Progreso espacial

Para el estudio espacial, en las tres parcelas (P1-P3) se realizó un censo de 20 surcos x 20 plantas por surco para evaluar la severidad, para lo cual se utilizó una escala logarítmica diagramática (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008). La evaluación se realizó en un cladodio maduro del estrato medio o superior de la planta. En 12 plantas por parcela se cuantificó el total de cladodios, número de manchas viejas,

selected plots 100 plants were evaluated to detect the presence or absence of the disease on 20 July and 7 October, 2006, and 19 January, 2007.

Furthermore, 39 randomly selected cladodes were marked in P1. A digital picture was taken (1920x2560dpi) weekly using a length scale to record cladodes and lesion dimensions. The analysis of 195 images allowed studying the development of spots regarding time, color and consistency. Cladodes growing speed was studied from leaf bud to harvest size to link cladode maturity with symptom expression. As of October, two temperature and relative humidity sensors were placed (Hobo Data Loggers T^o/Hr). The analysis included calculations of the initial (Y_0) and final (Y_f) disease intensity and of the area underneath the disease progress curve (ABCPE) using SAS programming (1988) and t tests.

Spatial progress

For the spatial study, a census of 20 rows x 20 plants/row was taken to evaluate disease severity with a logarithmic diagrammatic scale (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008). The evaluation was conducted using mature cladodes from plant medium or top stratum. The total number of old, fresh and new cladodes spots was counted in 12 plants per plot, as well as the number of cladodes with at least one type of spot. Spot typology was defined by lesion color and consistency. Data analysis included geostatistical interpolative maps made in Surfer[®] ver. 6.04; the Morisita aggregation index was calculated using MorLloyd ver. 1.0, a program developed in MS Excel[®] (Rivas and Mora-Aguilera, 2008).

System fungicide efficacy tests

frescas y nuevas, y el número de cladodios con al menos un tipo de mancha. La tipología de mancha se definió por la coloración y consistencia de la lesión. El análisis de los datos incluyó mapas interpolativos geoestadísticos mediante Surfer® ver. 6.04; se calculó el índice de agregación de Morisita mediante el programa MorLloyd ver. 1.0, desarrollado en MS Excel® (Rivas y Mora-Aguilera, 2008).

Pruebas de efectividad de fungicidas sistémicos

Debido al proceso de infección de verano, se evaluaron fungicidas sistémicos para reducir la expresión epidémica de otoño (Cuadro 1). Las pruebas de efectividad contra *P. opuntiae* se realizaron de octubre del 2006 a enero del 2007, en la parcela P1. Se evaluaron seis fungicidas sistémicos, pertenecientes a tres grupos químicos con distinto mecanismo de acción. La primera aplicación se realizó con una bomba manual (SOLO® 15L) el 28 de octubre y la segunda 21 días después. Los productos se prepararon *in situ* y se empleó un regulador comercial de pH (Dap-Plus® 1mL/L de agua). Se registró el número de manchas nuevas, frescas y

Due to the process of summer infection, systemic fungicides were evaluated to reduce the epidemic expression in autumn (Table 1). Efficacy tests against *P. opuntiae* were conducted from October 2006 to January 2007 in plot P1. Six systematic fungicides from chemical groups with different action mechanism were evaluated. The first application was made using a hand pump (SOLO® 15L) on 28 October, and the second application was made 21 days later. The products were prepared *in situ* adding a commercial pH regulator (Dap-Plus® 1mL/L of water). The number of new, fresh and old cladodes spots with initial damage corresponding to each type of severity according to the scale used was recorded. The design of treatments was a completely randomized factorial 6x2 with three nested replications. Each replication consisted of a 40-plant row. Fungicide efficacy was evaluated using ABCPE (Mora-Aguilera and Rivas, 2001). The median comparison was made using Duncan to $p=0.05$. All the analysis were conducted using SAS (1988).

RESULTS AND DISCUSSION

Cuadro 1. Grupos, productos y dosis de fungicidas sistémicos aplicados en nopal verdura para el control de *Pseudocercospora opuntiae*.

Table 1. Groups, products and doses of systemic fungicides applied to edible nopal to control *Pseudocercospora opuntiae*.

Grupo	Producto	Tratamientos	
		Dosis Baja	Dosis Alta
Estrobirulinas	Azoxistrobin	T1 150g	T2 200g
Benzimidazoles	Benomilo	T3 300g	T4 400g
Benzimidazoles	Carbendazim	T5 340g	T6 400g
Estrobirulinas	Kresoxim-methyl	T7 250g	T8 300g
Triazoles	Tebuconazole	T9 500mL	T10 600mL
Triazoles	Propiconazol	T11 400mL	T12 500mL
Testigo	Testigo	T13 0	-

viejas en cladodios con daño inicial correspondiente a cada clases de severidad de la escala. El diseño de tratamientos fue un factorial 6x2 completamente al azar con tres repeticiones anidadas. Cada repetición consistió de un surco de 40 plantas. La efectividad de fungicidas se evaluó con el ABCPE (Mora-Aguilera y Rivas, 2001). La comparación de medias se realizó con Duncan a $p=0.05$. Todos los análisis se relizaron con SAS (1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Progreso temporal

