



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE FITOSANIDAD**

**FITOPATOLOGÍA**

# **ANÁLISIS ESPACIO-TEMPORAL DE LA MARCHITEZ DEL AGAVE TEQUILERO EN JALISCO**

**JOSÉ RAMÓN RUBIO RÍOS**

**T E S I S**  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

2018

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR □  
DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe JOSÉ RAMÓN RUBIO RÍOS, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor DR. REMIGIO GUZMÁN PLAZOLA, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis "ANÁLISIS ESPACIO-TEMPORAL DE LA MARCHITEZ DEL AGAVE TEQUILERO EN JALISCO"

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 16 de JULIO de 2018

  
Firma del  
Alumno (a)

  
Yo, Bb. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Análisis espacio-temporal de la marchitez del agave tequilero en Jalisco**, realizada por el (la) alumno (a): **José Ramón Rubio Ríos**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


MAESTRO EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)

  
Dr. Remigio Anastasio Guzmán Plazola

ASESOR (A)

  
M.C. Victoria Ayala Escobar

ASESOR (A)

  
M.C. Ramón Rubio Cortés

Montecillo, Texcoco, Estado de México, agosto de 2018

# **ANÁLISIS ESPACIO-TEMPORAL DE LA MARCHITEZ DEL AGAVE TEQUILERO EN JALISCO**

**José Ramón Rubio Ríos, M. En C.  
Colegio de Postgraduados, 2018**

## **RESUMEN**

La marchitez del agave azul es uno de los problemas fitosanitarios que afectan este cultivo. La enfermedad es atribuida a *Fusarium oxysporum* que ocasiona pérdidas económicas y que puede ser alterada por el régimen de humedad en el suelo, la presencia *S. acupunctatus* y las aplicaciones de glifosato. En este trabajo se analizó la dinámica espacio-temporal de la enfermedad en plantaciones comerciales de agave azul en el estado de Jalisco y cómo la ocurrencia de la enfermedad puede ser alterada, en condiciones de invernadero, por los factores anteriormente descritos. Para el estudio de la dinámica espacio-temporal, se realizaron cuatro censos a lo largo de un año de evaluación en cuatro predios de aproximadamente 1 ha en los municipios de Arandas y Magdalena, donde se categorizó cada planta con base en una escala con cuatro clases de severidad (planta sana, severidad 1, severidad 2 y severidad 3). Se elaboraron mapas de distribución de la enfermedad. El patrón espacial se determinó mediante la relación varianza-media. La variación espacio-temporal se analizó mediante matrices de transición entre clases de severidad con el comando CROSSTAB del Software IDRISI v. Terrset. La dinámica temporal y la intensidad de la enfermedad se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de cada nivel de severidad de la marchitez mediante el método de integración trapezoidal. El patrón de distribución espacial se presentó inicialmente en forma de agregados, pero al término de un año en general se tornó uniforme. Las transiciones en los niveles de severidad no fueron completamente

unidireccionales, algunas plantas mostraron remisión de síntomas entre la primera y segunda fecha censal, mientras que otras se mantuvieron en su severidad original. La severidad 1 se presentó con mayor frecuencia en los predios de Arandas (de 13.5 a 40.3% en El Estribo, 12.9 a 16.3 % en Agua Nueva), y un incremento notable en la severidad 2 para las plantaciones de Magdalena (de 13.8 a 45% en Potrero Viejo 1 y de 4 a 50.6% en Potrero Viejo 2). La intensidad de la enfermedad fue mayor en las plantaciones de Magdalena según los resultados del ABCPE. Las tasas de incremento en plantas que alcanzaron la severidad 3 al final de la evaluación son bajas y no suponen una limitante importante para el cultivo, sin embargo, las tasas de incremento en plantas que alcanzaron la severidad 2 si ponen en riesgo la sanidad y la disponibilidad de la materia prima para la elaboración de tequila. Para el análisis de los factores asociados, se realizó un experimento bajo un diseño experimental en bloques completos al azar. Se realizaron dos experimentos simultáneos, el primero con plantas sometidas a temperatura de entre los 12 y 40° C y el segundo bajo una temperatura constante de 27° C  $\pm$  3° C. A 180 d del inicio del primer experimento, la interacción Humedad x Herbicida x Picudo x *Fusarium* resultó significativa con  $P > F = 0.0145$ . Las condiciones de sequía recurrente favorecieron el desarrollo de síntomas de marchitez independientemente de la acción de los factores Herbicida, *F. oxysporum* y Picudo. Estos factores a su vez incrementaron el marchitamiento de las plantas de agave con respecto al testigo no tratado y bajo condiciones óptimas de humedad, pero el grado de encarrujamiento en general no fue tan intenso como el causado por la sequía. La inundación periódica de los suelos incrementó el encarrujamiento a niveles intermedios a los observados bajo condiciones óptimas de humedad y bajo sequía.

**Palabras clave:** marchitez del agave, análisis espacio-temporal, *Fusarium oxysporum*.

## **SPATIO-TEMPORAL ANALYSIS OF BLUE AGAVE WILT IN JALISCO**

**José Ramón Rubio Ríos, M. En C.  
Colegio de Postgraduados, 2018**

### **ABSTRACT**

The blue agave wilt is one of the phytosanitary problems that affect this crop. The disease is attributed to *Fusarium oxysporum* that causes economic losses and that can be altered by the regime of humidity in the soil, the presence of *S. acunclatus* and the applications of glyphosate. In this work, the spatiotemporal dynamics of the disease was analyzed in commercial plantations blue agave in Jalisco and how the occurrence of the disease can be altered, under greenhouse conditions, by the factors described above. For the study of spatiotemporal dynamics, four censuses were conducted over a year of evaluation in four fields of approximately 1 ha in the municipalities of Arandas and Magdalena, where each plant was categorized based on a scale with four classes of severity (healthy plant, severity 1, severity 2 and severity 3). Maps of disease distribution were made. The spatial pattern was determined by the variance-mean ratio. Spatiotemporal variation was analyzed by transition matrices between classes of severity with the command CROSSTAB Software IDRISI v. Terrset. The temporal dynamics and the intensity of the disease were calculated according to the area under the disease progress curve (ABCPE) of each wilt severity level using the trapezoidal integration method. The pattern of spatial distribution was presented initially in the form of aggregates, but after a year, in general it became uniform. The transitions in severity levels were not completely unidirectional, some plants showed remission of symptoms between the first and second census date, while others remained at their original severity. Severity 1 occurred most frequently in the Arandas fields (from 13.5 to 40.3% in El Estribo, 12.9 to 16.3% in Agua Nueva), and a

notable increase in severity 2 for the Magdalena plantations (from 13.8 to 45 % in Potrero Viejo 1 and from 4 to 50.6 % in Potrero Viejo 2). The intensity of the disease was higher in the Magdalena fields according to the results of the ABCPE. The rates of increase in plants that reached severity 3 at the end of the evaluation are low and do not suppose an important limitation for the crop, however, the rates of increase in plants that reached the severity 2 if they put in risk the health and the availability of the raw material for the production of tequila. For analysis of related factors, an experiment under experimental design in randomized complete blocks was performed. two simultaneous experiments were performed, the first with plants under temperature between 12 and 40 ° C and the second under a constant temperature of 27 ° C  $\pm$  3 ° C. A 180 d of the start of the first experiment, the interaction humidity x herbicide x agave weevil x *Fusarium* was significant with  $P > F = 0.0145$ . Recurrent drought conditions favored the development of wilt symptoms, regardless of the action of herbicide, *F. oxysporum* and agave weevil factors. These factors, in turn, increased the wilting of agave plants relative to untreated control and under optimum moisture conditions, but the degree of encarrujamiento was not that intense as that caused by the drought. Periodic flooding of soils increased the encarrujamiento at intermediate levels to those observed under optimal conditions of moisture and under drought.

**Key words:** agave wilt, spatiotemporal analysis, *Fusarium oxysporum*.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACyT por el apoyo económico, ya que sin este no hubiese sido posible la realización de mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados y al Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología por darme la oportunidad de pertenecer a esta gran familia.

A mi consejo particular: Dr. Remigio Guzmán, M.C. victoria Ayala y M.C. Ramón Rubio, por el apoyo en la dirección, planeación, ejecución y culminación de esta investigación, así como su apoyo personal durante estos años, especialmente al Dr. Remigio...gracias infinitas.

A mis padres Pedro Rubio y Carmen por ser pilar en mi vida, fuente de admiración y motivo por el cual realicé mis estudios de maestría, no habrá forma de compensar todo lo que han hecho por mí a lo largo de mi vida

A mis hermanos Chuy, Pita y Alma quienes siempre me han dado su apoyo económico y moral ante las adversidades que se me presentaron durante estos dos años.

A ti mi amada Montserrat, por todo tu amor. Gracias por soportar la lejanía, los malos ratos, por darme ánimos y por esperarme durante este tiempo, esta meta cumplida es para ti.

A mis amigos Miguel, Marco, Paloma, Corrales, Christian, Lupita, Juan Carlos, José Shuy y demás que por el momento no recuerdo, por hacer mis días en el colegio más llevaderos.

A Elvia, Erika, Verito, Hilda y todo el personal de Fitopatología por todas las facilidades y el apoyo brindado durante mi estancia.



## **DEDICATORIA**

A MÍ, por tanta paciencia.

A MIS PADRES, porque gracias a su esfuerzo pude cumplir la meta de culminar un posgrado.

A MIS HERMANOS, para que sigan estando orgullosos de mí.

A MI PROMETIDA, por el apoyo y respeto en cada decisión, por tu entrega, paciencia y amor.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT .....	vi
LISTA DE CUADROS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>19</b>
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	21
1.1.1. Objetivos específicos.....	22
1.2. HIPÓTESIS.....	22
1.3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	23
1.3.1. Importancia de la producción de agave tequilero en Jalisco .....	23
1.3.2. Fisiología del agave tequilero .....	25
1.3.3. La marchitez del agave.....	27
1.3.4. Agentes causales .....	29
1.3.4.1. Estrés hídrico .....	29
1.3.4.2. Herbicidas .....	30
1.3.4.3. Picudo del agave ( <i>Scyphophorus acupunctatus</i> ).....	31
1.3.4.4. <i>Fusarium</i> spp .....	32
1.3.5. Distribución de la marchitez en Jalisco.....	33
<b>CAPÍTULO I. ANÁLISIS DE LA DINÁMICA ESPACIO-TEMPORAL DE LA MARCHITEZ DEL AGAVE TEQUILERO EN JALISCO, MÉXICO .....</b>	<b>45</b>
1.1. RESUMEN .....	45
1.2. INTRODUCCIÓN .....	47
1.3. METODOLOGÍA .....	48
1.3.1. Sitios de estudio .....	48
1.3.2. Evaluación de la enfermedad .....	50
1.3.3. Mapeo.....	53
1.3.4. Análisis de la variación espacial .....	53
1.3.5. Análisis de la variación temporal de la marchitez del agave.....	54
1.4. RESULTADOS.....	55
1.4.1. Distribución espacial de la marchitez.....	55
1.4.2. Cambios espacio-temporales en la marchitez del agave.....	60
1.4.2.1. Predio El Estribo .....	60
1.4.2.2. Predio Agua nueva.....	72
1.4.2.3. Potrero viejo 1 .....	80
1.4.2.4. Potrero viejo 2.....	89

1.4.3.	Variabilidad de la marchitez entre predios con agave .....	99
1.5.	DISCUSIÓN .....	100
1.6.	CONCLUSIONES .....	104
1.7.	REFERENCIAS.....	105
<b>CAPÍTULO II. FACTORES ASOCIADOS A LA MARCHITEZ DEL AGAVE TEQUILERO</b> <b>(<i>Agave tequilana</i> Weber var. azul)</b> .....		<b>110</b>
2.1.	RESUMEN .....	110
2.2.	INTRODUCCIÓN .....	111
2.3.	METODOLOGÍA .....	113
2.3.1.	Colecta de material en campo .....	113
2.3.2.	Aislamiento e identificación de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	113
2.3.3.	Preparación del inóculo .....	114
2.3.4.	Tratamientos.....	115
2.4.	RESULTADOS.....	118
2.4.1.	Descripción del agente causal.....	118
2.4.2.	Sintomatología.....	118
2.4.3.	Experimento bajo condiciones de invernadero.....	123
2.4.3.1.	Desarrollo de la enfermedad .....	123
2.4.3.2.	Diámetro de la piña (DPI).....	128
2.5.	DISCUSIÓN .....	132
2.6	CONCLUSIONES .....	135
2.7	REFERENCIAS.....	136

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Sitios experimentales para el monitoreo de la marchitez del agave en el estado de Jalisco.....	48
Cuadro 2. Registro de temperatura y precipitación del municipio de Arandas, Jalisco, México durante el año 2017. ....	49
Cuadro 3. Registro de temperatura y precipitación del municipio de Magdalena, Jalisco, México durante el año 2017. ....	50
Cuadro 4. Fechas censales y días de evaluación de la marchitez del agave tequilero en cuatro plantaciones comerciales del estado de Jalisco. ....	50
Cuadro 5. Patrón de agregación espacial de la marchitez del agave azul en cuatro campos de cultivo del estado, Jalisco, México y cuatro fechas de evaluación. ....	55
Cuadro 6. Totales y porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave tequilero en diferentes censos realizados en el predio El Estribo, del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	62
Cuadro 7. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio El Estribo, ocurridos entre el censo del 19 de mayo de 2017 y el censo del 10 de agosto de 2017.....	64
Cuadro 8. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio El Estribo, ocurridos entre el censo del 10 de agosto de 2017 y el censo del 22 de noviembre de 2017. ....	65
Cuadro 9. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio El Estribo, ocurridos entre el censo del 22 de noviembre de 2017 y el censo del 15 de mayo de 2018 .....	66
Cuadro 10. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidad de enfermedades del agave azul en el predio El Estribo, ocurridos entre el censo del 19 de mayo de 2017 y el censo del 15 de mayo de 2018. ....	69

Cuadro 11. Totales y porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave tequilero en diferentes censos realizados en el predio Agua Nueva, del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	72
Cuadro 12. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Agua Nueva, ocurridos entre el censo del 11 de agosto de 2017 y el censo del 23 de noviembre de 2017.....	74
Cuadro 13. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 23 de noviembre de 2017 y el 15 de mayo de 2018. ....	75
Cuadro 14. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Agua Nueva, ocurridos entre el censo del censo del 11 de agosto de 2017 y el 15 de mayo de 2018....	75
Cuadro 15. Totales y porcentajes de plantas de agave tequilero sanas y enfermas en diferentes censos realizados en el predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México. ....	81
Cuadro 16. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 1, ocurridos entre el censo del censo del 21 de mayo de 2017 y el 7 de agosto de 2017.....	82
Cuadro 17. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 1, ocurridos entre el censo del censo del 7 de agosto de 2017 y el 24 de noviembre de 2017.....	82
Cuadro 18. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 1, ocurridos entre el censo del censo del 24 de noviembre de 2017 el 17 de agosto de 2018.....	83

Cuadro 19. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 1, ocurridos entre el censo del censo del 21 de mayo de 2017 el 17 de agosto de 2018. ....	83
Cuadro 20. Totales y porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave tequilero en diferentes censos realizados en el predio Potrero viejo 2, del municipio de Magdalena, Jalisco, México. ....	89
Cuadro 21. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 2, ocurridos entre el censo del 7 de agosto de 2017 y el censo del 26 de noviembre de 2017. ....	92
Cuadro 22. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 2, ocurridos entre el censo del 26 de noviembre de 2017 y el censo del 16 de mayo de 2018. ....	93
Cuadro 23. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul en el predio Potrero Viejo 2, ocurridos entre el censo del 6 de agosto de 2017 y el censo del 16 de mayo de 2018. ....	95
Cuadro 24. Área bajo la curva del progreso de la severidad de la marchitez (ABCPE)* del agave tequilero, evaluada a partir de tres censos.....	99
Cuadro 25. Factores y niveles evaluados en arreglo factorial para analizar su impacto en la marchitez del agave tequilero. ....	116
Cuadro 26. Análisis de varianza del primer experimento <sup>&amp;</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave e infección por el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> sobre la severidad de la marchitez de plantas de agave azul. ....	125
Cuadro 27. Análisis de varianza del primer experimento factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave e infección por el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> sobre la severidad de la marchitez de plantas de agave azul. ....	128

Cuadro 28. Análisis de varianza del primer experimento factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave e infección por el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el diámetro de la piña de plantas de agave azul. ....	129
Cuadro 29. Análisis de varianza del segundo experimento factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave e infección por el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el diámetro de la piña de plantas de agave azul.....	130
Cuadro 30. Análisis de varianza del primer experimento <sup>&amp;</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave e infección por el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> sobre la altura al cogollo de plantas de agave azul. ....	131
Cuadro 31. Análisis de varianza del primer experimento <sup>&amp;</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave e infección por el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> sobre la altura al cogollo de plantas de agave azul. ....	132

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Zona de Denominación de Origen del Tequila (CRT, 2005). .....	23
Figura 2. Ubicación geográfica de los predios agaveros evaluados. ....	49
Figura 3. Escala de evaluación de la marchitez del agave utilizada para determinar la dinámica de la variación espacio-temporal a nivel predio, en cuatro predios de dos municipios del estado de Jalisco.....	52
Figura 4. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante las diferentes fechas censales en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	56
Figura 5. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante 279 días evaluación en el campo Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	58
Figura 6. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante 362 días evaluación en el campo Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	59
Figura 7. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante 283 días evaluación en el campo Potrero Viejo 2 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	61
Figura 8. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul en el predio El Estribo, municipio de Arandas, Jalisco, México.....	62
Figura 9. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul durante 362 días de evaluación en el predio El Estribo, del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	67
Figura 10. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la severidad de la marchitez severidad 3 en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	70
Figura 11. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la severidad de la marchitez severidad 2 en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México. ....	71



Figura 12. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul en el predio Agua Nueva, municipio de Arandas, Jalisco, México.....	73
Figura 13. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul durante 279 días de evaluación en el predio Agua nueva, del municipio de Arandas, Jalisco, México.. .....	76
Figura 14. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 3 en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México. ....	78
Figura 15. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 2 en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México.....	79
Figura 16. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul en el predio Potrero viejo 1, municipio de Magdalena, Jalisco, México. ....	81
Figura 17. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul durante 362 días de evaluación en el predio Potrero Viejo 1, del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	85
Figura 18. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 3 del predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	87
Figura 19. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 2 del predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	88
Figura 20. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul en el predio Potrero Viejo 2, municipio de Magdalena, Jalisco, México. ....	90
Figura 21. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul durante 284 días de evaluación en el predio Potrero Viejo 2, del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	96