La incidencia de mancha negra fue variable regional y estacionalmente (Figura 1). En general, la incidencia fue menor en verano (promedio 3.6 %) y la mayor fue en invierno (22.5 %). En la parcela P1, la intensidad de epidemia no estuvo en función del daño inicial de la enfermedad a nivel de cladodio. El incremento acumulado de la enfermedad, estimado mediante el número de manchas activas (frescas y nuevas), fue mayor a un nivel de severidad inicial de 46 % (Y_o), correspondiente al nivel cinco de la escala de severidad empleada (Figura 2). A este nivel Y_f y ABCPE tuvieron valores de 90.5 manchas y 8.6 número manchas día⁻¹, respectivamente, lo que significó el desarrollo de 3.1 manchas día⁻¹ en 29 días. Con nivel inicial de 0 % no hubo progreso epidémico. Con Y_o inferiores a 7.4, la intensidad de epidemia fue baja ($Y_f=27$, ABCPE=2.9) (Figura 2), lo que sugiere procesos temporales dependientes de un incremento de inóculo a través de varios ciclos productivos del cultivo, permitido por el carácter perenne de los cladodios. Para $Y_o=73.5$ %, el progreso epidémico fue inferior que el inducido por $Y_o=46$ % aunque sin diferir estadísticamente (Figura 2). A este nivel de daño, menos del 25 % de tejido estuvo disponible para nuevas infecciones por pérdida de

Temporal progress

Black spot incidence was regionally and seasonably variable (Figure 1). Overall, there was a lower incidence in summer (3.6 % average) and a higher incidence in winter (22.5 %). In plot 1, the epidemics intensity did not correspond to the disease initial damage at cladode level. The cumulative increase of the disease, which was estimated by the number of active spots (fresh and new) was higher at initial severity level 46 % (Y_o) and ranked at level five of the severity scale used (Figure 2). To this level Y_f and ABCPE showed values of 90.5 spots and 8.6 number of spots per day⁻¹, respectively, which suggested the development of 3.1 spots per day⁻¹ in a 29-day period. With 0 % initial levels there was no epidemic progress. When Y_o was lower than 7.4 the epidemics intensity was low ($Y_f=27$, ABCPE=2.9) (Figure 2), which suggests temporal processes that depend on inoculum increases through several crop production cycles due to the perennial characteristics of cladodes. For $Y_o=73.5$ %, the epidemic progress was lower

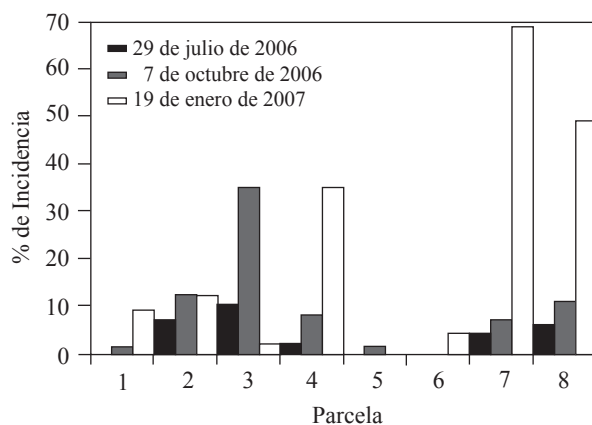


Figura 1. Incidencia de mancha negra en ocho parcelas comerciales de nopal verdura en tres fechas de muestreo. Tlalnepantla, Morelos, 2006-2007.

Figure 1. Black spot incidence in eight edible nopal commercial plots in three sampling dates. Tlalnepantla, Morelos, 2006-2007.

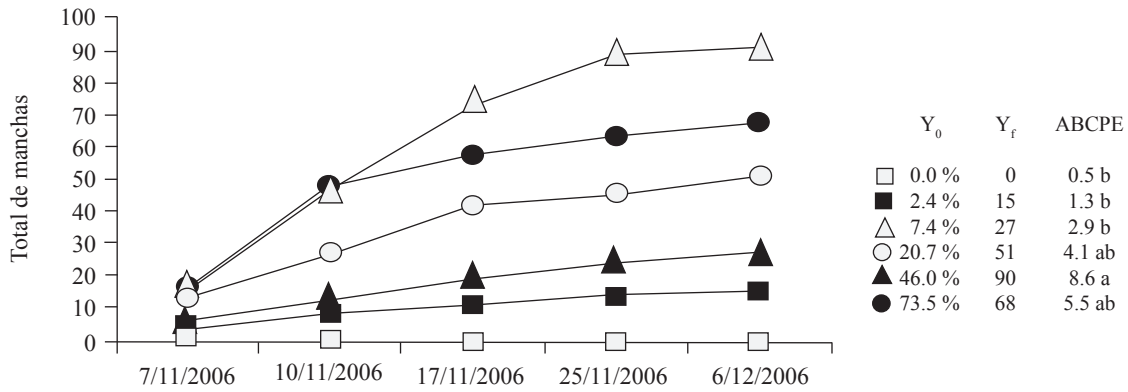


Figura 2. Progreso temporal de la mancha negra en nopal verdura a distintos niveles de severidad inicial (Y_0). ABCPE con al menos una letra en común son estadísticamente iguales (Duncan, $p=0.05$). Tlalnepantla, Morelos. Otoño, 2006.

Figura 2. Temporal progress of edible nopal black spots at different levels of initial severity (Y_0). ABCPE with at least one letter in common are statistically equal (Duncan, $p=0.05$). Tlalnepantla, Morelos. Autumn, 2006.

tejido debido a lesiones viejas (Figura 3).