Figura 22. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 3 del predio Potrero Viejo 2 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	97
Figura 23. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 2 del predio Potrero Viejo 2 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.....	98
Figura 24. Sintomatología de plantas con marchitez del agave, utilizadas para el aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	114
Figura 25. Daño y pudrición realizado por el picudo del agave en plantas maduras de agave tequilero.....	115
Figura 26. Anatomía del agente causal de la marchitez del agave tequilero. ....	119
Figura 27. Daño inducido por el mecanismo de acción del herbicida glifosato en plantas jóvenes de agave tequilero.....	120
Figura 28. Daños realizados en las plantas de agave tequilero por el picudo del agave al alimentarse de la piña. A) raspaduras y galería en el cogollo. B) galería en la piña. ....	121
Figura 29. Sintomatología típica de la marchitez del agave tequilero ( <i>Agave tequilana</i> Weber var. azul) inducida por <i>Fusarium oxysporum</i> . A) planta de agave con encarrujamiento en nivel intermedio de severidad. B) amarilamiento y encarrujamiento de la punta de una hoja. C) desecación del tejido de las pencas del agave tequilero. ....	122
Figura 30. Lesiones provocadas por la infección de <i>Fusarium oxysporum</i> en las plantas de agave tequilero. ....	123
Figura 31. Efecto de interacción entre el nivel de humedad del suelo, la inoculación con <i>Fusarium oxysporum</i> la aplicación de glifosato la presencia del picudo del agave sobre el porcentaje de encarrujamiento en el experimento en condiciones de invernadero.. ....	126
Figura 32. Comparación en el desarrollo de la marchitez del agave tequilero con diferentes niveles de humedad del suelo a 180 d de evaluación.. ....	127

## INTRODUCCIÓN

El tequila, considerado por muchos como la bebida nacional de México, es elaborado a partir de la fermentación y destilación del tallo cocido de la planta de agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) (Bowen and Valenzuela-Zapata, 2009). El estado de Jalisco es el principal productor de esta planta; las regiones de Los Altos y Valles tienen la mayor superficie cultivada con 27,708 y 9,599 ha, respectivamente (SIAP, 2017). Para aumentar la producción y los rendimientos de agave, y de esta manera satisfacer la creciente demanda nacional e internacional de tequila, se han realizado estudios enfocados al análisis de respuestas ambientales y productividad (Nobel and Valenzuela, 1987), prácticas de manejo del suelo y fertilización (Gobeille et al., 2006; Uvalle y Vélez, 2007), control de plagas y enfermedades (Rubio, 2007), expresión de genes de resistencia a estrés biótico y abiótico (Suárez-González et al., 2014), antagonistas de patógenos (Tlapal-Bolaños et al., 2014) y efectos de organismos benéficos como promotores de crecimiento de raíces (De La Torre-Ruiz et al., 2016). Durante los últimos años, la marchitez en el cultivo ha sido tema de interés para la industria tequilera debido a las grandes pérdidas de materia prima que esta ocasiona. Investigadores como Luna (1996), Virgen-Calleros (2000) y Fucikovsky-Zak (2001), sostienen que *Fusarium oxysporum* (Schelt), es el principal agente causal de la marchitez del agave, debido a su alta incidencia en las plantas marchitas. Cuevas y Domínguez (2007) reportaron que el complejo de especies *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. verticillioides*, podría ser el causante de la marchitez del cultivo. Por otro lado, el mismo síntoma puede ser ocasionado por insectos que al alimentarse tanto de raíces como del tallo provocan heridas que son aprovechadas por los patógenos y ocasionan alteraciones en la

fisiología de la planta al no poder traslocar agua eficientemente (Rubio, 2007; Tlapal-Bolaños et al., 2014). Los síntomas característicos de la enfermedad son decoloración foliar, que contrasta con el azul típico de las plantas sanas, y marchitamiento de las hojas, las cuales se enrollan hacia el centro de las mismas (acigarramiento). En etapas avanzadas, las hojas enrolladas sufren desecación y endurecimiento descendiente desde la parte apical hasta la base (encarrujamiento) (Martínez et al., 1998). El hongo causa destrucción de las raíces y provoca una lesión rojiza en los tallos. Los tejidos de las raíces y tallos afectados adoptan una apariencia polvosa, la cual avanza ascendentemente. Las plantas con daños severos se pueden desprender del suelo fácilmente (Virgen-Calleros, 2000). La agresividad con que el patógeno ataca a las plantas ocasiona que en menos de un año mate las plantas infectadas (Ireta y Flores, 2011). La marchitez del agave es una enfermedad recurrente y de alto impacto en los inventarios productivos. El Consejo Regulador del Tequila (CRT) le atribuye incidencias elevadas en plantaciones que superan los dos años de edad después del trasplante (CRT, 2010). Esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en plantaciones de tres años de edad, aunque también se ha observado en plantas de un año de edad (Rubio, 2007). Normalmente, la detección de la marchitez del agave se lleva a cabo en las plantaciones por personal calificado, pero este proceso resulta largo, tedioso, costoso y, hasta cierto punto, ineficaz. Es necesario desarrollar herramientas masivas de detección temprana de plantas enfermas, que faciliten la implementación de prácticas de manejo de la enfermedad, basadas en un conocimiento sólido de su comportamiento epidémico. Una posible alternativa de detección temprana de plantas enfermas podría ser el uso de sensores remotos que permitan identificar contrastes en los patrones de reflectividad de plantas sanas y

enfermas. Variaciones en las regiones del infrarrojo cercano entre ambos tipos de plantas han sido de utilidad en el pasado para identificar anomalías en el crecimiento vegetal (Bauriegel et al., 2011). El refinamiento de estas técnicas ha avanzado al grado de que es posible diferenciar granos y espigas afectadas por especies de *Fusarium* spp en plantas de trigo, avena, cebada y centeno (Serranti et al., 2013; Barbedo et al., 2015). En la actualidad, el uso de drones con fines agrícolas, provee de imágenes de muy alta resolución que podrían ser utilizadas para evaluar la viabilidad de este enfoque en la diagnosis local y regional en la detección de enfermedades (Gennaro et al. 2013; Gago et al. 2015; Rodríguez- Fernández et al., 2017) así como el desarrollo de nuevos algoritmos que permiten calcular índices de vegetación más precisos e identificar la enfermedad que afecta un cultivo determinado (Gitelson et al., 2002; Mahlein et al., 2012).

Ante la disminución de las plantaciones de agave en los últimos cinco años, la creciente incidencia de a enfermedad y el incremento de la demanda de tequila, se propone explorar la viabilidad de estas herramientas para realizar estudios de alta resolución sobre la formación y dispersión de focos y el comportamiento temporal de la enfermedad a nivel local y regional.

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar el comportamiento espacio-temporal de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber) en las dos principales regiones productoras del estado de Jalisco y evaluar los diferentes factores asociados a esta enfermedad.

### 1.1.1. Objetivos específicos

- Caracterizar los patrones espacio-temporales de la enfermedad en las regiones de Los Altos y Valles del estado de Jalisco.
- Identificar anomalías en los patrones de reflectividad del agave azul que permitan diferenciar plantas sanas de plantas en proceso de marchitamiento.
- Estudiar la relación y efecto de los distintos factores asociados a la marchitez del agave azul (*Fusarium oxysporum*, humedad, glifosato e insectos barrenadores).

### 1.2. HIPÓTESIS

- La dispersión de la marchitez del agave por *Fusarium oxysporum*, a partir de focos de infección es un fenómeno predominantemente no aleatorio, producto del contagio por plantas adyacentes.
- La marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) puede ser detectada de manera temprana mediante la identificación de anomalías en los patrones de reflectividad de la planta, que permiten diferenciar plantas sanas de plantas enfermas.
- El efecto de *F. oxysporum*, el principal agente causal de marchitez en plantaciones de agave en el estado de Jalisco, es modulado por la humedad del suelo, la aplicación de herbicida y la ocurrencia de insectos barrenadores de la piña.

### 1.3. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.3.1. Importancia de la producción de agave tequilero en Jalisco

El cultivo de agave azul en México es de gran importancia económica en México, por ser un insumo para la elaboración de tequila. La producción de este cultivo está confinada a un área geográfica específica llamada *Zona de Denominación de Origen del Tequila* (DOT), la cual se oficializó en el Diario Oficial de la Federación en 1974 y comparte características climáticas y edafológicas similares, así como también una identidad histórica y cultural (Bowen and Valenzuela-Zapata 2009). Esta región, que está constituida por 181 municipios distribuidos en los estados de Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas (Fig. 1); alberga poco más de 300 millones de plantas de agave azul y 242 empresas tequileras, la mayoría con sede en Jalisco, quien es el principal estado productor de materia prima para la producción de tequila (CRT, 2017).



Figura 1. Zona de Denominación de Origen del Tequila (CRT, 2005).

El cultivo del agave cobró auge en el año de 1994 y para el 2006 colocó al tequila como el segundo producto mexicano de mayor exportación en el sector agroalimentario. En el período 1994-2006 generó divisas por 4,592 millones de dólares. El precio del kilogramo de agave también tuvo un incremento al pasar de \$1.57 en 1998 a \$19.08 en el año 2000 (Macías-Macías and Zapata Valenzuela 2009; Bowen and Valenzuela-Zapata 2009). Posiblemente, debido a una sobreproducción y escasa demanda, en 2009 y 2010 el precio se desplomó de tal manera que tuvo un valor de \$0.20 y \$0.40 / kilogramo respectivamente (Rubio, Comunicación personal).

La demanda internacional de tequila en los últimos años se ha incrementado, pero la producción nacional ha disminuido. Las exportaciones de esta bebida en el año 2010 fueron de 152.5 millones de litros y para 2017 alcanzaron 182.9 millones de litros. Para el año de 2010 la producción de tequila a nivel nacional se ubicó en 257.5 millones de litros y para el año 2015 se redujo a los 228.5 millones de litros, pero ha ido en aumento en 2017 hasta 232.6 millones de litros (CRT, 2017). El Datos del SIAP muestran que la superficie agavera disminuyó considerablemente desde el año 2010 al 2016, al pasar de 100,316 ha a 71,025 ha plantadas. Comentarios de productores y evidencias no publicadas sugieren que estos cambios pueden ser debidos a que el cultivo del agave azul ya no resulta un negocio rentable para los agricultores y a la migración hacia otros cultivos de mayor interés económico, como el aguacate, así como a la ocurrencia de problemas fitosanitarios. Este último factor es considerado un causal de grandes pérdidas de rendimiento en el cultivo (Ibarra, 2001; Ruiz-Corral *et al.*, 2002; Ávila-Miranda *et al.*, 2010). En 2017, debido al desabasto de materia prima para la elaboración de tequila, el kilogramo de agave se comercializó hasta en \$20.00 (Rubio, comunicación personal).



### 1.3.2. Fisiología del agave tequilero

El agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) es una planta en forma de roseta, monocárpica y monocotiledónea; ha tenido un papel muy importante desde tiempos antiguos para los habitantes del occidente de México en la elaboración de tequila (Rodríguez-Garay *et al.*, 2009). Las condiciones ambientales como la humedad, la temperatura y la radiación fotosintéticamente activa limitan la productividad del cultivo (Nobel and Valenzuela, 1987). En comparación con otras especies del género agave, *A. tequilana* es más susceptible a las bajas temperaturas; se producen daños por heladas cuando la temperatura desciende a  $-4^{\circ}$  C. Valores arriba de los  $36^{\circ}$  C afectan también su fisiología al disminuir su tasa de captura de  $\text{CO}_2$  (Nobel *et al.* 1998; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006). El rango óptimo de temperatura para el desarrollo de la planta, cuando existe la mayor captura de carbono, es cuando se presentan temperaturas diurnas entre  $25^{\circ}$  y  $30^{\circ}$  C y nocturnas entre  $10^{\circ}$  y  $15^{\circ}$  C (Nobel and Valenzuela 1987; Nobel *et al.*, 1998).

Aunque los agaves toleran hasta el 90% de disminución de su contenido tisular de agua, si esta condición disminuye puede llegar a inhibir su crecimiento (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006; Nobel, 2011). El éxito evolutivo y productivo de esta planta se debe principalmente a sus adaptaciones ambientales únicas, como son su sistema radicular fibroso y superficial, su morfología suculenta, cutícula gruesa y su metabolismo ácido crasuláceo (CAM), que le permite mantener elevados potenciales hídricos en sus tejidos (Ramírez-Tobías *et al.*, 2014). Gracias a esta ruta fotosintética, la apertura de estomas y el intercambio gaseoso se realiza durante la noche cuando las temperaturas no son elevadas (Nobel and Valenzuela 1987; Gobeille *et al.*, 2006).

Los patógenos bióticos y factores nutricionales también inducen cambios fisiológicos en el agave. Existe una relación estrecha entre el estado nutricional de la planta, la disponibilidad de elementos en el suelo y la ocurrencia de enfermedades (Munévar, 2004; Valencia-Botín, 2011). Por ejemplo, la fertilización nitrogenada en altas dosis puede aumentar la severidad con la que ataca *Cercospora agavicola* al estimular la producción de cercosporina, la cual provoca muerte de las células debido a la sobreproducción de oxígeno molecular, que induce daños en la membrana y pérdida de electrolitos al ser un agente foto-sensibilizador (Valencia-Botín, 2011, Daub and Chung, 2007). Por otro lado, un desbalance nutrimental da origen a una enfermedad de origen abiótico llamada anillo rojo, la cual se caracteriza por un arrosetamiento y deformación de las hojas y por un lento crecimiento de la planta; esta enfermedad se origina en suelos con pH entre 4 y 5.5, deficiencias de fósforo, zinc y boro y por un exceso de manganeso (Rubio, 2007; Uvalle y Vélez, 2007). Otras enfermedades, como la marchitez, ocurren en suelos ricos en hierro, con largos periodos de sequía y humedad del suelo menor al 25%. La infección se favorece cuando la planta sufre algún tipo de estrés, ya sea hídrico, por herbicida y daños en las raíces y tallo por insectos (Virgen-Calleros 2000; Rubio, 2007; Tlapal Bolaños *et al.* 2014).

### 1.3.3. La marchitez del agave

La marchitez es un problema fitosanitario que se acentúa cuando se abandonan las plantaciones debido a la sobreproducción y baja en el precio del agave, y que se reduce cuando aumenta la demanda y la industria tequilera utiliza toda la materia prima cultivada. Sin embargo, la enfermedad se presenta en ambos casos (Flores-López *et al.*, 2016). Esta anomalía se debe a la deshidratación de los tejidos por la reducción, muerte o destrucción del sistema radicular, o bien porque hay destrucción o taponamiento de haces vasculares (Virgen-Calleros 2000; Rubio, 2007; Tlapal Bolaños *et al.* 2014). Esta enfermedad era frecuentemente observada en plantas mayores a tres años, pero en la actualidad es común encontrarla al siguiente año de plantación e inclusive, casi al final del periodo de lluvias en el mismo ciclo (Rubio, 2007). La diseminación del patógeno es favorecida por el uso de hijuelos obtenidos a partir de plantas enfermas (Virgen-Calleros *et al.*, 2011).

La enfermedad se atribuye principalmente a *Fusarium oxysporum* (Virgen-Calleros, 2000; Ávila-Miranda *et al.*, 2010; Ramírez-Ramírez *et al.*, 2017) quien ataca al cultivo principalmente durante los primeros tres años de su desarrollo. El patógeno causa diversos síntomas en la planta, como pudrición seca de raíces, marchitamiento y decoloración de las hojas (CRT, 2005). Las plantas son afectadas en todos los estados del desarrollo, incluso en los hijuelos, donde se observa una lesión rojiza a ocre, de apariencia corchosa, conocida como clavo, que se caracteriza por una atrofia en el crecimiento y desprendimiento de las hojas del cogollo (Flores-López *et al.*, 2016). El daño se observa desde la parte distal del rizoma hasta la cabeza del hijuelo. Cuando el patógeno está presente en hijuelos de reciente plantación, estos pueden morir al término del período de lluvias (Rubio, 2007). Los factores que favorecen el

desarrollo de *F. oxysporum* en un gran número de cultivos son: pH 5.5 a 7.0, temperaturas de 20° a 26° C, humedad en el suelo menor al 25%, presencia de otros organismos que dañan las raíces (nematodos, insectos, etc.), fertilización (especialmente la nitrogenada) y altas densidades de plantación (Virgen- Calleros 2000; CRT, 2010).

La enfermedad inicia con un cambio de color en las hojas, de azul turquesa a verde, las que posteriormente se marchitan. El patógeno afecta la base de la piña, en la que ocurre una destrucción celular que se identifica por una apariencia polvosa de los tejidos y que avanza de manera ascendente hasta dañarla completamente y causar la muerte de la planta (Virgen-Calleros *et al.*, 2011). Aunque la marchitez ocurre en diversas áreas dentro de la zona de Denominación de Origen del Tequila, la intensificación de la producción de agave ha facilitado su expansión (Flores *et al.*, 2002). Al inicio de la infección la planta produce nuevas raíces que reemplazan a las que han sido afectadas, por lo que los síntomas no son percibidos sino hasta que el hongo ha invadido grandes áreas de tejido; de esta manera cuando la enfermedad es detectada en forma visual por los agricultores, el avance del hongo ya es tal que la muerte de la planta infectada es inminente dentro de los siguientes ocho meses después de la detección síntomas (Ireta y Flores, 2011).

### **1.3.4. Agentes causales**

#### **1.3.4.1. Estrés hídrico**

El agave tequilero es una planta adaptada a ambientes donde el contenido de humedad en el suelo es escaso (Ramírez-Tobías *et al.*, 2014). La falta de humedad puede afectar procesos como la respiración y la fotosíntesis y disminuir el desarrollo normal de la planta (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006). Cuando la planta sufre de estrés hídrico la producción de biomasa radicular y foliar disminuye, el crecimiento general se reduce y en algunos casos se inhibe; la captura de CO<sub>2</sub> es menor en comparación con plantas en condiciones óptimas de humedad (Nobel and Valenzuela 1987; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006; Ramírez-Tobías *et al.*, 2014). Eventualmente, si el agua en el suelo se pierde de tal forma que las plantas no pueden compensar la pérdida de esta por transpiración, las hojas pierden turgencia y se llega al punto en el que la planta se marchita permanentemente (Campbell and Benson, 1994).

En el caso de la marchitez del agave, la escasa disponibilidad de agua afecta también la actividad de microorganismos antagonistas que puedan controlar enfermedades con origen en el suelo. Por otro lado, el escaso desarrollo radicular y los tejidos debilitados de la raíz vuelven vulnerable a la planta a patógenos como *Fusarium* spp, cuyo su ataque se vuelve más severo en suelos con bajo contenido de humedad (Virgen-Calleros 2000; Leslie and Summerell 2006). Aunque la planta utiliza CO<sub>2</sub> para su desarrollo y libera O<sub>2</sub> como subproducto, las raíces requieren de oxígeno para un óptimo crecimiento. Un suelo saturado con agua tiene un gran impacto en el desarrollo de la planta ya que se inhibe el crecimiento radicular, limita la expansión del área foliar y la capacidad fotosintética se ve afectada negativamente (Ramírez-Tobías *et al.*, 2014). El agua estancada crea condiciones anaerobias debido a que desplaza

el oxígeno del espacio poroso y causa condiciones de anoxia en el sistema radicular de los cultivos al acumularse productos de respiración anaerobia como metano, óxido nitroso, y amoniaco, los cuales son perjudiciales para la planta (Campbell y Benson, 1994).

#### **1.3.4.2. Herbicidas**

Los herbicidas son productos químicos que alteran la fisiología de la planta, ya sea causando la muerte o un desarrollo anormal; su efecto letal se genera cuando actúan sobre un sitio primario de acción e inducen una serie de efectos secundarios y terciarios que conllevan a la muerte de la planta (Cobb and Reade, 2010). Uvalle y Vélez (2002) reportaron que los síntomas de los daños por el efecto de herbicidas comienzan a observarse 60 días después de la aplicación y que estos son más evidentes con moléculas no selectivas como glifosato y glufosinato de amonio. El glifosato es un herbicida no selectivo de amplio espectro, utilizado para el control de malezas, que si no se maneja adecuadamente puede causar daños al cultivo (Duke, 1988). Se acumula en las regiones meristemáticas de parte aérea y raíces y se libera a la rizósfera (Coupland y Casely, 1979; Rodrigues *et al.*, 1982). Estudios de campo y de laboratorio han demostrado que con la aplicación de glifosato aumentan las poblaciones de bacterias y hongos del suelo, posiblemente al actuar como una fuente de nutrientes para el crecimiento microbiano (Wardle y Parkinson, 1992; Busse *et al.*, 2001). En agave, el glifosato provoca encarrujamiento de las hojas que entran en contacto con este, las cuales adquieren tonalidades violáceas en el envés y su textura se torna flácida, finalmente se necrosa de la punta hacia la base con un fuerte endurecimiento del tejido vegetal. También se puede observar agrietamiento con

bordes necrosados en las hojas. El daño se puede asociar con la marchitez provocada por *Fusarium oxysporum* ya que el tiempo de aparición de síntomas después del periodo de lluvias (3 a 4 meses) corresponde al tiempo en el cual se manifiestan los daños por aplicación en campo (Uvalle y Vélez, 2002). El uso constante de glifosato a través de los ciclos de cultivo, incrementa las poblaciones de especies patogénicas de *Fusarium*, debido al incremento de aminoácidos en los exudados radicales y a la disminución en la producción de fitoalexinas (Kremer *et al.*, 2005; Means *et al.*, 2007).

#### **1.3.4.3. Picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*)**

El picudo del agave, es la principal plaga de este cultivo, el cual ataca tallo y cogollo y causa daños económicos de hasta 24.5% (Solís-Aguilar *et al.*, 2001). El adulto completa su ciclo de vida en el tejido interno de la planta, lo cual dificulta su manejo después de colonizarla (Solís-Aguilar *et al.* 2001; Pérez y Rubio, 2007). El estado larval tiene una duración aproximada de 108 días; durante este tiempo, las larvas hacen galerías al alimentarse, esto favorece la entrada de fitopatógenos (González-Hernández *et al.*, 2007). La etapa adulta del insecto puede extenderse hasta 125 días, dependiendo de las condiciones ambientales (Figuroa-Castro *et al.*, 2013). El adulto se encuentra con frecuencia entre la base de las hojas y en ocasiones en la raíz principal. La abundancia de alimento disponible para el picudo, hace que no emigren y sólo se muevan de plantaciones viejas a nuevas. Por tal razón se pueden encontrar prácticamente durante todo el año (Aquino *et al.*, 2007) con picos poblacionales en junio-julio y octubre-diciembre; en mayo es cuando se observa las poblaciones más altas en todos los estados de desarrollo dentro de los tallos (Figuroa-Castro *et al.*,

2013; Rubio, comunicación personal). Las pérdidas por daño directo (alimentación) que ocasiona el picudo del agave, van desde el 2 hasta el 7 % por año, en predios en los cuales el manejo es deficiente y hasta un 33 % en plantaciones en las que no se realiza un manejo oportuno. El daño indirecto que provocan se hace más notorio cuando disminuye la cantidad de agua y nutrientes que la planta puede translocar debido a las galerías internas, las cuales también pueden ser invadidas por microorganismos tanto patógenos como saprófitos. Dadas estas condiciones, la planta puede mostrar síntomas de marchitez en años posteriores (Rubio, 2011).

#### **1.3.4.4. *Fusarium* spp**

*Fusarium* spp es un hongo de reproducción asexual que sobrevive inactivo en el suelo gracias a estructuras de resistencia (clamidosporas), ya sean libres o en residuos vegetales (Guo *et al.*, 2010). El intervalo de temperatura para su crecimiento *in vitro* está entre los 7.5 y los 35° C, aunque las condiciones óptimas se dan entre los 25 y 27.5° C. El rango de pH adecuado para su desarrollo está entre 5.1 y 5.9, pero varía entre 4 y 9.4 (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015).

La infección por *Fusarium* consta de tres fases (Okungbowa and Shittu, 2012). En la fase latente los propágulos rompen la fungistasis y comienza la germinación de las estructuras de reposo en el suelo cuando las condiciones ambientales son propicias y existe quimiotropismo por parte de los exudados radicales ricos en carbono (azúcares), nitrógeno (aminoácidos) y ácidos grasos (Rossi *et al.*, 2009; Leoni *et al.*, 2013). La etapa parasítica comprende la penetración de las hifas en las raíces a través de heridas por la formación de raíces secundarias, la colonización de la corteza de la raíz y la endodermis (Rodríguez-Molina *et al.* 2003). El proceso de penetración es



intercelular, apoyado por enzimas hidrolíticas (Okungbowa and Shittu, 2012). Al inicio ocurre una colonización de la corteza radicular por el micelio y posteriormente las hifas penetran en el xilema en tallos y corona de forma ascendente y en los elementos de vaso adyacentes (Agrios, 2005). La expresión de síntomas ocurre gracias a alteraciones citológicas debidas a la propagación del hongo vía apoplasto. La combinación del micelio y esporas del patógeno inducen respuestas de defensa del hospedante para contener la infección, como la formación de geles y tilosas, trituración de los vasos por la proliferación de células de parénquima, lo que deriva en una descompensación del flujo hídrico de la planta y, finalmente, en su muerte (Walter *et al.*, 2010; Okungbowa and Shittu 2012). Entre la fase parasítica y la fase saprofítica hay formación de nuevos conidios en esporodoquios en hojas muertas. Las clamidosporas pueden permanecer viables hasta por 20 años en restos del hospedante y otros residuos vegetales (Guo *et al.*, 2010; Qiu *et al.*, 2016). La agresividad con la que este microorganismo ataca está influenciada por el propio genotipo del patógeno, las condiciones ambientales como temperatura, humedad y pH del suelo, entre otras, y la susceptibilidad del hospedante (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). La densidad de inóculo es un factor importante que también condiciona la agresividad de la enfermedad (Navas-Cortés *et al.*, 2007).

### **1.3.5. Distribución de la marchitez en Jalisco**

Las regiones productoras de agave azul del estado de Jalisco donde se encuentra ampliamente distribuida la enfermedad son Altos Sur, principalmente en los municipios de Arandas, Jesús María, Atotonilco, Ayotlán, Tepatitlán y Zapotlanejo, y en la región denominada Valles, en los municipios de Tequila Amatitán, Magdalena, El

Arenal, y Hostotipaquillo (Guillén, 2003; Ireta y Flores, 2011).

Ibarra (2001) reportó que la incidencia de marchitez en la zona Altos sur fue de 30.8%. El estudio se realizó en los municipios de Tepatitlán, Zapotlanejo, Atotonilco, Jesús María y Arandas. De ese porcentaje, Tepatitlán, que comprende el 19.4% de la superficie total, fue el más afectado (63% de incidencia), seguido de Jesús María con 46% de incidencia, Atotonilco con 34%, Zapotlanejo con 6% y Arandas con 4.77%.

Castro (2003) realizó estudios en la región Sur (Autlán, Cocula, Villa Corona, Jocotepec, Tonaya, Zacoalco de Torres y San Gabriel) y reportó un 40% de incidencia de marchitez con severidad intermedia (de 6 a 10 hojas externas con encarrujamiento). El municipio de Cocula (24% de la superficie total) resultó el más afectado con una incidencia de 60%.

Flores-López et al. (2016) publicaron estudios de zonas de riesgo de marchitez en el estado de Jalisco, realizados en 2009. Este estudio se basó en un modelo de potencial productivo que evaluó los requerimientos climáticos del patógeno para simular ciclos de infección y proclividad ambiental. Los autores reportaron que para 1995 el nivel de riesgo bajo era predominante y estaba asociado con zonas muy cálidas y secas, como es la costa, el Norte y Altos norte de Jalisco. Los niveles de riesgo medio y alto se encontraban en las regiones Ciénega, Altos Sur, Valles y Sur de Jalisco; debido al aumento en la temperatura ambiental, el incremento en el riesgo de marchitez en las partes altas del estado es notorio, mientras que en las zonas costeras y de mediana altitud (menos de 1500 msnm), el riesgo disminuye.

#### 1.4. REFERENCIAS

- Aquino, B. T., Iparraguirre, C. M. A. and Ruiz, V. J. 2007. *Scyphophorus acupunctatus* (=interstitialis) Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). Plaga del agave mezcalero: Pérdidas y daños en Oaxaca, México. Rev. Cient. UDO Agric. 7:175–180.
- Ávila-Miranda, M. E., López-Zazueta, J. G., Arias-Castro, C., Rodríguez-Mendiola, M. A., Guzmán-de Peña, Doralinda Vera-Núñez, J. A., and Peña-Cabriales, J. J. 2010. Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Weber var. azul). J. Prof. Assoc. Cactus Dev. 12:166–180.
- Barbedo, J. G. A., Tibola, C. S., and Fernandes, J. M. C. 2015. Detecting *Fusarium* head blight in wheat kernels using hyperspectral imaging. Biosyst. Eng. 131:65–76.
- Bauriegel, E., Giebel, A., Geyer, M., Schmidt, U., and Herppich, W. B. 2011. Early detection of *Fusarium* infection in wheat using hyper-spectral imaging. Comput. Electron. Agric. 75:304–312.
- Bowen, S., and Valenzuela-Zapata, A. 2009. Geographical indications, terroir, and socioeconomic and ecological sustainability: The case of tequila. J. Rural Stud. 25:108–119.
- Busse M.D., Ratcliff A.W., Shestak C.J. y Powers, R.F. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. Soil Biology and Biochemical 33: 1777–1789.
- Campbell, C. L. and Madden, L. V. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Ed. Wiley. New York. 560 pp.

- Campbell, C.L. and Benson, D.M. Epidemiology and Management Root Disease. North Carolina State University. Department of Plant Pathology. 334 pags.
- Cobb, A. and Reade, J. 2010. Herbicides and plant physiology. 2nd ed. Wiley-Blacwell. Singapore. 286 p.
- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2005. Plagas y enfermedades del *Agave tequilana* Weber var Azul. Ed. Pandora. Impreso en México. 123p.
- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2010. Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber Var. Azul. Comité técnico agronómico-Subcomite de fitosanidad. 10p.
- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2017. Información estadística. Consultado en <https://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/>
- Coupland, D. and Casely, J.C. 1979. Presence of C14 activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with C14-labelled glyphosate. *New Phytologist* 83: 17–22.
- Cuevas, A.F. y Domínguez, V. X. 2007. Evaluación in vitro de aislados de *Trichoderma* spp. Encontrados en la región de Tequila, Jalisco contra *Fusarium* spp. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo.
- Daub, M.E. and Chung, K-R. 2007. Cercosporin: A Phytoactivated Toxin in Plant Disease. Online. APSnet Features. doi: 10.1094/APSnetFeature/2007-0207
- De La Torre-Ruiz, N., Ruiz-Valdiviezo, V. M., Rincón-Molina, C. I., Rodríguez-Mendiola, M., Arias-Castro, C., Gutiérrez-Miceli, F. A., et al. 2016. Effect of plant growth-promoting bacteria on the growth and fructan production of *Agave americana* L. *Brazilian J. Microbiol.* 47:587–596.

- Duke, S.O. 1988. Glyphosate. In *Herbicides: Chemistry, Degradation and Mode of Action*; Kearney, P.C., Kaufman, D.D., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York. Vol. III, 1–70.
- Figueroa-Castro, P., Solís-Aguilar, J. F., González-Hernández, H., Rubio-Cortés, R., Herrera-Navarro, E. G., Castillo-Márquez, L. E., et al. 2013. Population Dynamics of *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) on Blue Agave. *Florida Entomol.* 96:1454–1462.
- Flores L.,H.E., K.F. Byerly, J.J. Aceves R.,J. Ireta M., R. Soltero Q., C. Alvarez M.,H. Castañeda V., J.A. Ruiz C.,P. Rodríguez G. y F.J. Flores M. 2002. Análisis agroecológico de *Agave tequilana* Weber var. Azul con énfasis en problemas fitosanitarios en Jalisco. Publicación Especial Núm. 1. INFAP-CIRPAC-CEAJAL. Tepatitlán, Jal. México. 161 p.
- Flores López, H. E., Chávez Durám, Á. A., Ruíz Corral, J. A., de la Mora Orozco, C., and Rodríguez Moreno, V. M. 2016. Efecto del cambio climático sobre las zonas de riesgo por marchitez en el *Agave tequilana* Weber variedad Azul en Jalisco. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.:*2497–2510.
- Fucikovsky-Zak., L. 2001. Tristeza and death of *Agave tequilana* Weber var. azul. Ed. De Boer, S.H., *In: Plant Pathogenic Bacteria*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London. 434 p.
- Gago, J., Douthe, C., Coopman, R. E., Gallego, P. P., Ribas-Carbo, M., Flexas, J., et al. 2015. UAVs challenge to assess water stress for sustainable agriculture. *Agric. Water Manag.* 153:9–19.

- Gennaro, S. F. Di, Albanese, L., Benanchi, M., Marco, S. Di, Matese, A., Mugnai, L., *et al.* 2013. An Uav-Based Remote Sensing Approach for the Detection of Spatial Distribution and Development of a Grapevine Trunk Disease. *GiESCO*. :734–737.
- Gitelson, A. A., Kaufman, Y. J., Stark, R., and Rundquist, D. 2002. Novel algorithms for remote estimation of vegetation fraction. *Remote Sens. Environ.* 80:76–87.
- Gobeille, A., Yavitt, J., Stalcup, P., and Valenzuela, A. 2006. Effects of soil management practices on soil fertility measurements on *Agave tequilana* plantations in Western Central Mexico. *Soil Tillage Res.* 87:80–88.
- González, H. H., Solís, A. J. F., Pacheco S. C., Flores M. F. J., Rubio C. R., y Luna-Rojas, J. C. 2007. Insectos barrenadores del agave tequilero, pp. 39-67 In H. González H., J. I. Del Real L., and J. F. Solís A. [eds.], *Manejo de Plagas del Agave Tequilero*. Colegio de Postgraduados and Tequila Sauza S.A. de C.V., Zapopan, Jalisco, México.
- Guillén, C. R. 2003. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* y promoción de crecimiento por rizobacterias en *Agave tequilana* weber var. azul Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Zapopan, Jalisco.
- Guo, X. W., Fernando, W. G. D., Bullock, P., and Sapirstein, H. 2010. Quantifying cropping practices in relation to inoculum levels of *Fusarium graminearum* on crop stubble. *Plant Pathol.* 59:1107–1113.
- Ibarra, N. M. 2001. Distribución e incidencia de marchitez (*Erwinia* sp y *Fusarium* sp) del agave (*Agave tequilana* Weber), en los Altos de Jalisco. Departamento de producción agrícola. CUCBA. U de G. Tesis de Licenciatura.

- Ireta M. J. y Flores L. H. 2011. Epidemiología de las enfermedades del cultivo de agave azul tequilero p. 21-27 In Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Guadalajara, Jalisco.
- Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., Jiménez-Gasco, M. del M., Landa, B. B., and Navas-Cortés, J. A. 2015. *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Prot.* 73:16–27.
- Kremer, R. J., Means, N. E., and Kim, S. 2005. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere micro-organisms. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 85:1165–1174.
- Leoni, C., de Vries, M., ter Braak, C. J. F., van Bruggen, A. H. C., and Rossing, W. A. H. 2013. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* dynamics: In-plant multiplication and crop sequence simulations. *Eur. J. Plant Pathol.* 137:545–561.
- Leslie, J. F., and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. 1st Edition. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Limón, E.M., 2000. *Tequila: The Spirit of Mexico*. Abbeville Press, New York.
- Luna H. G. 1996. Pudrición de tallo de *Agave tequilana* Weber, var. Azul en el estado de Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Macías-Macías, A., and Zapata Valenzuela, A. G. 2009. El tequila en tiempos de la mundialización. *Comer. Exter.* 59:14.
- Mahlein, A. K., Oerke, E. C., Steiner, U., and Dehne, H. W. 2012. Recent advances in sensing plant diseases for precision crop protection. *Eur. J. Plant Pathol.* 133:197–209.

- Martínez R. J. L., Vázquez G. M., Pimienta B. E., Bernal M. F., Flores M. F., Ibarra D. R., Torres M. P., Cuevas C. H., Martín del Campo M. N., Rodríguez R. R. y Virgen C. G. 1998. Proyecto: Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber var. Azul. Revista Mexicana de Fitopatología 16: 116.
- Means, N. E., Kremer, R. J., and Ramsier, C. 2007. Effects of glyphosate and foliar amendments on activity of microorganisms in the soybean rhizosphere. J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes. 42:125–132.
- Munévar, F. 2004. Relación entre la nutrición y las enfermedades de las plantas. Rev. Palmas. 25:171–178.
- Navas-Cortés, J. A., Landa, B. B., Méndez-Rodríguez, M. A., and Jiménez-Díaz, R. M. 2007. Quantitative modeling of the Effects of Temperature and Inoculum Density of *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris Races 0 and 5 on Development of *Fusarium* Wilt in Chickpea Cultivars. Phytopathology. 97:564–573.
- Nobel P.S. 2011. Sabiduría del desierto, agaves y cactus: CO<sub>2</sub>, agua, cambio climático. 2a ed. Biblioteca Básica de Agricultura, Texcoco.
- Nobel, P. S., and Valenzuela, A. G. 1987. Environmental responses and productivity of the CAM plant, *Agave tequilana*. Agric. For. Meteorol. 39:319–334.
- Nobel, P. S., Castañeda, M., North, G., Pimienta-Barrios, E., and Ruiz, A. 1998. Temperature influences on leaf CO<sub>2</sub> exchange, cell viability and cultivation range for *Agave tequilana*. J. Arid Environ. 39:1–9.
- Okungbowa, F. I., and Shittu, H. 2012. *Fusarium* Wilts: An Overview. Environmental Res. J. 6(2):83–102.



- Pérez D., J. F. y R. Rubio C. 2007. Tecnología de manejo y control de plagas del agave. p. 135-168 In Rulfo V., F. O. et al. (ed.). Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de *Agave tequilana* Weber en la zona de denominación de origen del tequila. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro.
- Pimienta-Barrios, E., Zañudo-Hernández, J., and García-Galindo, J. 2006. Fotosíntesis estacional en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Agrociencia*. 40:699–709.
- Qiu, J., Sun, J.-T., Yu, M.-Z., Xu, J.-H., Shi, J.-R., Goswami, R. S., et al. 2016. Temporal dynamics, population characterization and mycotoxins accumulation of *Fusarium graminearum* in Eastern China. *Sci. Rep.* 6:36350.
- Ramírez-Ramírez, M. de J., Mancilla-Margalli, N. A., Meza-Álvarez, L., Turincio-Tadeo, R., Guzmán-De Peña, D., and Avila-Miranda, M. E. 2017. Epidemiology of *Fusarium* agave wilt in *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Plant Prot. Sci.* 53:144–152.
- Ramírez-Tobías, H. M., Peña-Valdivia, C. B., and Aguirre, J. R. 2014. Respuestas bioquímico-fisiológicas de especies de agave a la restricción de humedad. *Bot. Sci.* 92:131–139.
- Rodrigues J.J.V., Worsham A.D. y Corbin F.T. 1982. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and it effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). *Weed Science* 30: 316–320.