El progreso epidémico, estimado con el número de manchas frescas y combinando los seis niveles iniciales de severidad, tuvo un máximo acumulado de 187 manchas a 40 días de duración de epidemia. Esto sugiere una baja eficiencia de inóculo y/o reducida densidad del mismo en el aire. No obstante, el daño fue significativo por la expansión de lesión, lo que ocasionó en algunos casos el doblado de cladodios y la pérdida de tejido dañado. La eliminación de tejido puede ser un mecanismo de resistencia en compensación por la consistencia succulenta de la planta. El progreso de la epidemia se asoció a una temperatura mínima promedio de 6.8 °C y una humedad relativa entre 50 y 100 % (Figura 3). En áreas bajas de la región, con nulo desarrollo epidémico, la temperatura mínima promedio fue de 11.1 °C y la humedad relativa entre 24 y 88.6 % (Hernández-Sánchez, 2008). Debido al periodo de incubación del hongo de 90 a 104 días (Quezada-Salinas *et al.*, 2006; GIIN. 2008. Datos No Publicados) y a la duración de epidemia (40 días), se postula en primer lugar que el nivel inicial de daño (Y_0) no tuvo una correlación directa con la intensidad epidémica como se ha demostrado con

than the epidemics progress induced by $Y_0=46\%$, though no statistical differences were reported (Figure 2). To this damage level, less than 25 % tissue was available for new infections due to tissue loss caused by old lesions (Figure 3).

The epidemic progress, estimated by the number of fresh spots and by combining the six initial severity levels, had a maximum cumulative of 187 spots at 40 days of epidemics. This suggests a low inoculum efficiency and/or reduced density of the inoculum in the air. However, damage was significant because of the lesion expansion, which in some cases caused cladodes to fold and loss of damaged tissue. Tissue removal may be a resistance mechanism to compensate the succulent consistency of the plant. Epidemic progress was associated with an average minimum temperature of 6.8 °C and relative humidity between 50 and 100 % (Figure 3). In the lower areas of the region, there was no epidemics development; average minimum temperature was 11.1 °C and relative humidity between 24 and 88.6 % (Hernández-Sánchez, 2008⁸). Given the fungus incubation period ranging from 90 to 104 days (Quezada-Salinas *et al.*, 2006; GIIN. 2008. Unpublished data) and the length

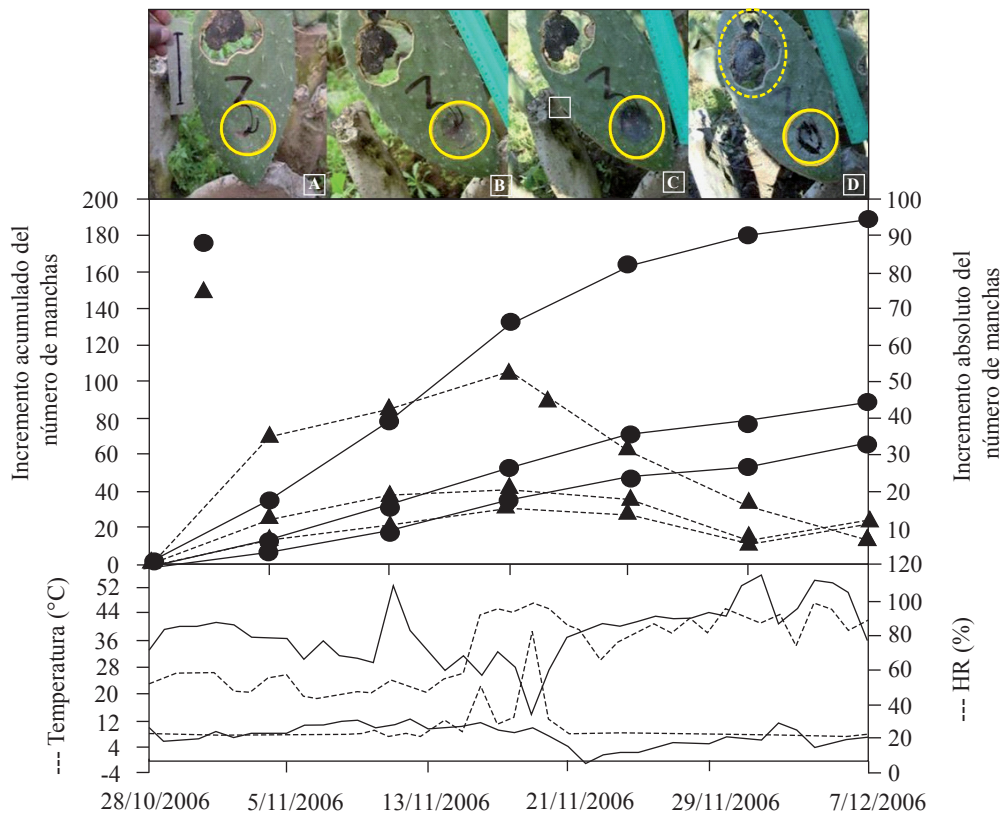


Figura 3. Desarrollo de lesión y curvas de progreso temporal de mancha negra del nopal verdura. A y B=mancha nueva, C=mancha fresca, y D=mancha vieja sin y con pérdida de tejido, círculo sólido y punteado, respectivamente. Tlalnepantla, Morelos. Otoño, 2006.

Figure 3. Lesion development and temporal progress curves of edible nopal black spots. A and B=new spot, C=fresh spot, and D=old spot with and without tissue loss, solid and dotted circle, respectively. Tlalnepantla, Morelos. Autumn 2006.

otros patosistemas de múltiples ciclos de infección concurrentes durante un proceso epidémico (Campbell y Madden, 1990). Por esta razón niveles de daño iniciales superiores a 73 % no se asociaron con las epidemias de mayor intensidad. En segundo lugar, la estructura epidémica estaría determinada por la velocidad de expresión del síntoma, lo que explica la ausencia de una curva de forma típica (p.e. logístico, exponencial, monomolecular). Por lo tanto, el periodo del 10 al 25 de noviembre, asociado con el mayor incremento absoluto de la enfermedad (Figura 3), en realidad correspondió a un periodo principal de infección en verano estimado

of epidemics (40 days), it is stated that, firstly, the initial level of damage (Y_0) did not have any direct correlation with the epidemics intensity, as it has been proven with other multiple-cycle and concurrent infection pathosystems during an epidemics process (Campbell and Madden, 1990). For this reason, initial damage levels higher than 73 % were not associated with higher-intensity epidemics. Secondly, the epidemics structure may be defined by the speed at which symptoms appear, which explains the absence of a typical curve (for example, logistic, exponential, monomolecular). Therefore, the period from 10-25 November,

entre julio 26 y agosto 25. Previamente, se ha demostrado la aparente ocurrencia de un pico de esporulación a finales de julio y en los primeros días de agosto (Quezada-Salinas, 2005. Datos No Publicados). A nivel regional, la incidencia de la enfermedad fue baja en verano, mientras que en otoño y principios de invierno la incidencia fue alta lo que corrobora el segundo postulado (Figura 1). Un ciclo secundario de infección se puede presentar en otoño con expresión epidémica de baja intensidad a finales de invierno ($Y_f=1.8-4\%$ al 14 de marzo) (GIIN, 2008. Datos No Publicados). En esta etapa, la humedad relativa decrece notoriamente (de 90 a 40 %). Esto establece la posibilidad de infecciones latentes como otro mecanismo de inducción patogénica en adición a esporas aéreas.

Con respecto a la velocidad de expresión del síntoma (Figura 3), se requirió de 8 a 14 días para el desarrollo de una lesión fresca semicircular de 2 a 4 cm. Esta fue de color pardo oscuro a negro, de consistencia blanda y ligeramente hundida. Se formó a partir de una lesión nueva, tipificada por una mancha circular, clorótica, de aproximadamente 1 cm de diámetro. Las lesiones viejas se formaron entre 24-30 y 14-22 días después de las nuevas y frescas, respectivamente. En este caso las lesiones pueden coalescer formando manchas irregulares negras y secas, las cuales pueden desprenderse dejando huecos en el cladodio (Figura 3). Algunos signos de apariencia granulosa negra, posiblemente de tipo estromático (Ayala-Escobar *et al.*, 2006), putativos a *P. opuntiae*, se formaron en la fase final de lesiones frescas.

La humedad relativa baja (<60 %) se asoció con un largo estadio de las lesiones nuevas. Por el contrario, la alta (>80 %) se asoció con tiempo más corto para alcanzar una mancha vieja. La temperatura mínima tuvo similar asociación con valores de 8 a 12 °C e inferiores a 8 °C para los mismos eventos (Figura 3), por lo que alta humedad y baja

asociada con el mayor aumento absoluto de la enfermedad (Figura 3) realmente correspondió a un período de infección principal estimado en verano entre julio 26 y agosto 25. En el pasado, la aparente concurrencia de un pico de esporulación al final de julio y principios de agosto (Quezada-Salinas, 2005. Datos No Publicados) ha sido comprobada. A nivel regional, la incidencia de la enfermedad fue baja en verano, mientras que en otoño y principios de invierno la incidencia fue alta lo que corrobora el segundo postulado (Figura 1). Un ciclo secundario de infección se puede presentar en otoño con expresión epidémica de baja intensidad a finales de invierno ($Y_f=1.8-4\%$ al 14 de marzo) (GIIN, 2008. Datos No Publicados). En esta etapa, la humedad relativa decrece notoriamente (de 90 a 40 %). Esto establece la posibilidad de infecciones latentes como otro mecanismo de inducción patogénica en adición a esporas aéreas.

Respecto a la velocidad de expresión del síntoma (Figura 3), se requirió de 8 a 14 días para el desarrollo de una lesión fresca semicircular de 2 a 4 cm. Esta fue de color pardo oscuro a negro, de consistencia blanda y ligeramente hundida. Se formó a partir de una lesión nueva, tipificada por una mancha circular, clorótica, de aproximadamente 1 cm de diámetro. Las lesiones viejas se formaron entre 24-30 y 14-22 días después de las nuevas y frescas, respectivamente. En este caso las lesiones pueden coalescer formando manchas irregulares negras y secas, las cuales pueden desprenderse dejando huecos en el cladodio (Figura 3). Algunos signos de apariencia granulosa negra, posiblemente de tipo estromático (Ayala-Escobar *et al.*, 2006), putativos a *P. opuntiae*, se formaron en la fase final de lesiones frescas.