- Rodríguez Zafra, J. M., de Cara García, M., Tello Marquina, J., and Palmero Llamas, D. 2016. Dispersal of *Fusarium* spp. by rainwater and pathogenicity on four plant species. *Aerobiologia* (Bologna). 32:431–439.
- Rodríguez-Garay, B., Lomelí-Sención, J. A., Tapia-Campos, E., Gutiérrez-Mora, A., García-Galindo, J., Rodríguez-Domínguez, J. M., et al. 2009. Morphological and molecular diversity of *Agave tequilana* Weber var. Azul and *Agave angustifolia* Haw. var. Lineño. *Ind. Crops Prod.* 29:220–228.
- Rodríguez-Molina, M., Medina, I., Torres-Vila, L., and Cuartero, J. 2003. Vascular colonization patterns in susceptible and resistant tomato cultivars inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici races 0 and 1. *Plant Pathol.* 52:199–203.
- Rossi, V., Scandolara, A., and Battilani, P. 2009. Effect of environmental conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. *Eur. J. Plant Pathol.* 123:159–169.
- Rubio C., R. 2007. Enfermedades del cultivo de agave. p. 169-195 In Rulfo V., F. O. et al. (ed.). *Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de Agave tequilana* Weber en la zona de denominación de origen del tequila. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro.
- Rubio, C. R. 2011. Evolución histórica y situación actual del daño de Picudo en el cultivo del agave azul tequilero p 79-85. In *Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero*. Guadalajara, Jalisco.

- Ruiz-Corral, J. A. J. A., Pimienta-Barrios, E., and Zanudo-Hernández, J. 2002. Regiones térmicas óptimas y marginales para el cultivo de *Agave tequilana* en el Estado de Jalisco. *Agrocencia*. 36: 41–53.
- Serranti, S., Cesare, D., and Bonifazi, G. 2013. The development of a hyperspectral imaging method for the detection of *Fusarium*-damaged, yellow berry and vitreous Italian durum wheat kernels. *Biosyst. Eng.* 115:20–30.
- Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera (SIAP). 2017. Consultado en: [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do)
- Solís-Aguilar, J. F., Gozález-Hernández, H., Leyva-Vázquez, J. L., Equihua-Martínez, A., Flores-Mendoza, F. J., and Martínez-Garza, Á. 2001. *Scyphophorus acupunctatus* GYLLENHAL, plaga del agave tequilero en Jalisco, México. *Agrociencia*. 35:663–670.
- Suárez-González, E. M., López, M. G., Délano-Frier, J. P., and Gómez-Leyva, J. F. 2014. Expression of the 1-SST and 1-FFT genes and consequent fructan accumulation in *Agave tequilana* and *A. inaequidens* is differentially induced by diverse (a) biotic-stress related elicitors. *J. Plant Physiol.* 171:359–372.
- Tlapal Bolaños, B., González Hernández, H., Zavaleta Mejía, E., Sánchez García, P., Mora Aguilera, G., Nava Díaz, C., et al. 2014. Colonización de *Trichoderma* y *Bacillus* en Plántulas de *Agave tequilana* Weber, var. Azul y el Efecto Sobre la Fisiología de la Planta y Densidad de *Fusarium*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 32:62–74.

- Uvalle B., J. X. y C. Vélez G. 2007. Nutrición del Agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) p. 69-88 In Rulfo V., F. O. et al. (ed.). Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de *Agave tequilana* Weber en la zona de denominación de origen del tequila. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro.
- Uvalle Bueno, J. X., and Vélez Gutiérrez, C. 2002. Selectividad fisiológica de herbicidas en *Agave tequilana* Weber: 317–322. In Memoria del XVI Congreso Latinoamericano de Malezas y XXIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de la Ciencia de la Maleza. Manzanillo, Colima, México.
- Valencia-Botín., A. J. 2011. Evolución histórica y situación actual de la mancha gris en el cultivo de agave tequilero p 45-54. In Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Guadalajara, Jalisco.
- Virgen, C. G., Méndez, M. L. y Espitia, C. C. 2011. Evolución Histórica y Situación Actual de la Marchitez y Pudrición Seca del Cogollo en el Cultivo del Agave azul tequilero p. 28-34 In Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Guadalajara, Jalisco.
- Virgen-Calleros, G. 2000. Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber var. azul. Guadalajara.
- Walter, S., Nicholson, P., and Doohan, F. M. 2010. Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytol.* 185:54–66.
- Wardle D.A. y Parkinson, D.A. 1992. Influence of the herbicides 2,4-D and glyphosate on soil microbial biomass and activity: A field experiment. *Soil Biology and Biochemical* 24: 185–186.

# CAPÍTULO I. ANÁLISIS DE LA DINÁMICA ESPACIO-TEMPORAL DE LA MARCHITEZ DEL AGAVE TEQUILERO EN JALISCO, MÉXICO

## 1.1. RESUMEN

El tequila es una bebida mexicana elaborada a partir de la fermentación y destilación del agave azul. Uno de los problemas fitosanitarios de este cultivo es la marchitez asociada a *Fusarium oxysporum*, una enfermedad que ocasiona pérdidas de materia prima. En este trabajo se analizó la dinámica espacio-temporal de la enfermedad en plantaciones comerciales de agave azul en el estado de Jalisco. Se seleccionaron cuatro predios de aproximadamente 1 ha en los municipios de Arandas y Magdalena (dos en cada municipio), en los cuales se realizaron cuatro censos a lo largo de un año de evaluación donde se categorizó cada planta con base en una escala con cuatro clases de severidad (planta sana, severidad 1, severidad 2 y severidad 3). Se elaboraron mapas de distribución de la enfermedad. El patrón espacial se determinó mediante la relación varianza-media (VM). La variación espacio-temporal se analizó mediante matrices de transición entre clases de severidad con ayuda del comando CROSSTAB del Software IDRISI v. Terrset. Para evaluar la dinámica temporal y la intensidad de la enfermedad para cada predio se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de cada nivel de severidad de la marchitez mediante el método de integración trapezoidal. El patrón de distribución espacial se presentó inicialmente en forma de agregados, pero al término de un año en general se tornó uniforme. Las transiciones en los niveles de severidad no fueron completamente unidireccionales, algunas plantas mostraron remisión de síntomas entre la primera y segunda fecha censal, mientras que otras se mantuvieron

en su severidad original. La severidad 1 se presentó con mayor frecuencia en los predios de Arandas (de 13.5 a 40.3% en El Estribo, 12.9 a 16.3 % en Agua Nueva), y un incremento notable en la severidad 2 para las plantaciones de Magdalena (de 13.8 a 45% en Potrero Viejo 1 y de 4 a 50.6% en Potrero Viejo 2). La intensidad de la enfermedad fue mayor en las plantaciones de Magdalena según los resultados del ABCPE. Las tasas de incremento en plantas que alcanzaron la severidad 3 al final de la evaluación son bajas y no suponen una limitante importante para el cultivo, sin embargo, las tasas de incremento en plantas que alcanzaron la severidad 2 si ponen en riesgo la sanidad y la disponibilidad de la materia prima para la elaboración de tequila.

**Palabras clave:** marchitez, *Fusarium oxysporum*, agave tequilero, análisis espacio-temporal.

## 1.2. INTRODUCCIÓN

El tequila es una bebida mundialmente conocida, producida en México a partir de la fermentación y destilación de piña (tallo) cocida de la planta de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) (Limón, 2000; Bowen and Valenzuela-Zapata, 2009). La producción de este cultivo está confinada a un área geográfica específica llamada Zona de Denominación de Origen del Tequila (DOT), la cual comparte características climáticas y edafológicas similares, así como también una identidad histórica y cultural (Bowen and Valenzuela-Zapata, 2009). El cultivo del agave tequilero es afectado por varias enfermedades, de las cuales, tres de ellas han sido catalogadas por el Consejo Regulador del Tequila (CRT) como plagas reglamentadas: mancha gris (*Cercospora agavicola* Ayala-Escobar, 2005), pudrición del cogollo (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Waldee, 1975) y marchitez del agave (*Fusarium oxysporum* Schlechtendal, 1824) (CRT, 2010).

La marchitez del agave azul ha sido tema de interés para la industria tequilera debido a las grandes pérdidas de materia prima que ocasiona (Virgen-Calleros 2000). Esta enfermedad ha sido recurrente en los inventarios productivos (Virgen-Calleros 2000; Rubio, 2007) y se atribuye principalmente a *F. oxysporum* (Virgen-Calleros, 2000; Ávila-Miranda *et al.*, 2010; Ramírez-Ramírez *et al.*, 2017), un hongo que generalmente ataca al cultivo durante los primeros tres años de su desarrollo. El patógeno induce pudrición seca de raíces, marchitamiento y decoloración de las hojas y es favorecida por factores como estrés hídrico, exceso de humedad, herbicidas y el ataque de barrenadores del tallo, que pueden exacerbar los síntomas (CRT, 2005). La dispersión de la enfermedad es favorecida por el establecimiento de plantaciones con hijuelos obtenidos a partir de plantas enfermas (Virgen-Calleros *et al.*, 2011). Se

conoce muy poco acerca de la dinámica espacial y temporal de la marchitez del agave azul (Ávila-Miranda *et al.*, 2010). Su conocimiento permitiría definir acciones de manejo de la enfermedad y aportar elementos para la investigación epidemiológica adicional (Schwanck *et al.*, 2016). En el presente trabajo se analizó el comportamiento espacial y temporal de la enfermedad en cuatro predios de dos diferentes localidades productoras de agave azul en el estado de Jalisco, como un primer paso para la investigación del efecto de medidas sanitarias para el manejo de esta enfermedad.

### 1.3. METODOLOGÍA

#### 1.3.1. Sitios de estudio

Se seleccionaron cuatro campos cultivados con agave en dos municipios del estado de Jalisco, en los cuales se evaluó una sección de aproximadamente 1 ha en cada uno. Los sitios de evaluación se ubican en los municipios de Arandas y Magdalena, son parte del área agrícola de la empresa tequilera Casa Sauza S.P.R. de R.L. La localización geográfica de cada predio está indicada en el Cuadro 1 y Figura 2. En estas áreas, además del deshierbe manual, es muy recurrente el uso de herbicida para el control de malezas.

Cuadro 1. Sitios experimentales para el monitoreo de la marchitez del agave en el estado de Jalisco.

Municipio	Localidad	Predio	Edad	Coordenadas
Arandas	Santiaguito	El Estribo	3 años	20° 44' 50.26" N, 102° 14' 14.91" O
Arandas	El Nacimiento	Agua nueva	1 años	20° 38' 20.21" N, 102° 17' 36.28" O
Magdalena	San Andrés	Potrero viejo 1	3 años	20° 55' 47.33" N, 104° 05' 42.06" O
Magdalena	San Andrés	Potrero viejo 2	3 años	20° 55' 48.99" N, 104° 05' 46.82" O



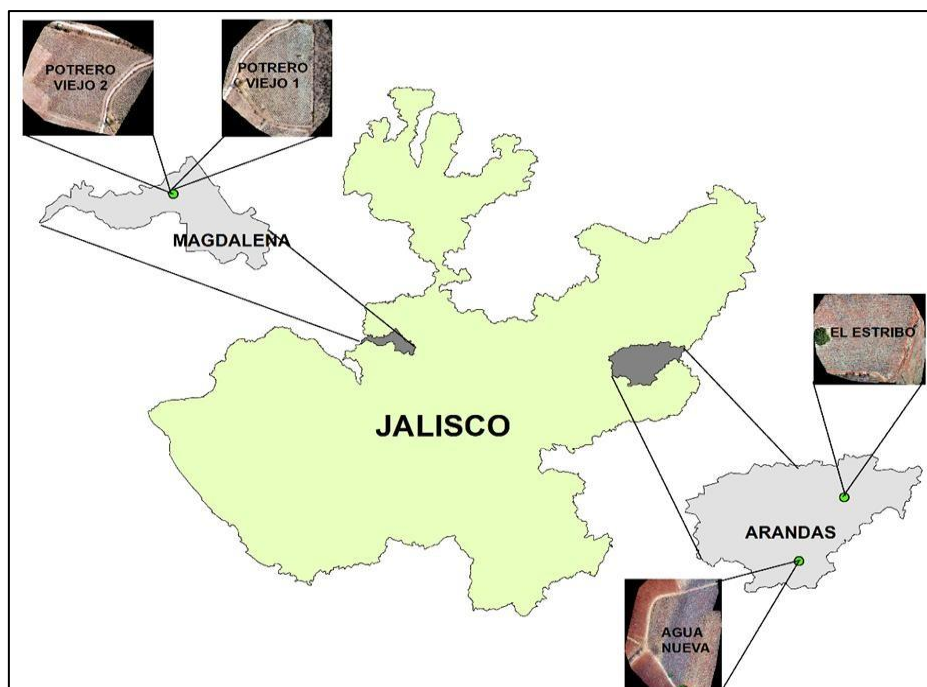


Figura 2. Ubicación geográfica de los predios agaveros evaluados.

El municipio de Arandas se localiza en la región Altos Sur, la altura de los sitios de producción varía entre 2,100 y 2298 msnm. La temperatura media anual durante el 2017 fue de 17.3° C, con máxima de 29.7° C y mínima de 4.5° C. La precipitación acumulada anual fue de 936 mm; la temporada de lluvias se ubicó durante el periodo de junio a septiembre con 803 mm (Cuadro 2, INEGI, 2017).

Cuadro 2. Registro de temperatura y precipitación del municipio de Arandas, Jalisco, México durante el año 2017.

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Tmed (°C)	13.3	14.6	16.9	19.3	20.9	20.3	19	18.8	18.4	17.4	15.5	13.9
Tmin (°C)	4.5	5.5	7.6	10	12.1	13	12.6	12.4	12.1	9.9	6.9	5.4
Tmáx (°C)	22.2	23.8	26.3	28.7	29.7	27.7	25.4	25.2	24.7	24.9	24.1	22.4
Pp (mm)	11	6	6	10	47	178	244	218	163	57	12	17

El municipio de Magdalena se encuentra en la región Valles del estado de Jalisco. Los campos de cultivo de agave se ubican a una altura de 1532 msnm. La temperatura media anual en 2017 fue de 20.7° C. La máxima temperatura ocurrió de marzo a junio y varió entre los 30.3 y 33.5° C. La temperatura mínima ocurrió en febrero y fue de 7.8° C. La máxima incidencia de lluvias se presentó durante el periodo de junio a septiembre, en los que llovió un total de 758 mm. La precipitación total anual fue de 878 mm (Cuadro 3, INEGI, 2017).

Cuadro 3. Registro de temperatura y precipitación del municipio de Magdalena, Jalisco, México durante el año 2017.

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Tmed (°C)	17	18	19.9	22.1	23.8	23.7	22	22.1	22.1	21.1	19.3	17.4
Tmin (°C)	7.8	8.2	9.5	11.7	14.1	16.3	16.2	16.2	16.3	14.1	10.8	8.9
Tmáx (°C)	26.2	27.9	30.3	32.5	33.5	31.2	27.9	28	28	28.2	27.9	25.9
Pp (mm)	14	9	3	6	19	176	244	207	131	44	13	12

### 1.3.2. Evaluación de la enfermedad

En cada campo de cultivo se realizaron censos, donde se registró la ubicación de cada planta, la ocurrencia y severidad de la marchitez, así como la presencia de alguna otra enfermedad. En el Cuadro 4 se reportan las diferentes fechas censales, así como el total de días de evaluación de cada sitio:

Cuadro 4. Fechas censales y días de evaluación de la marchitez del agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) en cuatro plantaciones comerciales del estado de Jalisco.

Municipio	El Estibo	Agua nueva	Potrero viejo 1	Potrero viejo 2
Primer censo	19-may-2017	10-ago-2017	21-may-2017	7-ago-2017
Segundo censo	11-ago-2017	23-nov-2017	08-ago-2017	26-nov-2017
Tercer censo	22-nov-2017	15-05-2018	25-nov-2017	16-may-2018
Cuarto censo	15-may-2018	-	17-may-2018	-
Días de evaluación	362	279	362	283

Para la evaluación del grado de marchitez del agave se utilizó la siguiente escala de enfermedad:

- Severidad 0 (Planta sana): planta que no presenta síntomas de marchitez (Figura 3A).
- Severidad 1 (inicio): planta con 10-15 cm de enrollamiento y encarrujamiento en las puntas de las pencas (Figura 3B).
- Severidad 2 (dañada): planta con una tercera parte de pencas enrolladas y encarrujadas entre 20-30 cm, con cambios de coloración en la planta, de azul turquesa a pálido grisáceo y hasta verde grisáceo (Figura 3C).
- Severidad 3 (muy marchita): planta con daño irreversible, con dos terceras partes de pencas enrolladas, encarrujadas o marchitas entre 40-50 cm; se acompaña de una falsa madurez de la piña (tono amarillento), muchas veces se puede encontrar la planta sin anclaje en el suelo (Figura 3D).

Durante cada censo se registró también la ocurrencia y ubicación de otras enfermedades del agave azul, pero no se utilizó una escala de severidad. En estos casos el diagnóstico fue realizado por comparación visual con síntomas observados en plantas previamente diagnosticadas o síntomas reportados por otros investigadores (Ayala-Escobar et al. 2005; Rubio, 2007; Ávila-Miranda et al. 2010).





Figura 3. Escala de evaluación de la marchitez (*Fusarium oxysporum*) del agave (*Agave tequilana* Weber var. azul) utilizada para determinar la dinámica de la variación espacio-temporal a nivel predio, en cuatro predios de dos municipios del estado de Jalisco. A) Severidad 0 (planta sana). B) Severidad 1. C) Severidad 2. D) Severidad 3.

### **1.3.3. Mapeo**

Para cada localidad se elaboraron mapas en formato shapefile de ArcGis10.5, con la localización y coordenadas de cada planta, con el fin de representar gráficamente la ubicación de plantas sanas y enfermas en toda el área de evaluación. En la base de datos adjunta a cada capa shapefile se registró la ocurrencia y el nivel de severidad (donde fue aplicable) de cada enfermedad. Se analizó la dinámica de cambios entre niveles de enfermedad durante un año, se calcularon porcentajes de cambio entre niveles de severidad y se registraron espacialmente las ubicaciones donde se dieron los cambios principales.

### **1.3.4. Análisis de la variación espacial**

Se utilizó la relación varianza media (VM) como índice de dispersión. Se evaluaron estadísticamente las diferencias con respecto al patrón aleatorio ( $VM = 1$ ) mediante pruebas de hipótesis (Ludwig and Reynolds, 1988; Campbell and Madden, 1990), para identificar patrones espaciales agregados ( $VM > 1$ ) o uniformes ( $VM < 1$ ). La variación espacial de la marchitez en cada campo de cultivo, se determinó mediante los cambios de un nivel de severidad a otro durante los cuatro censos realizados. Para tal efecto, la capa shapefile de cada predio se rasterizó en una imagen con celdas cuadradas de 0.5 m en cada lado, de tal manera que en los sitios donde había plantas se codificó sólo un valor de la severidad de la marchitez o la ocurrencia de otra enfermedad; se utilizaron códigos numéricos específicos para cada caso. La rasterización fue realizada mediante los módulos Rastervector e Initial del programa IDRISI v. Terrset. Se calcularon los porcentajes y ubicación geográfica de las variaciones entre los diferentes tipos de severidad de la marchitez entre las cuatro fechas censales en cada campo de cultivo. Este

proceso fue realizado mediante el módulo Crosstab del mismo software, con el cual se generaron mapas de cambios y matrices de variaciones porcentuales.

### **1.3.5. Análisis de la variación temporal de la marchitez del agave.**

Con los datos de cada censo en cada campo de cultivo se analizaron gráficamente las variaciones porcentuales entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave a través de todo el año de evaluación (cuatro censos). Para comparar diferencias entre localidades se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de cada nivel de severidad de la marchitez, utilizando para tal efecto el método de integración trapezoidal (Shaner y Finney, 1977):

$$ABCPE = \sum_1^{n-1} \frac{(y_i - y_{i+1})}{2} * (t_{i+1} - t_i)$$

Dónde:  $y_i$  = proporción de enfermedad en la  $i$ -ésima evaluación,  $t_i$  = tiempo en la  $i$ -ésima observación,  $n$  = número de evaluaciones.

Dado que en este tipo de evaluaciones no se tienen repeticiones, no se realizaron pruebas estadísticas de las diferencias entre localidades cultivadas con agave.



## 1.4. RESULTADOS

### 1.4.1. Distribución espacial de la marchitez

El índice de dispersión VM varió a través de las fechas censales (Cuadro 5). En las dos primeras evaluaciones realizadas en el predio El Estribo, municipio de Arandas, los valores del índice resultaron significativamente mayores que 1, mientras en las últimas dos la VM resultó ser significativamente menor que 1, lo cual indica un patrón espacial agregado que posteriormente se volvió uniforme. En la Figura 4 se muestra la ubicación geográfica de plantas sanas y marchitas en este predio, en las cuatro fechas censales. Puede observarse que en el primer censo la marchitez ocurrió en focos de enfermedad bien definidos (Figura 4A). En el segundo, aunque el índice de dispersión VM resultó estadísticamente mayor de 1, el análisis visual de la distribución de la marchitez se percibe aún como aleatoria (Figura 4B). En el tercer censo, aunque resultó más frecuente la marchitez con severidad 1, se hizo evidente el avance de la enfermedad al nivel 2 (Figura 4C). En el cuarto censo la distribución espacial de la marchitez fue más uniforme, debido a la mayor incidencia de plantas con severidad 1 que con las categorías 2 y 3 (Figura 4D)..

Cuadro 5. Patrón de agregación espacial (relación Varianza/Media\*) de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) en cuatro campos de cultivo del estado, Jalisco, México y cuatro fechas de evaluación<sup>&</sup>.

Localidad	May-2017		Ago-2017		Nov-2017		May-2018	
	VM	Patrón	VM	Patrón	VM	Patrón	VM	Patrón
El Estribo	1.47	Agregado	1.06	Agregado	0.99	Uniforme	0.81	Uniforme
Agua Nueva			1.15	Agregado	1.21	Agregado	1.39	Agregado
Potrero Viejo 1	0.49	Uniforme	0.70	Uniforme	0.61	Uniforme	0.46	Uniforme
Potrero Viejo 2			0.79	Uniforme	0.52	Uniforme	0.47	Uniforme

<sup>&</sup> Evaluación realizada mediante censo.

\* Ho: VM = 1 con base en Taylor (1984), todas las pruebas resultaron estadísticamente diferentes de 1 con  $P > t = 0.01$

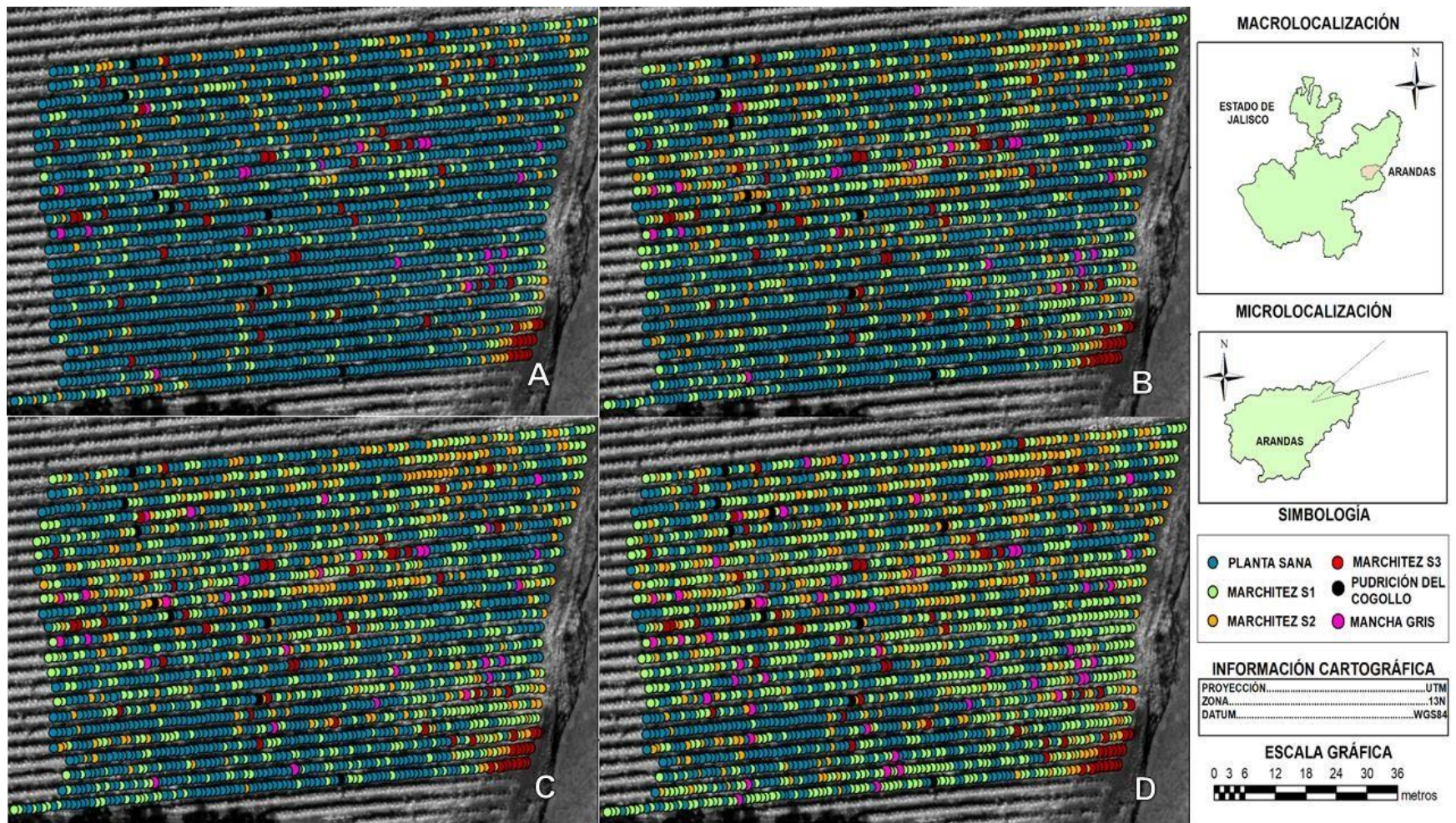


Figura 4. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante las diferentes fechas censales en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México. A) 19 de mayo de 2017. B) 11 de agosto de 2017. C) 22 de noviembre de 2017. D) 15 de mayo de 2018.



En el campo Agua Nueva la relación VM, indicó un patrón espacial en manchones, ya que en los tres censos realizados el valor VM resultó significativamente mayor que 1 (Cuadro 5). En la Figura 5A se observa también que el patrón espacial de la marchitez del agave en el predio Agua Nueva fue en agregados, con focos de infección bien definidos, los cuales aumentaron en número y en tamaño en los censos de noviembre y mayo de 2018 (Figuras 5B y 5C).

En las localidades Potrero Viejo 1 y Potrero Viejo 2, del municipio de Magdalena, la marchitez del agave mostró un patrón espacial uniforme en los cuatro censos realizados, ya que la relación VM resultó significativamente menor a 1 (Cuadro 5). En el predio Potrero Viejo 1 el nivel de severidad 1 ocurrió de manera uniforme en toda la plantación, mientras que la severidad 2 se encuentra en sitios bien localizados en los extremos laterales de la plantación (Figura 6A). Durante el segundo censo, muchas de las plantas categorizadas previamente como marchitas con severidad 1, no mostraron síntomas de marchitez, por lo que fueron etiquetadas como plantas sanas (nivel de severidad 0), lo que derivó en una disminución en la uniformidad del patrón de dispersión y la ocurrencia de focos bien definidos y localizados de plantas con marchitez severidad 2 de marchitez (Figura 6B). En el tercer censo, los focos de la enfermedad con nivel de severidad 2 crecieron en número y en tamaño (Figura 6C). En el cuarto censo, se apreció cómo la distribución general de la marchitez tendió hacia el estado de mayor uniformidad y el grado de daño avanzó drásticamente del nivel de severidad 1 al nivel 2 (Figura 6D).

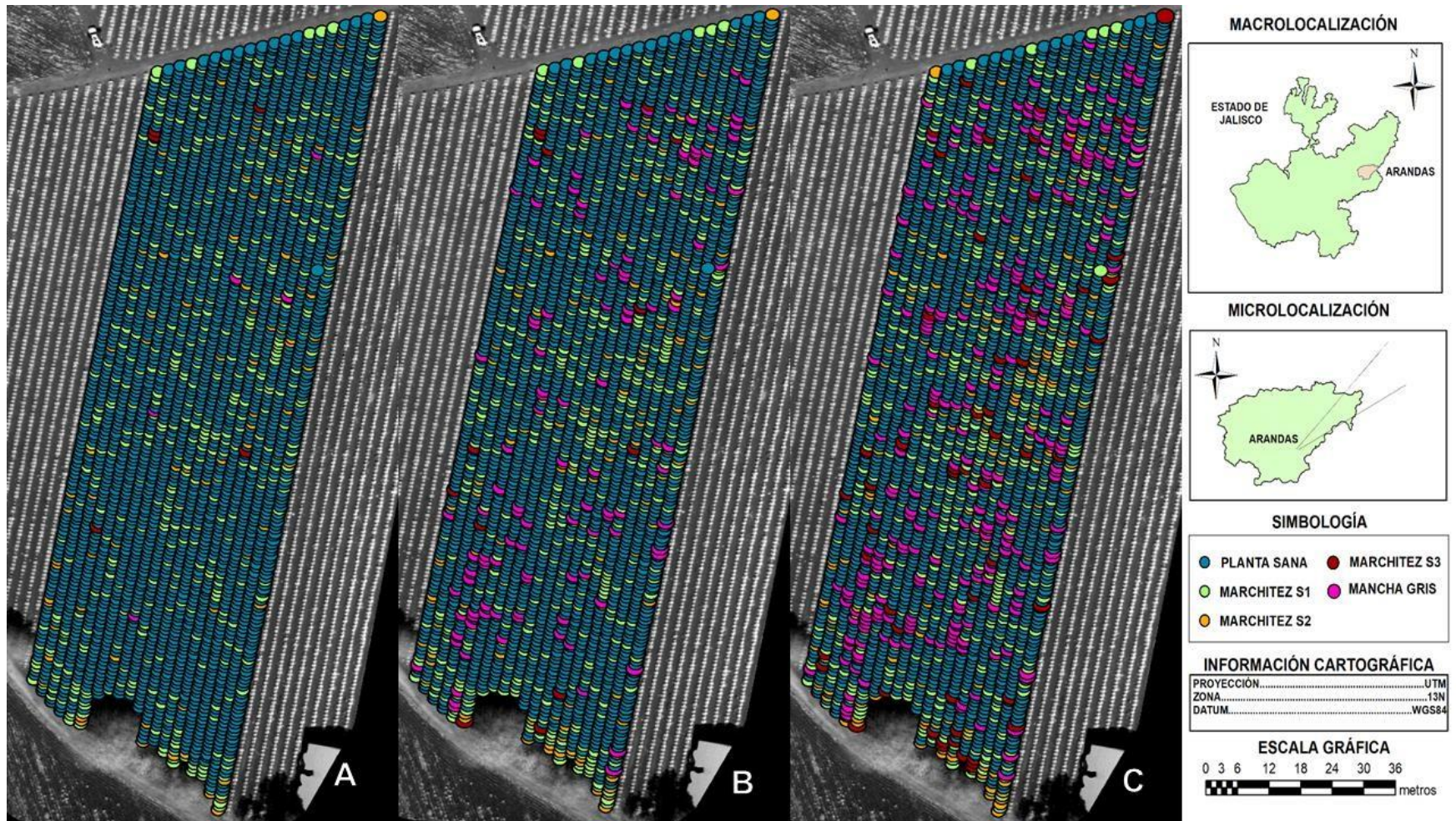


Figura 5. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante 279 días evaluación en el campo Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México. A) 10 de agosto de 2017. B) 23 de noviembre de 2017. C) 15 de mayo de 2018.



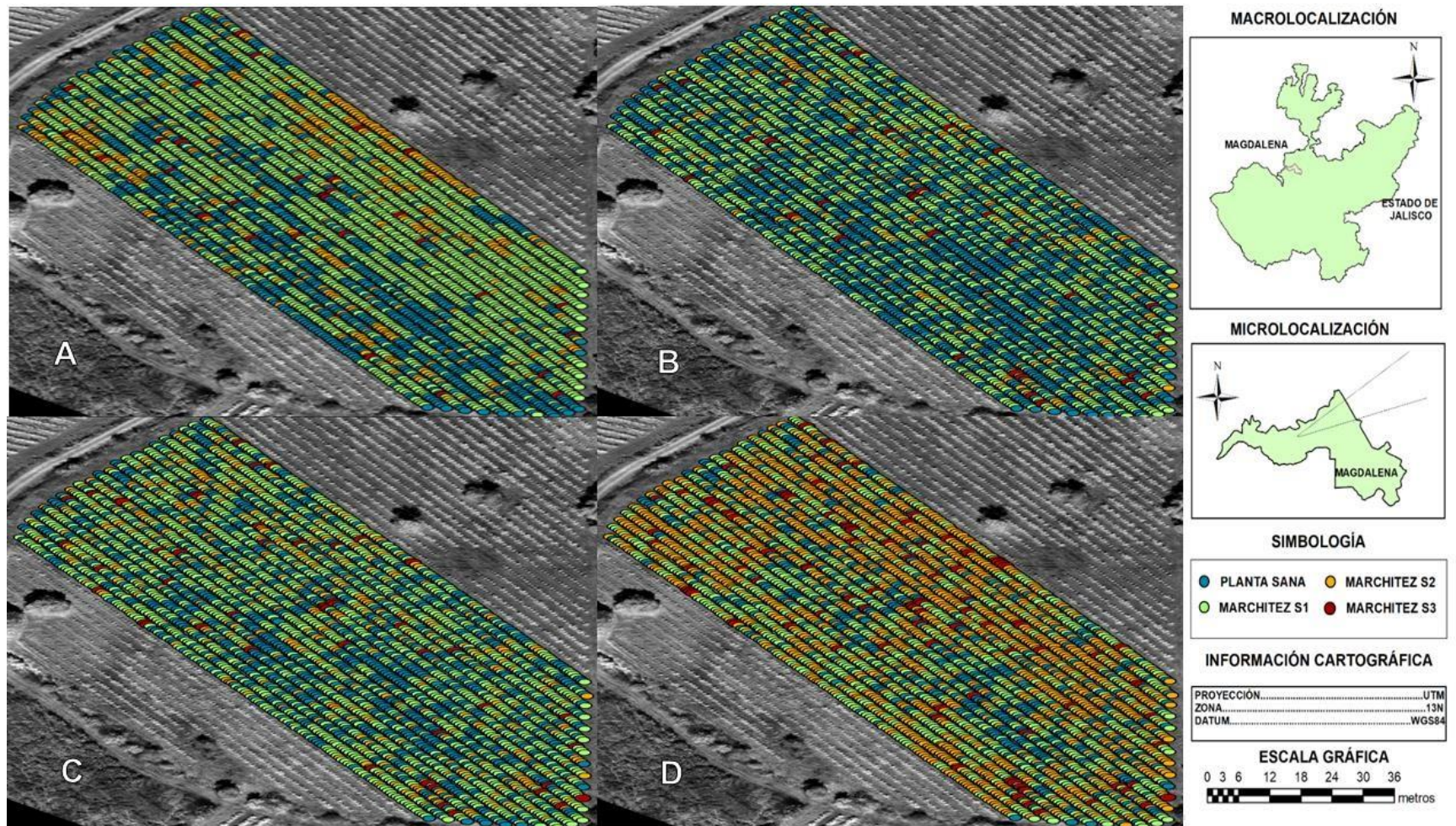


Figura 6. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante 362 días evaluación en el campo Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México. A) 21 de mayo de 2017. B) 8 de agosto de 2017. C) 25 de noviembre de 2017. D) 17 de mayo de 2018.

En la plantación Potrero Viejo 2, el nivel de severidad 1 se distribuyó uniformemente en toda la plantación, con agregados de plantas con los niveles de severidad 2 y 3 (Figura 7A). En el segundo censo, la severidad 1 tendió a ser más uniformemente distribuida y los agregados de plantas con severidad 2 y 3 aumentaron en número y en tamaño (Figura 7B). En el tercer censo, la distribución espacial de la marchitez del agave tendió hacia una mayor uniformidad y severidad donde predominó el nivel 2 (Figura 7C).

#### **1.4.2. Cambios espacio-temporales en la marchitez del agave.**

##### **1.4.2.1. Predio El Estribo**

En el Cuadro 6 se reportan los porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave azul evaluadas en esta localidad. Durante el censo realizado el 15 de mayo de 2017, 21.6 % (493) del total de plantas mostró algún síntoma de marchitez. Se observaron incrementos graduales en la severidad 1, del 13.5% hasta 40.3% en censos subsecuentes después de un año de evaluación. Los porcentajes de plantas con severidad 2 tuvieron una tendencia creciente a través del tiempo; pasaron de 5.9 a 17.1 % durante los 361 días de evaluación. El porcentaje de plantas con severidad 3, no varió drásticamente entre censos; tuvo un ligero crecimiento de 2.2 a 2.7 % en todo el período considerado. En la Figura 8 se muestran gráficamente los cambios en los porcentajes de plantas marchitas con los diferentes niveles de severidad considerados. Es evidente un patrón creciente en los porcentajes de plantas con severidad 1 y 2 a través del tiempo, y un patrón casi constante en la proporción de plantas con severidad 3.