La humedad relativa baja (<60 %) se asoció con un largo estadio de las lesiones nuevas. Por el contrario, la alta (>80 %) se asoció con tiempo más corto para alcanzar una mancha vieja. La temperatura mínima tuvo similar asociación con valores de 8 a 12 °C e inferiores a 8 °C para los mismos eventos (Figura 3), por lo que alta humedad y baja

temperatura pueden ser importantes para la maduración de manchas y la producción de estructuras del hongo. Esto puede explicar la presencia endémica de la enfermedad entre 2135 y 2600 msnm que incluye la zona media y alta de Tlalnepantla, Morelos (Hernández-Sánchez, 2008).

Los cladodios tuvieron un periodo de crecimiento aproximado de 45 días, tiempo inferior al periodo de incubación de la mancha negra (Quezada-Salinas *et al.*, 2006), así que debido a escape y/o sustancias inhibitorias, no se observaron síntomas en campo.

Progreso espacial

La incidencia de cladodios enfermos por planta fluctuó entre el 20.9 y 52.3 % (P1-P3). El promedio de número de manchas por cladodio varió de 4.1 a 7.0, mientras que el número de cladodios por planta varió de 7.9 a 12.5 (Figura 4). En estas parcelas, entre 37 y 56.4 % del total de plantas tuvieron una severidad mayor al 20 % y únicamente entre 12 y 16 % estuvieron sanas (Figura 5), lo que indicó que las epidemias inducidas por *P. opuntiae* fueron de alta intensidad medida a través de cambios en inci-

low temperatures may be important for spots to mature and fungus structures production. This can explain the disease endemic presence in areas with altitude ranging from 2135 to 2600 masl, including Tlalnepantla, Morelos, intermediate and high areas (Hernández-Sánchez, 2008⁷).

Cladodes growth period was of around 45 days, less time than the time required for black spot incubation (Quezada-Salinas *et al.*, 2006), so because of scape and/or inhibitory substances, no symptoms in the field were observed.

Spatial progress

Diseased cladodes incidence per plant fluctuated between 20.9 and 52.3 % (P1-P3). The average number of spots per cladode ranged from 4.1 to 7.0, while the number of cladodes per plant ranged between 7.9 and 12.5 (Figure 4). In these plots, between 37 and 56.4 % from all the plants showed severity levels higher than 20 %, and only between 12 and 16 % plants were healthy (Figure 5). These outputs suggest high levels of epidemic intensity induced by *P. opuntiae*, which was measured through changes of incidence and severity of active

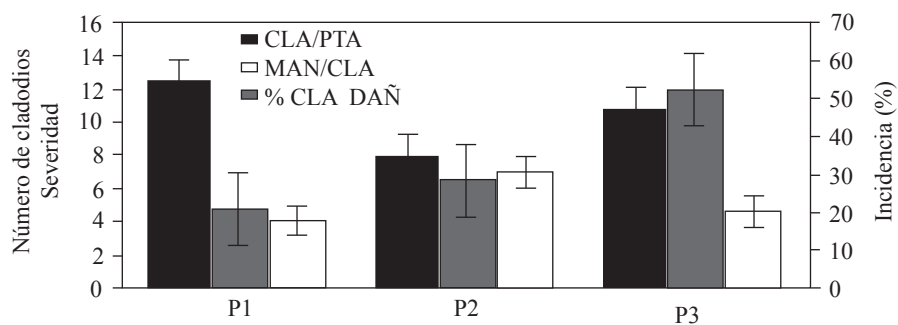


Figura 4. Incidencia y severidad de la mancha negra en nopal verdura en tres parcelas comerciales (P1-P3), en Tlalnepantla, Morelos. CLA/PTA = Número de cladodios por planta; MAN/CLA = Manchas totales por cladodio (Severidad); %CLA DAÑ = Porcentaje de cladodios con algún tipo de daño (Incidencia).

Figure 4. Incidence and severity of edible nopal black spot in three commercial plots (P1-P3) in Tlalnepantla, Morelos. CLA/PTA= Number of cladodes per plant; MAN/CLA = Total spots per cladode (Severity); %CLA DAÑ = Cladodes percentage with some type of damage (Incidence).

dencia y severidad de manchas de infección activas (nuevas y frescas).

La mancha negra formó agregados con dirección de los surcos. Adicionalmente, se tuvo un aparente efecto de orilla atribuible al inóculo de parcelas vecinas (Figura 5). Apesar del carácter permanente de las lesiones en los tejidos, no se detectó una distribución uniforme de la enfermedad, lo cual puede indicar que la dispersión del patógeno está influenciada por el manejo agronómico, posiblemente por la poda de plantas con herramientas sin desinfectar y la permanencia del material podado entre los surcos. Por el propósito de inducción productiva y saneamiento (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008), la poda del nopal es de mayor intensidad en otoño e invierno, respectivamente, posterior a la fase de mayor actividad epidémica del hongo y resultando en un significativo número de cladodios infectados.

Aunque la incidencia tuvo un comportamiento similar en las tres parcelas en el rango de las altitudes estudiadas (2135-2242msnm), la severidad fue variable y tuvo una relación directamente proporcional con la altitud ($r=0.99$)(Figura 4), lo que corrobora que la inductividad epidémica, atribuible a factores de clima (Figura 3), principalmente a temperaturas bajas (mínima promedio 5 °C), influye en la intensidad del daño y que áreas productivas localizadas a una altitud mayor de 2135 msnm poseen mayor riesgo de ocurrencia de enfermedad. Esto debe ser considerado para un eventual manejo fitosanitario de precisión.