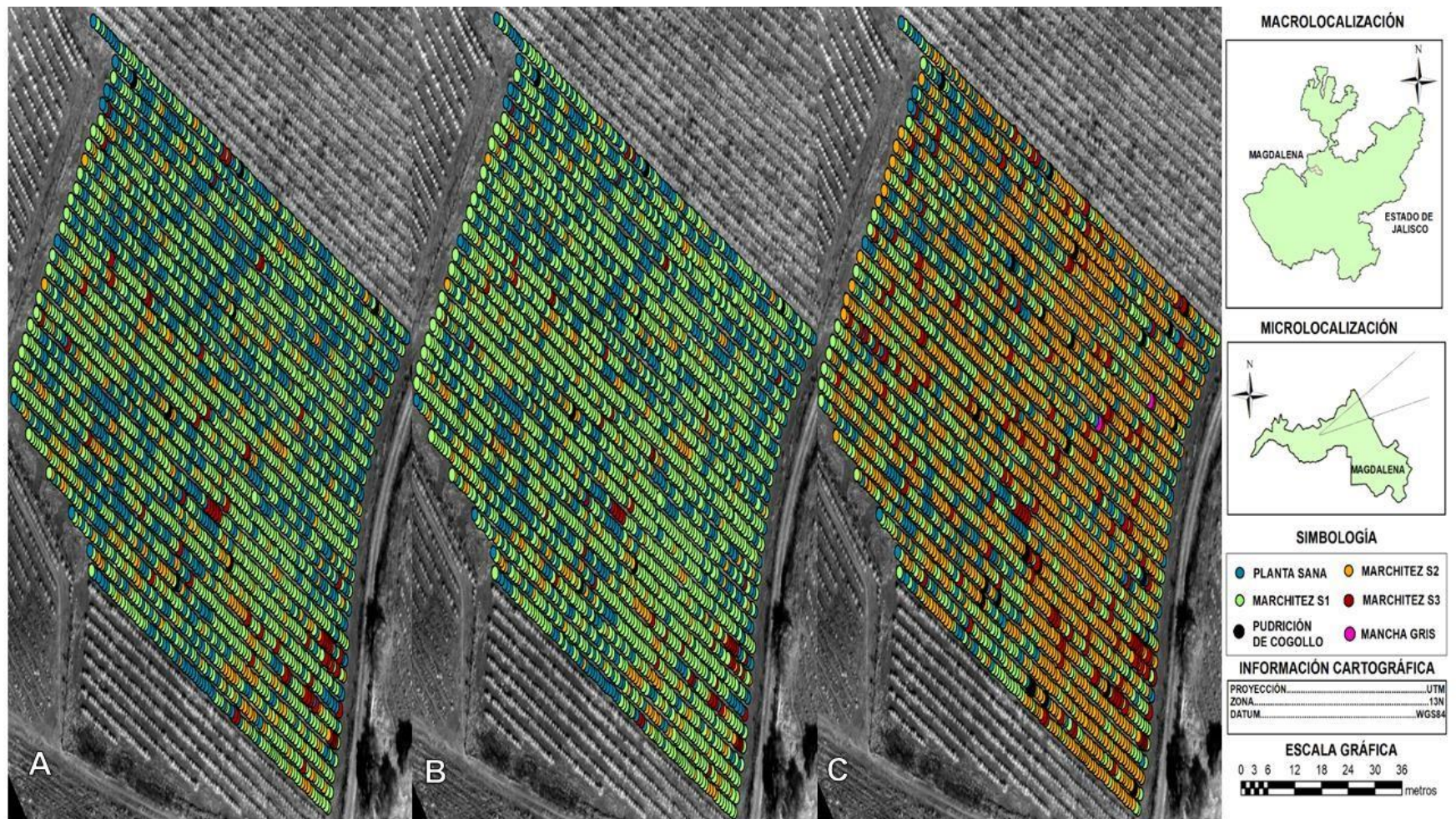


Figura 7. Ubicación geográfica y sanidad de las plantas durante 283 días evaluación en el campo Potrero Viejo 2 del municipio de Magdalena, Jalisco, México. A) 7 de agosto de 2017. B) 26 de noviembre de 2017. C) 16 de mayo de 2018.

Cuadro 6. Totales y porcentajes<sup>&</sup> de plantas sanas y enfermas de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) en diferentes censos realizados en el predio El Estribo, del municipio de Arandas, Jalisco, México.

	9/05/2017	10/08/2017	22/11/2017	15/05/2018
Plantas Sanas	1759 (77.2)	1301 (57.1)	1203 (52.8)	845 (37.1)
Marchitez Severidad 1	308 (13.5)	619 (27.2)	685 (30.1)	919 (40.3)
Marchitez Severidad 2	134 (5.9)	276 (12.1)	298 (13.1)	390 (17.1)
Marchitez Severidad 3*	51 (2.2)	52 (2.3)	54 (2.4)	62 (2.7)
Pudrición de cogollo**	7 (0.3)	8 (0.34)	8 (0.4)	10 (0.4)
Mancha gris***	20 (0.9)	23 (1.0)	31 (1.4)	53 (2.3)
TOTAL	2279	2279	2279	2279

<sup>&</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

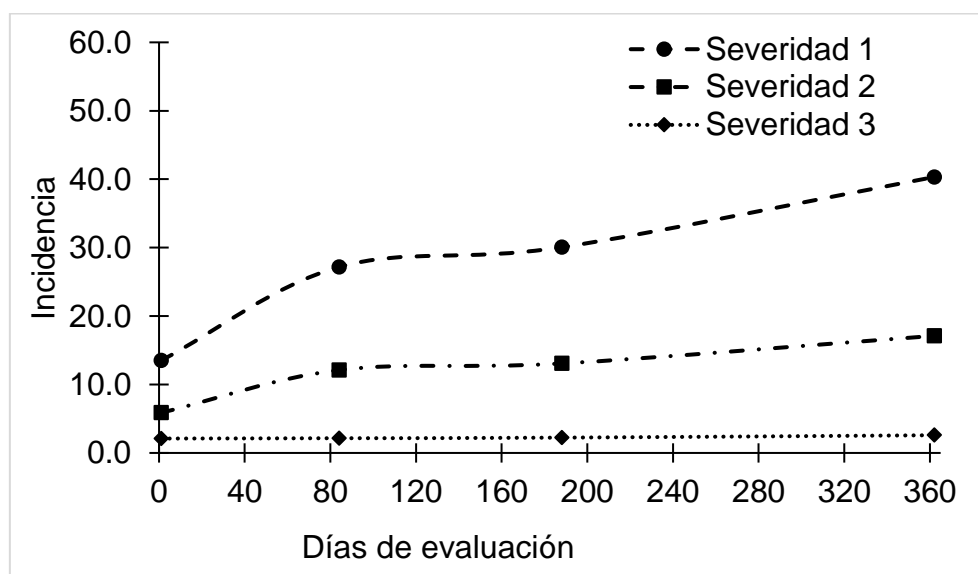


Figura 8. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez (*Fusarium oxysporum*) del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio El Estribo, municipio de Arandas, Jalisco, México.

En los Cuadros 7 a 9 se reportan las transiciones en los diferentes niveles de marchitez entre los censos primero y segundo, segundo a tercero y tercero a cuarto. En el Cuadro 9 se reportan los cambios globales ocurridos entre el primero y cuarto censo (intervalo de 362 días). En diagrama de la Figura 9 se reporta la dinámica de cambios durante todo el proceso de evaluación. Las transiciones en la severidad entre el primer censo y el segundo no fueron completamente unidireccionales, es decir, no todas las plantas con un nivel de severidad determinado avanzaron al siguiente nivel; un porcentaje importante se mantuvo en el mismo nivel de severidad y en algunos casos se observó remisión de síntomas al nivel inmediato inferior. Entre el primer censo y el segundo (intervalo de 84 d), de las 1759 plantas sin síntomas iniciales de enfermedad, sólo 73% se mantuvo aparentemente sano; 25 % cambió al nivel 1 de marchitez y 2% cambio a marchitez nivel 2. De las 309 plantas con marchitez inicial nivel 1, cuarenta y cuatro por ciento se mantuvo sin cambios, mientras que 48 % avanzó al nivel 2 de severidad, pero 8 % de las plantas tuvieron remisión de síntomas y se observaron aparentemente sanas. En el caso de las plantas con marchitez nivel 2, sólo 3% cambió a la severidad 3; sesenta y nueve por ciento no mostró cambios, pero 28 % mostró remisión de síntomas hacia la severidad nivel 1. De las 51 plantas inicialmente categorizadas con severidad 3, seis por ciento tuvo remisión de síntomas hacia la severidad 2, mientras que el resto permaneció sin cambios. En los censos subsecuentes no se observó este comportamiento, las transiciones hacia el siguiente nivel de severidad fueron progresivas.

Cuadro 7. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 19 de mayo de 2017 (filas) y el censo del 10 de agosto de 2017 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	1277 (56.03)	447 (19.61)	33 (1.45)	0	0	2 (0.09)	1759 (77.2)
Marchitez severidad 1	24 (1.05)	135 (5.92)	148 (6.49)	0	1 (0.04)	0	309 (13.5)
Marchitez severidad 2	0	37 (1.6)	92 (4.04)	4 (0.18)	0	1 (0.04)	133 (5.9)
Marchitez severidad 3	0	0	3 (0.13)	48 (2.11)	0	0	51 (2.2)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	7 (0.31)	0	7 (0.3)
Mancha gris	0	0	0	0	0	20 (0.88)	20 (0.9)
TOTAL	1301 (57.1)	619 (27.2)	276 (12.1)	52 (2.3)	8 (0.4)	23 (1.0)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.



Cuadro 8. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 10 de agosto de 2017 (filas) y el censo del 22 de noviembre de 2017 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	1203 (52.79)	92 (4.04)	0	0	0	6 (0.26)	1301 (57.1)
Marchitez severidad 1	0	593 (26.02)	25 (1.10)	0	0	1 (0.04)	619 (27.2)
Marchitez severidad 2	0	0	273 (11.98)	2 (0.09)	0	1 (0.04)	276 (12.1)
Marchitez severidad 3	0	0	0	52 (2.28)	0	0	52 (2.3)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	8 (0.35)	0	8 (0.4)
Mancha gris	0	0	0	0	0	23 (1.01)	23 (1.0)
TOTAL	1203 (52.8)	685 (30.1)	298 (13.1)	54 (2.4)	8 (0.4)	31 (1.4)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

Cuadro 9. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 22 de noviembre de 2017 (filas) y el censo del 15 de mayo de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	845 (37.08)	338 (14.83)	3 (0.13)	0	1 (0.04)	16 (0.70)	1203 (52.8)
Marchitez severidad 1	0	581 (25.49)	100 (4.39)	0	0	4 (0.18)	685 (30.1)
Marchitez severidad 2	0	0	287 (12.59)	8 (0.35)	1 (0.04)	2 (0.09)	298 (13.1)
Marchitez severidad 3	0	0	0	54 (2.37)	0	0	54 (2.4)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	8 (0.35)	0	8 (0.4)
Mancha gris	0	0	0	0	0	31	31 (1.4)
TOTAL	845 (37.1)	919 (40.3)	390 (17.1)	62 (2.7)	10 (0.4)	53 (2.3)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

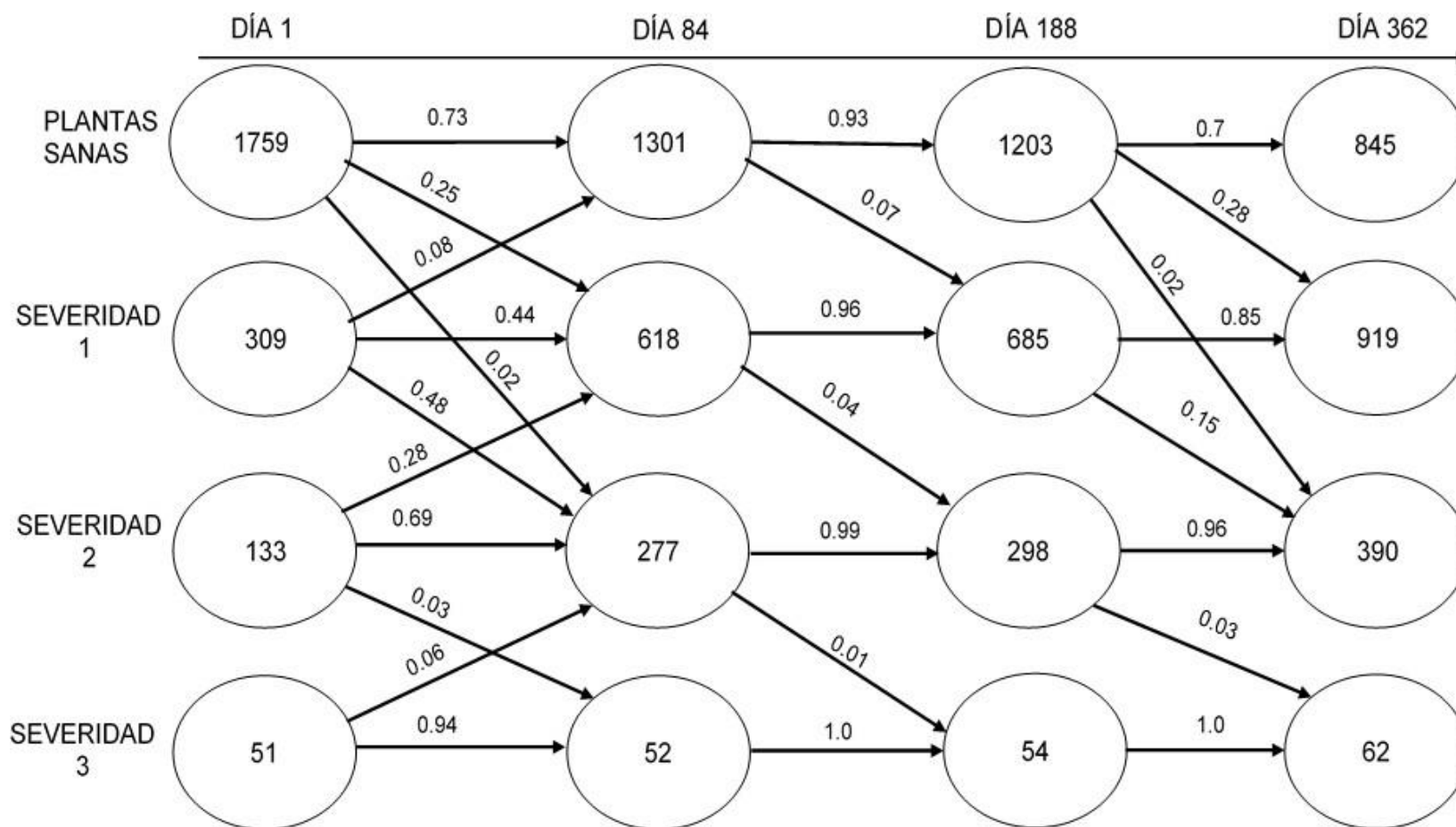


Figura 9. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) durante 362 días de evaluación (19 de mayo de 2017 a 15 de mayo de 2018) en el predio El Estribo, del municipio de Arandas, Jalisco, México. Las diferencias en las sumas de los porcentajes con respecto al valor de 1 se deben al ataque de pudrición del cogollo (*Pectobacterium carotovorum*) y mancha gris (*Cercospora agavicola*), cuya incidencia no es contabilizada en este diagrama.

En el Cuadro 10 y en la Figura 10 se muestra la transición a plantas con marchitez nivel 3, desde las categorías sana y severidad 2. Ninguna planta inicialmente categorizada con severidad 1 cambió a nivel 3 después de los 361 d de evaluación. Únicamente tres de las 1759 plantas aparentemente sanas inicialmente, alcanzaron la marchitez nivel 3, (0.0017 plantas con severidad 3 / planta sana \* año), bajo la asunción de que este comportamiento es lineal, se prevé en un posible incremento de 1.44 plantas nuevas con severidad 3 al cabo de un año. Nueve de las 133 plantas con severidad nivel 2 cambiaron a marchitez nivel 3 (0.068 plantas con severidad 3/ planta con severidad 2 \* año). Esto representa la posible adición un total de 26 plantas con severidad 3 al término del siguiente ciclo agrícola. La tasa de incremento global de plantas que alcanzaron la severidad 3 de marchitez fue de 0.0056 plantas severidad 3/ planta no nivel 3 \* año. Suponiendo que este comportamiento se mantenga a través del tiempo, la proyección para el ciclo 2019 indica que habrá 28 nuevas plantas que alcancen el nivel de severidad 3. No obstante lo anterior, los cambios hacia niveles intermedios de severidad fueron espacial y temporalmente más drásticos. Como puede observarse en el Cuadro 10 y Figura 11, al final de la última evaluación, 100 (4.4 %) plantas del grupo inicialmente sano (1759) alcanzaron la severidad nivel 2 (0.057 plantas severidad 2/ planta sana \* año), con un estimado de 48 nuevas plantas severidad 2 para 2019. De las 309 plantas con severidad inicial nivel 1, 186 alcanzaron el nivel 2 de marchitez (0.607 plantas severidad 2 / planta severidad 1 \* año), con un estimado de 553 nuevas plantas con severidad 2 para 2019. La tasa global de incremento hacia el nivel 2 fue de 0.162 plantas severidad 2 / planta severidad 0 ó 1 \* año.

Cuadro 10. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidad de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 19 de mayo de 2017 (filas) y el censo del 15 de mayo de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	838 (36.77)	790 (34.66)	100 (4.39)	3 (0.13)	1 (0.04)	27 (1.18)	1759 (77.2)
Marchitez severidad 1	7 (0.31)	108 (4.74)	186 (8.16)	0	2 (0.22)	5 (0.22)	309 (13.5)
Marchitez severidad 2	0	21 (0.92)	103 (4.52)	9 (0.39)	0	1 (0.04)	133 (5.9)
Marchitez severidad 3	0	0	1 (0.04)	50 (2.19)	0	0	51 (2.2)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	7 (0.31)	0	7 (0.3)
Mancha gris	0	0	0	0	0	20 (0.88)	20 (0.9)
TOTAL	845 (37.1)	919 (40.3)	390 (17.1)	62 (2.7)	10 (0.4)	53 (2.3)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

La pudrición del cogollo (*P. carotovorum*) tuvo una tasa global de incremento de 0.0014 nuevas plantas enfermas / planta sin esta enfermedad \* año (15 plantas enfermas nuevas para 2019). Se observó además que sólo las plantas sanas o con severidad 1 de marchitez llegaron a mostrar síntomas de esta enfermedad. La mancha gris (*C. agavicola*) incrementó con una tasa global de 0.017 plantas enfermas/ planta sin esta enfermedad \* año (con lo que se estiman 101 nuevas plantas enfermas para 2019). En este caso se observó que plantas sanas o con severidad 1 y 2 de marchitez pueden llegar a presentar síntomas de mancha gris (*C. agavicola*).