Pruebas de efectividad de fungicidas sistémicos

El uso de fungicidas sistémicos permitió reducir la infección del hongo con distinto grado de efectividad (Figura 6). Dos benzimidazoles (T4 y T5) redujeron en 88.9 % y 82.6 % el ABCPE con respecto al testigo (T13) y, en promedio, este grupo (T4, T5 y T6) mostró una reducción significativa de 80.8 % ($p=0.05$). Los triazoles y las estrobirulinas tuvieron

infección spots (new and fresh).

Black spot formed aggregates in direction to rows. There was also an apparent border effect attributed to inoculum from neighboring plots (Figure 5). Despite the permanent characteristic of tissue lesions, no uniform disease distribution was detected, which may suggest that the pathogen spreading is influenced by crop management, possibly by plant pruning with disinfected tools and prune residues left in the field. Due to productive induction and sanitation (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2008), the intensity of nopal pruning is higher in autumn and winter, respectively, after the fungus higher epidemic activity phase, which results in a significant number of infected cladodes.

Although the disease incidence had a similar performance in the three plots in the range of the studied altitudes (2135-2242 masl), severity varied and was directly proportional to the altitude ($r=0.99$)(Figure 4). These outputs confirm that the epidemic induction of the disease, attributed to weather factors (Figure 3), particularly to low temperature (minimum average 5 °C), contributes to damage intensity and that production areas at altitudes higher than 2135 masl are more vulnerable. This must be considered for long-term precision phytosanitary management.

Systemic fungicides efficacy tests

Using systemic fungicides resulted in a reduction of fungus infection with different levels of efficacy (Figure 6). Two benzimidazoles (T4 and T5) reduced ABCPE by 88.9 % and 82.6 % compared to the tester (T13), and, in average, this group (T4, T5 and T6) showed a significant reduction by 80.8 % ($p=0.05$). Triazoles and strobirulins had a less consistent performance. The average reduction was 57.6 % for the same variable. High doses (T2) of azoxistrobin (strobirulin) reduced by 85.4 % the disease severity compared to the

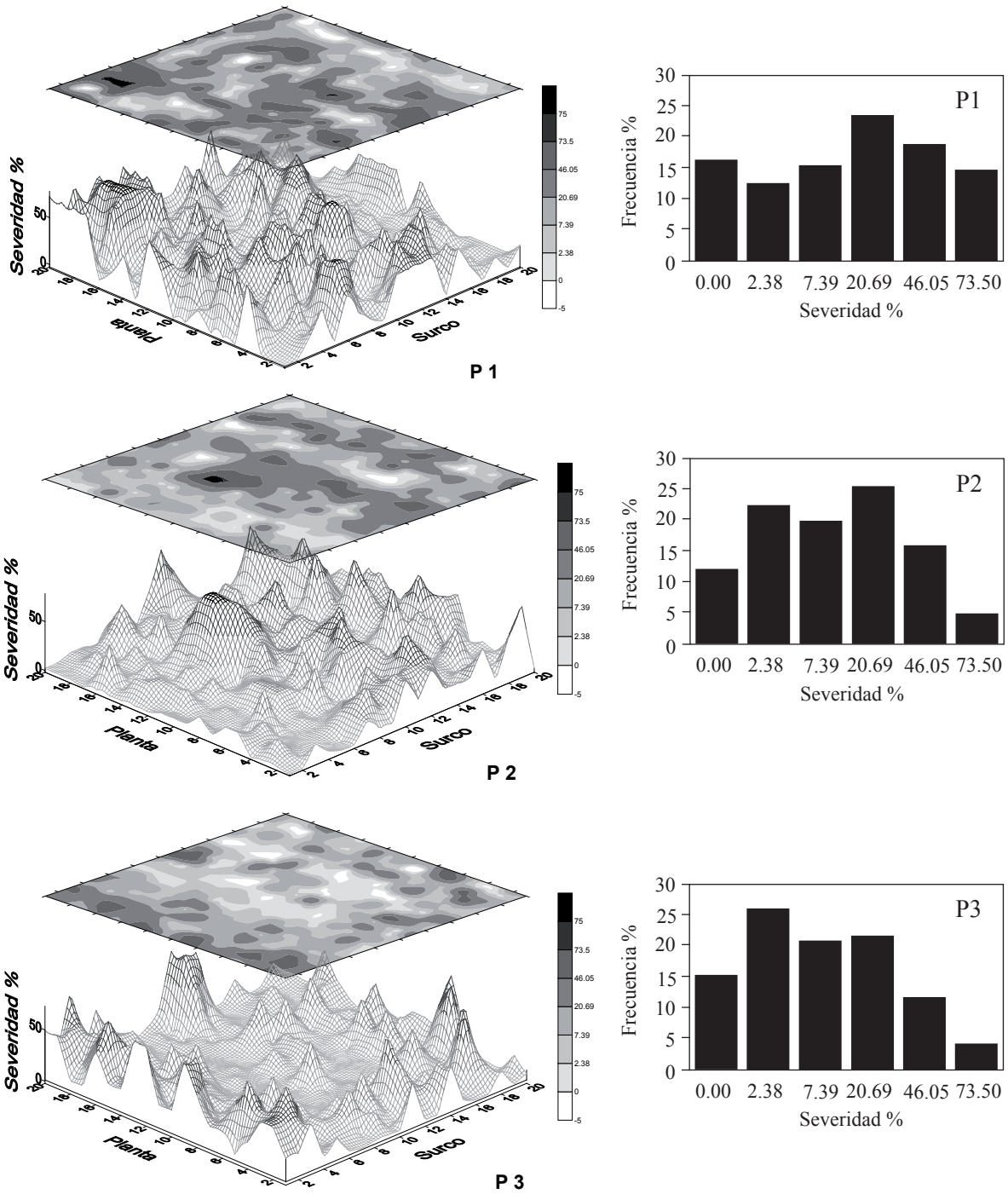


Figura 5. Mapas geoestadísticos interpolativos de dispersión y frecuencia de severidad de la mancha negra en tres parcelas comerciales de nopal verdura. Tlalnepantla, Morelos. Otoño, 2006.

Figure 5. Interpolative geostatistical maps of spreading and severity frequency of black spot in three edible nopal comercial plots. Tlalnepantla, Morelos. Autumn 2006.

ron un comportamiento menos consistente. En promedio presentaron una reducción del 57.6 % para la misma variable. El azoxistrobin (estrobirulina) en dosis alta (T2) redujo 85.4 % la severidad de la enfermedad con respecto al testigo. Sin embargo, los tratamientos T8 (estrobirulina) y T12 (triazol) tuvieron un comportamiento similar al testigo con reducciones del 27.8 y 32.6 %, respectivamente ($p=0.05$) (Figura 6). Se excluyó del análisis a T1 y T3, ya que se ubicaron en una zona de alta severidad lo que ocasionó pérdida de cladodios.

Aunque los fungicidas T4 y T5 (benzimidazoles) y T2 (estrobirulina) fueron los más efectivos, requieren ser validados previa a su recomendación regional. El carácter hidrofóbico de la cubierta cerosa del cladodio dificultó la dispersión y penetración, por lo que se debe evaluar la adición de coadyuvantes, así como la hora de aplicación debido al metabolismo fotosintético. Adicionalmente, es necesario evaluar la integración con prácticas culturales, como la eliminación de residuos de poda. Por otra parte, el posible uso del benomilo (T4) debe

tester. However, the performance of treatments T8 (strobirulin) and T12 (triazol) was similar to the performance of the tester with reductions of 27.8 and 32.6 %, respectively ($p=0.05$) (Figure 6). T1 and T3 were not analyzed for they were located in a high severity area, which caused cladodes loss.

Althoug fungicides T4 and T5 (benzimidazoles) and T2 (strobirulin) were the most effective, they must be validated before submitting a regional recommendation. The hydrophobic nature of the waxy cover of cladodes hindered fungicide dispersion and penetration, so the addition of adjuvants should be evaluated, as well as the proper time for application given their photosynthetic metabolism. Also, it is necessary to assess their integration into crop practices such as removal of pruning residues. On the other hand, regarding the potential use of Bemomy (T4), it is recommended to conduct a review of resistance based on application experiences in the region (GIIN, 2005¹). Development of resistance to this group has been reported for other fungi in different crops (Arias

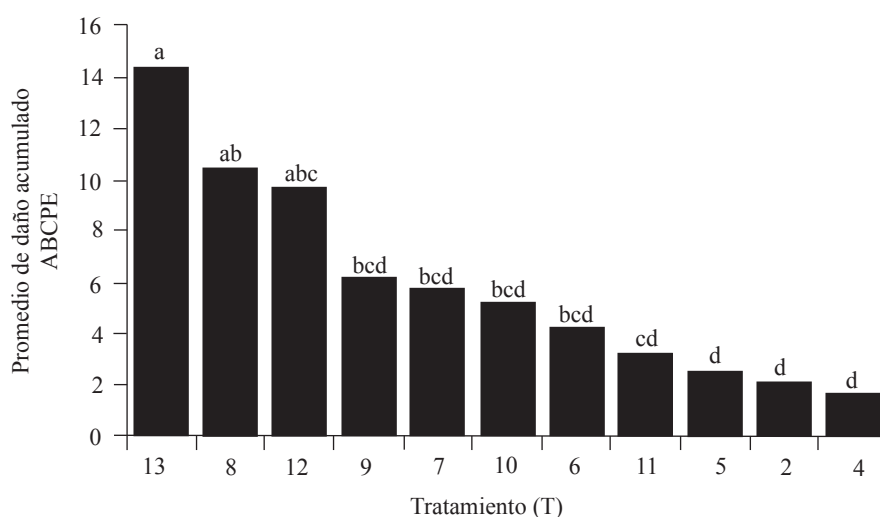


Figura 6. Efecto de seis fungicidas sistémicos en dos dosis en el Promedio del Area Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) mancha negra en nopal verdura.

Figura 6. Effect of six systemic fungicides in two doses in the Average of the Area under the Disease Progress Curve (ABCPE) of edible nopal black spot.

ser revisado por resistencia debido a antecedentes de aplicación en la región (GIIN, 2005). El desarrollo de resistencia a este grupo se ha reportado para otros hongos en diferentes cultivos (Arias y Carrizales, 2007; FRAC, 2007). Un esquema de control químico debe incluir la aplicación de fungicidas de contacto para reducir Y_o , producto del primer ciclo de infección en verano, y fungicidas sistémicos para reducir la expresión epidémica en otoño.