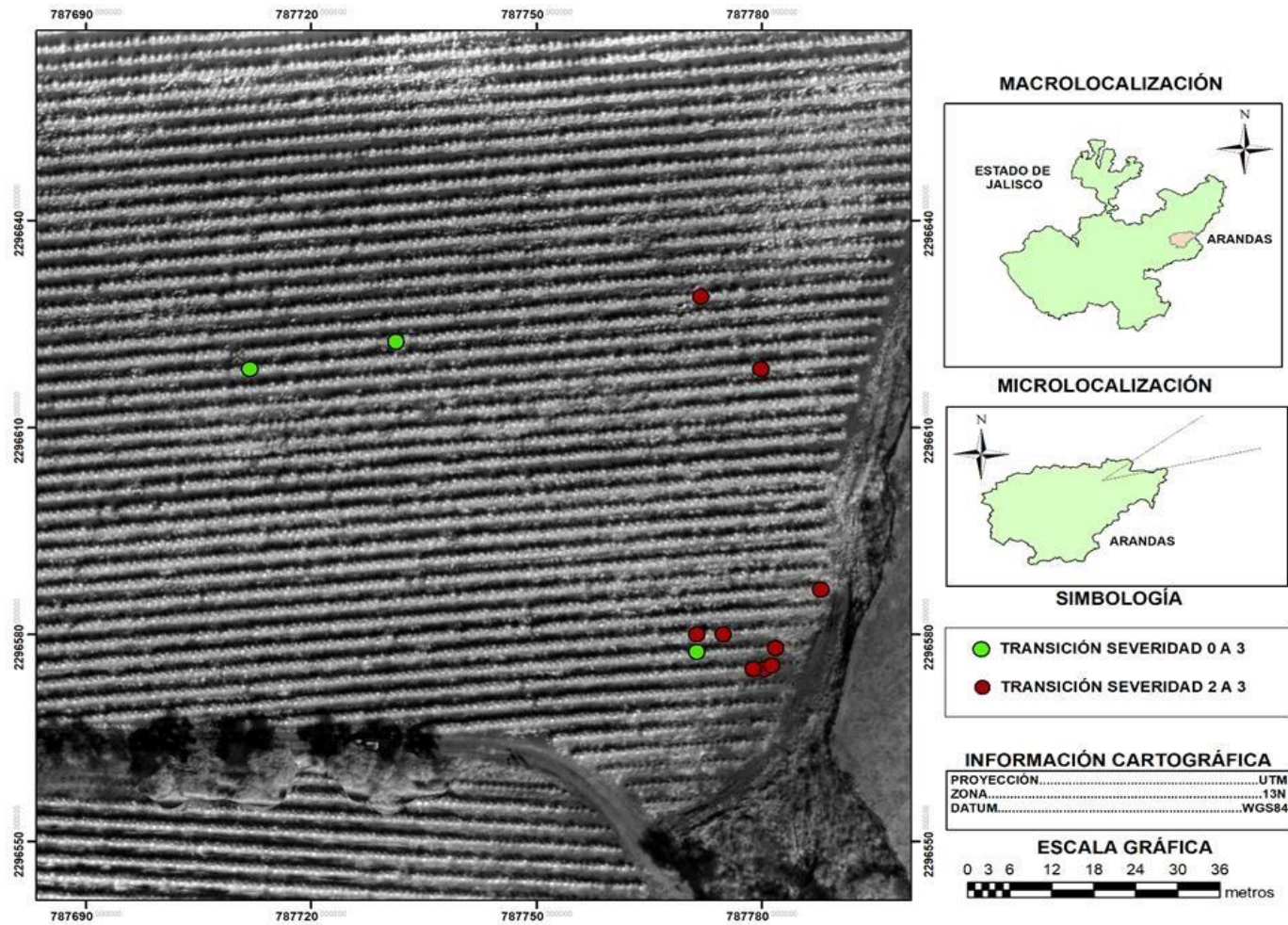


Figura 10. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la severidad de la marchitez severidad 3 (periodo de evaluación: 19 de mayo de 2017 al 15 de mayo de 2018) en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México.



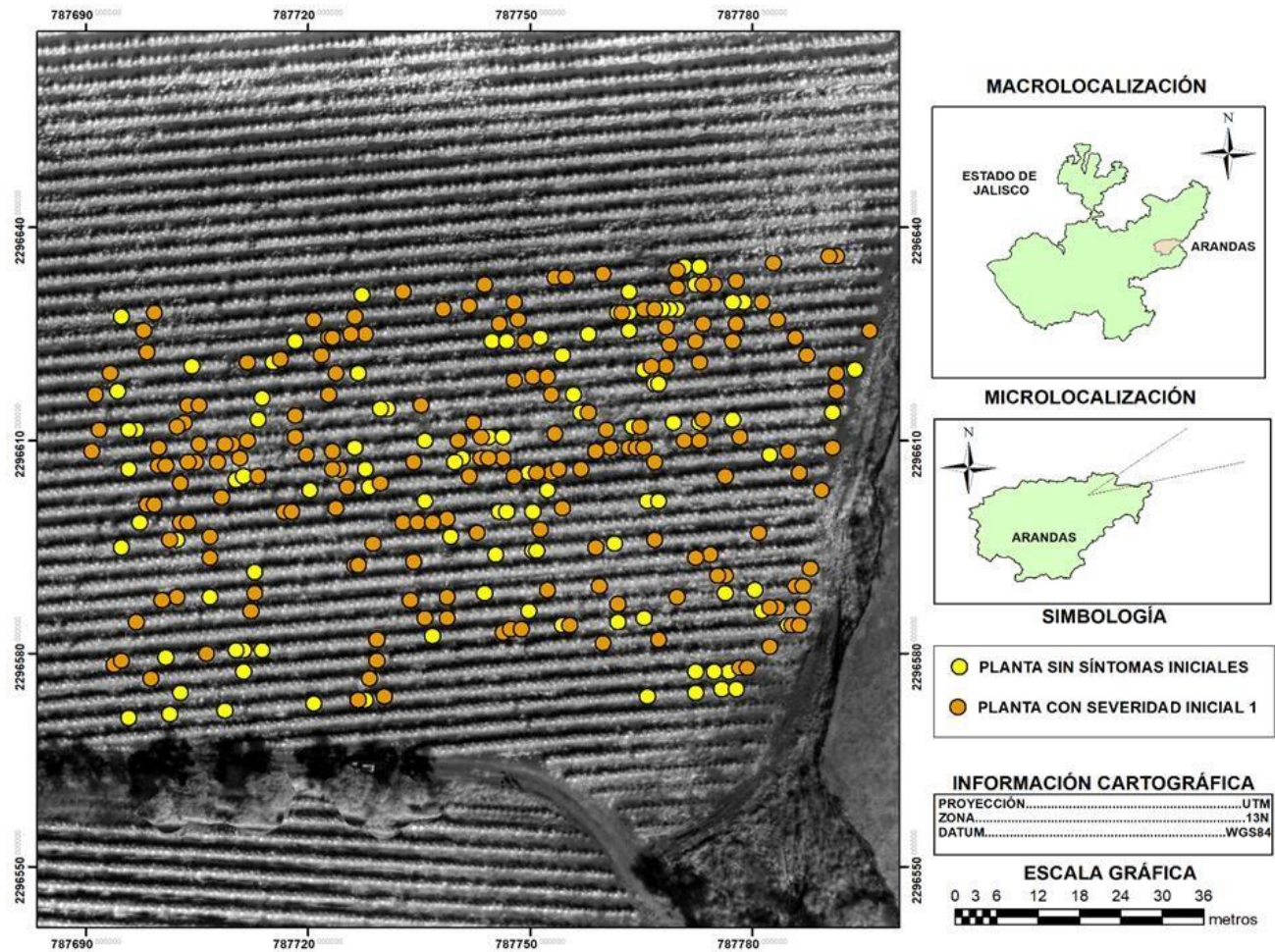


Figura 11. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la severidad de la marchitez severidad 2 (periodo de evaluación: 19 de mayo de 2017 al 15 de mayo de 2018) en el predio El Estribo del municipio de Arandas, Jalisco, México.

### 1.4.2.2. Predio Agua nueva

En el Cuadro 11 se reportan los totales y porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave azul en esta plantación. Durante el periodo de evaluación, la severidad dominante fue el nivel 1, el cual se incrementó del 12.9 al 16.3 % (de 486 a 616 plantas) en 279 días. Los porcentajes de plantas con severidad 2 también tuvieron una tendencia creciente a través del tiempo; el número de estas plantas casi se duplicó al pasar de 2.7 a 5.1% (de 101 a 194 plantas). Por otro lado, el porcentaje de plantas con severidad 3, no tuvo variaciones considerables entre el primero y segundo censo ya que se dio un aumento de 0.1 a 2.0 % (de 5 a 76 plantas) en el tiempo de estudio. En la Figura 12 se reportan gráficamente los porcentajes globales de plantas marchitas en los diferentes niveles de severidad considerados. Es evidente un patrón creciente a través del tiempo en las proporciones de plantas con cada uno de estos niveles de enfermedad.

Cuadro 11. Totales y porcentajes<sup>&</sup> de plantas sanas y enfermas de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) en diferentes censos realizados en el predio Agua Nueva, del municipio de Arandas, Jalisco, México.

	11/08/2017	23/11/2017	15/05/2018
Plantas Sanas	3173 (84.2)	2944 (78.1)	2624 (69.6)
Marchitez Severidad 1	486 (12.9)	555 (14.7)	616 (16.3)
Marchitez Severidad 2	101 (2.7)	144 (3.8)	194 (5.1)
Marchitez Severidad 3*	5 (0.1)	14 (0.4)	76 (2.0)
Mancha gris**	5 (0.1)	113 (3.0)	260 (6.9)
TOTAL	3770	3770	3770

<sup>&</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.



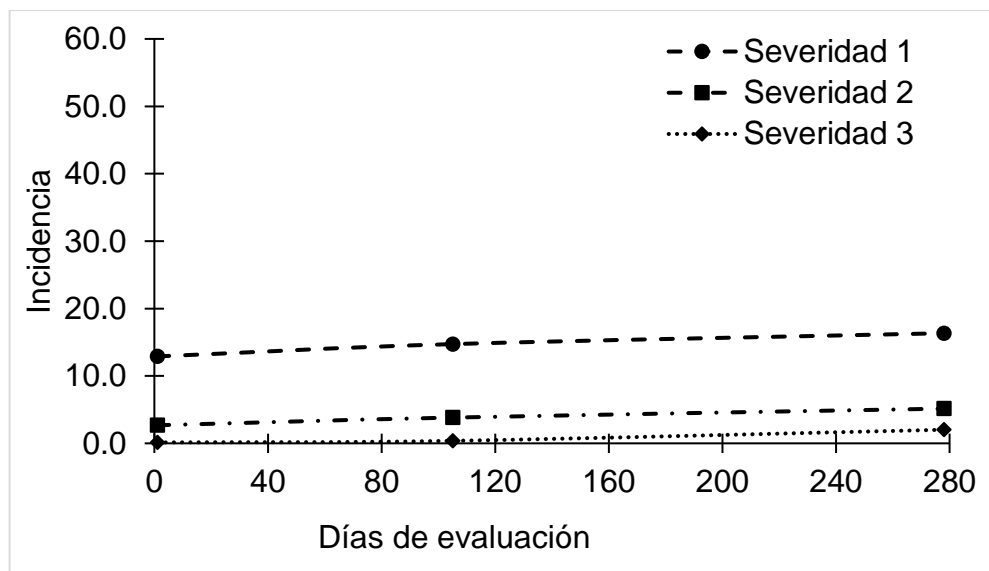


Figura 12. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Agua Nueva, municipio de Arandas, Jalisco, México.

En los Cuadros 12 y 13 se reportan las transiciones entre los diferentes niveles de marchitez entre el primer y segundo censo (intervalo de 105 d) y entre el segundo y tercero (intervalo de 174 d), respectivamente. En el Cuadro 14 se reportan los cambios globales entre el primer censo y el último (intervalo de 279 días). En el diagrama de la Figura 13 se reporta la dinámica de cambios durante todo el proceso de evaluación. Entre el primer censo y el segundo, 93% de las 3173 plantas inicialmente sin síntomas de enfermedad, se mantuvo aparentemente sano; 4 % avanzó hacia la severidad 1 de marchitez y 0.3% cambió a marchitez nivel 2. De las 486 plantas categorizadas inicialmente con marchitez nivel 1, el 90% se mantuvo en este nivel, solamente el 8% alcanzó el nivel 2 de severidad, mientras que 0.8% de las plantas evaluadas alcanzaron la severidad 3. En el caso de las plantas inicialmente evaluadas con marchitez nivel 2, sólo 5% cambió a la severidad 3 y 95% no mostró

cambios en el nivel de severidad. Finalmente, De las 5 plantas inicialmente categorizadas con severidad 3, el 100% permaneció sin cambios. Al analizar las transiciones entre el segundo y tercer censo, se observó que el 89% de las plantas sin síntomas de marchitez se mantuvieron sanas, únicamente el 6% cambió hacia la severidad 1. De las 555 plantas con severidad 1, el 77% no tuvo cambios en el nivel de severidad, 15% de ellas cambió a severidad 2 y 3% avanzó a la severidad 3. El 67% de las 144 plantas de la severidad 2 permanecieron en este nivel, mientras que 32% de estas avanzaron hacia la severidad 3.

Cuadro 12. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 11 de agosto de 2017 (filas) y el censo del 23 de noviembre de 2017 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	2944 (78.09)	120 (3.18)	10 (0.27)	0	99 (2.63)	3173 (84.2)
Marchitez severidad 1	0	435 (11.54)	38 (1.01)	4 (0.11)	9 (0.24)	486 (12.9)
Marchitez severidad 2	0	0	96 (2.55)	5 (0.13)	0	101 (2.7)
Marchitez severidad 3	0	0	0	5 (0.13)	0	5 (0.1)
Mancha gris	0	0	0	0	5 (0.13)	5 (0.1)
TOTAL	2944 (78.1)	555 (14.7)	144 (3.8)	14 (0.4)	113 (3.0)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

Cuadro 13. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 23 de noviembre de 2017 (filas) y el 15 de mayo de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	2624 (69.60)	186 (4.93)	12 (0.32)	0	122 (3.24)	2944 (78.1)
Marchitez severidad 1	0	430 (11.41)	86 (2.28)	17 (0.45)	22 (0.58)	555 (14.7)
Marchitez severidad 2	0	0	96 (2.55)	46 (1.22)	2 (0.05)	144 (3.8)
Marchitez severidad 3	0	0	0	13 (0.34)	1 (0.03)	14 (0.4)
Mancha gris	0	0	0	0	113 (3.00)	113 (3.0)
TOTAL	2624 (69.6)	616 (16.3)	194 (5.1)	76 (2.0)	260 (6.9)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

Cuadro 14. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 11 de agosto de 2017 (filas) y el 15 de mayo de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	2624 (69.60)	251 (6.66)	56 (1.49)	17 (0.45)	225 (5.97)	3173 (84.2)
Marchitez severidad 1	0	365 (9.68)	68 (1.80)	25 (0.66)	28 (0.74)	486 (12.9)
Marchitez severidad 2	0	0	70 (1.86)	30 (0.80)	1 (0.03)	101 (2.7)
Marchitez severidad 3	0	0	0	4 (0.11)	1 (0.03)	5 (0.1)
Mancha gris	0	0	0	0	5 (0.13)	5 (0.1)
TOTAL	2624 (69.6)	616 (16.3)	194 (5.1)	76 (2.0)	260 (6.9)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

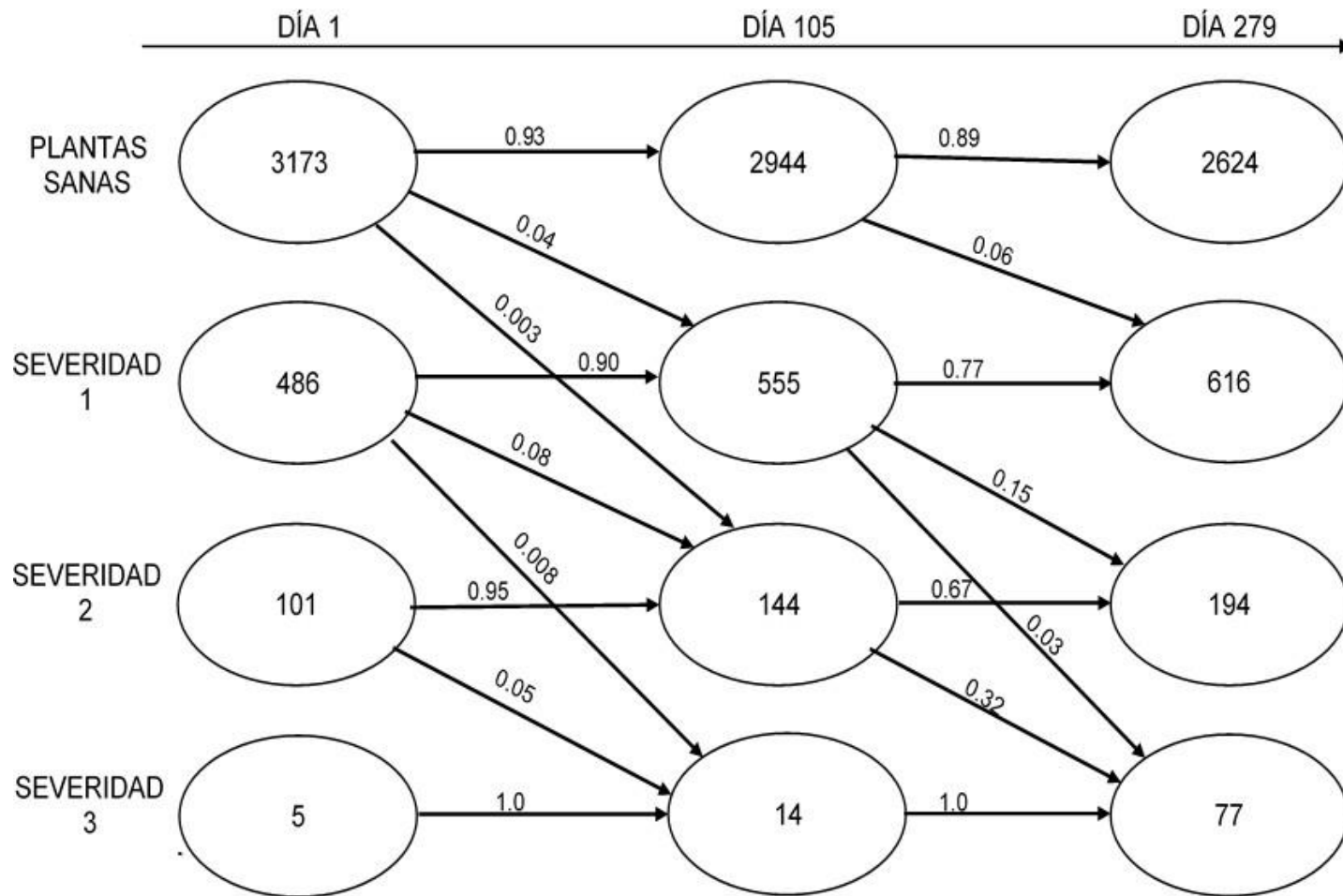


Figura 13. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) durante 279 días de evaluación (11 de agosto de 2017 al 15 de mayo de 2018) en el predio Agua nueva, del municipio de Arandas, Jalisco, México. Las diferencias en las sumas de los porcentajes con respecto al valor de 1 se deben al ataque de “mancha gris” (*Cercospora agavicola*), cuya incidencia no es contabilizada en este diagrama.