CONCLUSIONES

En Tlalnepantla, Morelos, la epidemia de mancha negra del nopal, inducida por *Pseudocercospora opuntiae*, fue dependiente de un proceso principal de infección de verano, por lo que el nivel de severidad inicial (Y_o) en otoño no se correlacionó con la intensidad epidémica. Esta fue dependiente del número de infecciones en verano y de la velocidad de expresión de síntomas. Para un daño inicial de 46 %, la expresión epidémica en otoño duró 40 días, con una $Y_f = 90$ manchas frescas y un ABCPE = 8.6 número manchas día⁻¹. Esto significó 3.1 manchas día⁻¹. El máximo desarrollo de lesión dependió de una humedad relativa superior a 80 % y temperaturas mínimas entre 8 a 12 °C. La enfermedad se presentó en agregados de distinta intensidad debido al manejo agronómico y las condiciones sanitarias locales. Dos benzimidazoles tuvieron la mejor efectividad biológica contra el hongo, reduciendo en 85.4 % el ABCPE relativo al testigo ($p=0.05$). Los fungicidas sistémicos son una opción para reducir la expresión epidémica en otoño.

AGRADECIMIENTOS

Al COMUNOTLA y productores Erick Torres Espín y Hermenegildo Alvarado González por el apoyo al GIIN. A

and Carrizales, 2007; FRAC, 2007). A chemical control scheme must include contact fungicides application to reduce Y_o , derived from the first infection cycle in summer, and systemic fungicides to reduce epidemic expression in autumn.

CONCLUSIONS

In Tlalnepantla, Morelos, the edible nopal black spot epidemics induced by *Pseudocercospora opuntiae* depended on an infection major process in summer, so the initial severity level (Y_o) in autumn was not correlated to the epidemics intensity. This depended on the number of infections in summer and of the speed of symptoms expression. For a 46 % initial damage, the epidemics expression in autumn lasted 40 days, with $Y_f = 90$ fresh spots and ABCPE = 8.6 number of spots per day⁻¹. This represents 3.1 spots per day⁻¹. The maximum lesion development depended on relative humidity over 80 % and minimum temperatures between 8 and 12 °C. The disease developed in the form of different intensity aggregates because of local agronomic management and sanitary conditions. Two benzimidazoles achieved a better biological efficacy against the fungus reducing ABCPE by 85.4 % compared to the tester ($p=0.05$). Systemic fungicides are an option to reduce epidemics expression in autumn.

ACKNOWLEDGEMENTS

To COMUNOTLA and farmers Erick Torres Espín and Hermenegildo Alvarado González for their support to GIIN. To Fundación Produce Morelos A.C., CESVMOR, the Municipal Government of Tlalnepantla and CONACYT for funding this project.

Fundación Produce Morelos A.C., CESVMOR, Gobierno Municipal de Tlalnepantla y al CONACYT por el apoyo financiero a este proyecto.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

## LITERATURA CITADA

- Arias, R., B. y L. Carrizales. 2007. Control químico de la antracnosis del mango (*Mangifera indica* L.) en pre y poscosecha en el municipio Cedeño, estado Monagas, Venezuela. *Bioagro* 19(1): 19-25.
- Ayala-Escobar, V., M. de J. Yañez-Morales, U. Braun, Z. Groenewald J., and W. P. Crous. 2006. *Pseudocercospora opuntiae* sp. nov., the causal organism of cactus leaf spot in Mexico. *Fungal Diversity* 21:1-9.
- Campbell, C. L., and L. V. Madden. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons. New York. 532 p.
- FRAC (Fungicide Resistance Action Committee). 2007. Mode of Action of Fungicides. FRAC classification on mode of action 2007 ([www.frac.info](http://www.frac.info)). Fecha de consulta agosto 2008.
- GIIN (Grupo Interdisciplinario de Investigación del Nopal). 2005. Diagnóstico Fitosanitario del Nopal Verdura (*Opuntia ficus-indica*) en Tlalnepantla, Morelos. 85 p. Colegio de Postgraduados.
- Hernández-Sánchez, E. 2008. Epidemiología y control del agente causal de la mancha negra (*Pseudocercospora opuntiae*) en nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*). Tesis MC. Colegio de Postgraduados. 120p.
- Mora-Aguilera, G. y P. Rivas. 2001. Análisis estadístico de estudios de efectividad biológica de plaguicidas. *In: Bases para realizar estudios de efectividad biológica de plaguicidas*. Bautista, M. N. y Díaz, G. O. (Eds.) Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados. Pp. 1-28.
- Quezada-Salinas, A., J.S. Sandoval-Islas, D. Alvarado-Rosales y E. Cárdenas-Soriano. 2006. Etiología de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) en Tlalnepantla, Morelos, México. *Agrociencia* 40: 641-653.
- Rivas, V. y G. Mora-Aguilera, 2008. MorLloyd ver 1.0 MS.Excel. Colegio de Postgraduados. Montecillos México (No Publicado).
- Rodríguez-Leyva, E., J. R. Lomeli-Flores, y A. López-Jiménez (Eds.). 2008. Cadena Productiva del Nopal Verdura: II Taller de avances de investigación del Grupo Interdisciplinario de Investigación del Nopal (GIIN). Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Texcoco, México. 69 pp.
- SAS Institute. 1988. *SAS User's Guide: Statistics*. Release 6.03 Edition. SAS Institute, Inc. Cary, N.C. USA. 1028 p.