En el Cuadro 14 y en la Figura 14 se muestra la transición hacia la marchitez severidad 3, desde las categorías sana, severidad 1 y severidad 2, después de los 279 d de evaluación. Diecisiete de las 3179 plantas aparentemente sanas alcanzaron la marchitez nivel 3; bajo la asunción de un crecimiento lineal, se estiman 14 plantas enfermas nuevas para 2019 ( $0.007 \text{ plantas severidad } 3 / \text{ planta sana } \cdot \text{ año}$ ). Veinticinco de las 486 plantas con severidad 1 alcanzaron la marchitez nivel 3; se estiman 32 nuevas plantas en este nivel para 2019 ( $0.067 \text{ plantas con severidad } 3 / \text{ planta con severidad } 1 \cdot \text{ año}$ ) y 30 de las 101 plantas con nivel inicial de severidad 2 cambiaron la severidad 3, por lo que se estiman 58 nuevas plantas enfermas para 2019 ( $0.389 \text{ plantas con severidad } 3 / \text{ planta severidad } 2 \cdot \text{ año}$ ). La tasa global de incremento fue de  $0.025 \text{ plantas severidad } 3 / \text{ planta no severidad } 3 \cdot \text{ año}$ ; considerando una tendencia lineal a través del tiempo; para este caso se esperan 103 plantas nuevas que alcancen la severidad 3 para el año 2019. Como puede observarse en el Cuadro 14 y Figura 15, al final de la última evaluación, 56 de las 3173 plantas iniciales aparentemente sanas, alcanzaron la severidad nivel 2, y bajo la misma asunción de crecimiento lineal, se estiman 46 nuevas plantas enfermas 2019 ( $0.017 \text{ plantas con severidad } 2 / \text{ planta sana año}$ ). De las 486 plantas inicialmente categorizadas con nivel de severidad 1, 68 alcanzaron el nivel 2 de marchitez y se estiman 86 nuevas plantas enfermas para 2019 con este nivel de daño ( $0.14 \text{ plantas con severidad } 2 / \text{ planta con severidad } 1 \cdot \text{ año}$ ). La tasa de incremento global para la mancha gris (*C. agavicola*) fue de  $0.097 \text{ plantas enfermas} / \text{ planta sin esta enfermedad } \cdot \text{ año}$ , lo que supone que para el año 2019 habrá 520 nuevas plantas enfermas. En este caso se observó que la enfermedad afectó tanto a plantas sanas con severidad 1 y 2 de marchitez.

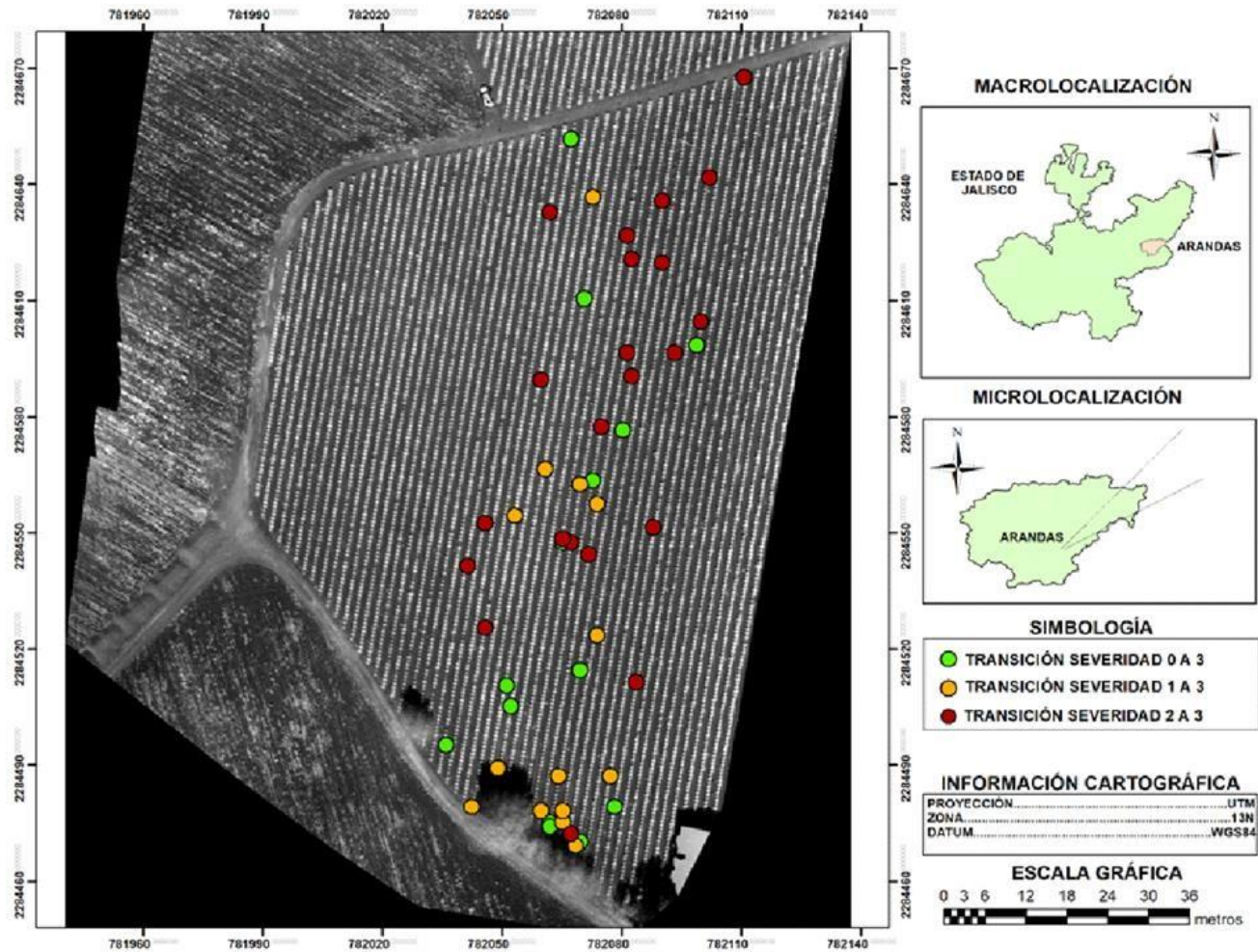


Figura 14. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 3 (periodo de evaluación: 10 de agosto de 2017 al 15 de mayo de 2018) en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México.



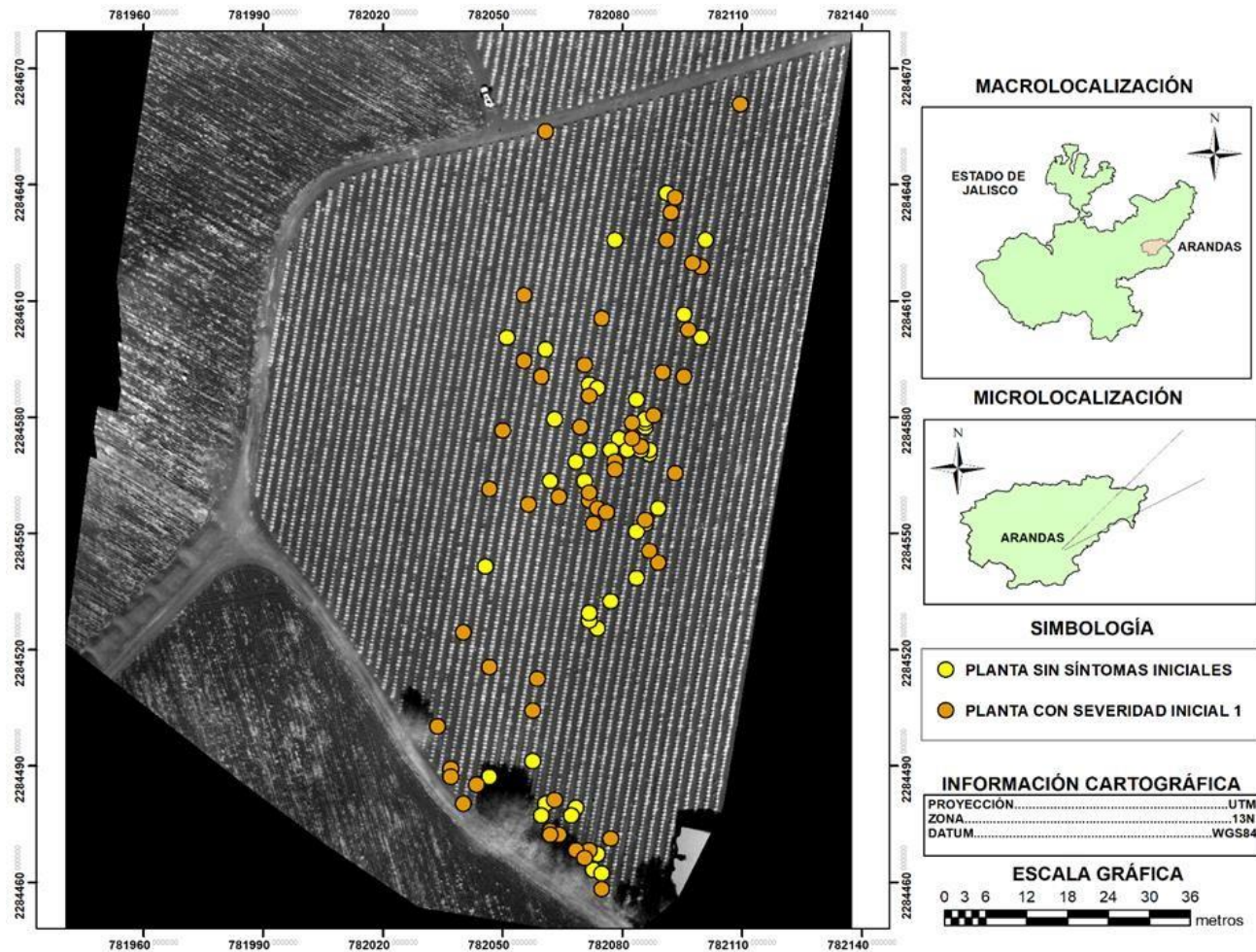


Figura 15. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 2 (periodo de evaluación: 10 de agosto de 2017 al 15 de mayo de 2018) en el predio Agua Nueva del municipio de Arandas, Jalisco, México.

### **1.4.2.3. Potrero viejo 1**

En el Cuadro 15 se reporta el inventario total y porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave azul para este predio. El nivel de enfermedad más frecuentemente encontrado en la mayoría de los censos fue la severidad 1, sin embargo, esta tuvo fluctuaciones en su incidencia. De 58.6 % (2018 plantas) se redujo a 46.3 % (1592 plantas), seguido de un incremento a 52.5% (1806 plantas) y finalmente, una disminución 35.6% (1227 plantas). Los porcentajes de plantas con severidad 2 tuvieron un comportamiento similar. Se reportó una disminución en la incidencia de este nivel al pasar de 13.8 a 7.3% (475 a 251 plantas) en un intervalo de 84 días, seguido de incrementos hasta el 12.8% (442 plantas) hasta alcanzar el 45% (1549) del total de plantas evaluadas. El porcentaje de plantas con severidad 3, no tuvo variaciones considerables ya que pasó del 0.9 al 2.7% (de 30 a 94 plantas) en el periodo de evaluación.

En Figura 16 se reportan gráficamente los porcentajes de plantas marchitas en los diferentes niveles de severidad considerados. Aunque hubo una fluctuación inicial, la tendencia general es a una reducción en la proporción de plantas con severidad 1. En el caso de la severidad 2 se observó un patrón general creciente, mientras que en la severidad 3, aunque el patrón general fue creciente, los cambios fueron pequeños a lo largo de los 362 d de evaluación.



Cuadro 15. Totales y porcentajes<sup>&</sup> de plantas de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) sanas y enfermas en diferentes censos realizados en el predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.

	21/05/2017	07/08/2017	24/11/2017	15/05/2018
Plantas Sanas	919 (26.7)	1564 (45.4)	1148 (33.4)	572 (16.6)
Marchitez Severidad 1	2018 (58.6)	1592 (46.3)	1806 (52.5)	1227 (35.6)
Marchitez Severidad 2	475 (13.8)	251 (7.3)	442 (12.8)	1549 (45.0)
Marchitez Severidad 3*	30 (0.9)	35 (1.0)	46 (1.3)	94 (2.7)
TOTAL	3442	3442	3442	3442

<sup>&</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

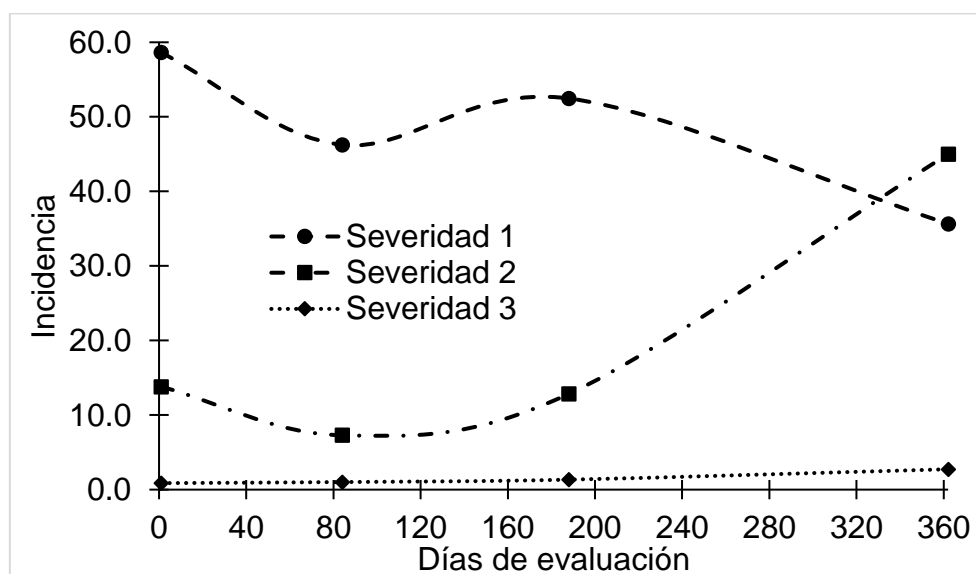


Figura 16. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero viejo 1, municipio de Magdalena, Jalisco, México.

En los Cuadros 16 a 18 se reportan las transiciones en los diferentes niveles de marchitez entre los diferentes censos, mientras que en el Cuadro 19 se reportan los cambios globales entre el primer censo y el cuarto (intervalo de 362 d).

Cuadro 16. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 21 de mayo de 2017 (filas) y el 7 de agosto de 2017 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	TOTAL
Plantas sanas	659 (19.15)	251 (7.29)	9 (0.26)	0	919 (26.7)
Marchitez severidad 1	905 (26.29)	993 (28.85)	117 (3.40)	3 (0.09)	2018 (58.6)
Marchitez severidad 2	0	348 (10.11)	121 (3.52)	6 (0.17)	475 (13.8)
Marchitez severidad 3	0	0	4 (0.12)	26 (0.76)	30 (0.9)
TOTAL	1564 (45.4)	1592 (46.3)	251 (7.3)	35 (1.0)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

Cuadro 17. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 7 de agosto de 2017 (filas) y el 24 de noviembre de 2017 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	TOTAL
Plantas sanas	1148 (33.35)	416 (12.09)	0	0	1564 (45.4)
Marchitez severidad 1	0	1390 (40.38)	201 (5.84)	1 (0.03)	1592 (46.3)
Marchitez severidad 2	0	0	241 (7.00)	10 (0.29)	251 (7.3)
Marchitez severidad 3	0	0	0	35 (1.02)	35 (1.0)
TOTAL	1148 (33.4)	1806 (52.5)	442 (12.8)	46 (1.3)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

Cuadro 18. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 24 de noviembre de 2017 (filas) el 17 de agosto de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	TOTAL
Plantas sanas	572 (16.62)	421 (12.23)	155 (4.50)	0	1148 (33.4)
Marchitez severidad 1	0	806 (23.42)	999 (29.02)	1 (0.03)	1806 (52.5)
Marchitez severidad 2	0	0	395 (11.48)	47 (1.37)	442 (12.8)
Marchitez severidad 3	0	0	0	46 (1.34)	46 (1.3)
TOTAL	572 (16.6)	1227 (35.6)	1549 (45.0)	94 (2.7)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

Cuadro 19. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del censo del 21 de mayo de 2017 (filas) el 17 de agosto de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez severidad 2	Marchitez* severidad 3	TOTAL
Plantas sanas	274 (7.96)	394 (11.45)	246 (7.15)	5 (0.15)	919 (26.7)
Marchitez severidad 1	298 (8.66)	763 (22.17)	928 (26.94)	29 (0.84)	2018 (58.6)
Marchitez severidad 2	0	70 (2.03)	373 (10.84)	32 (0.93)	475 (13.8)
Marchitez severidad 3	0	0	2 (0.06)	28 (0.81)	30 (0.9)
TOTAL	572 (16.6)	1227 (35.6)	1549 (45.0)	94 (2.7)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

En el diagrama de flujo de la Figura 17 se reporta la dinámica de transiciones durante todo el proceso de evaluación. De manera similar a lo ocurrido en el predio El

Estribo, los cambios en los diferentes niveles de la severidad entre el primero y segundo censo no fueron completamente unidireccionales. De un total de 919 plantas inicialmente sin síntomas de enfermedad, 72% se mantuvo sin síntomas de marchitez; un 27% avanzó hacia el nivel 1 de marchitez y 1% cambio a marchitez nivel 2. De las 2018 plantas categorizadas inicialmente con marchitez nivel 1, el 49% se mantuvo en este nivel, solamente 6% alcanzó el nivel 2 de severidad, mientras que 45% tuvo remisión de síntomas y se observaron aparentemente sanas. De las 475 plantas evaluadas inicialmente con severidad 2, el 25% se mantuvo en este nivel, 73% mostró remisión de síntomas hacia el nivel de severidad 1 y únicamente 1% alcanzó la severidad 3. De las 30 plantas inicialmente categorizadas con severidad 3, ochenta y siete por ciento permaneció sin cambios y 13% tuvo remisión de síntomas hacia el nivel dos. La remisión de síntomas no se observó en evaluaciones posteriores. Entre el segundo y el tercer censo (periodo de 102 d), 73% de las 1564 plantas sin síntomas de marchitez se mantuvieron en este nivel mientras que 27% tuvo transición hacia la severidad 1. De las 1592 plantas con severidad 1, el 87% mantuvo el mismo nivel de severidad, mientras que 15% de ellas avanzó a severidad 2. El 96% de las 251 plantas con severidad 2 permaneció en este nivel, mientras que 4% avanzó a la severidad 3. Entre el tercero y cuarto censo (174 d), de las 1148 aparentemente sanas. 50% permaneció sin cambios, mientras que 37% avanzó hacia la severidad 1 y 14% alcanzó el nivel de severidad 2. En el caso del nivel 1, hubo un cambio drástico ya que 55% de las plantas en este grupo cambiaron a la severidad 2, mientras que 45% permaneció sin cambios. De las 442 plantas con severidad 2, 89% permanecieron sin cambios y 11% avanzaron hacia la severidad 3. El 100% de las plantas en la severidad 3 se mantuvo sin cambios.

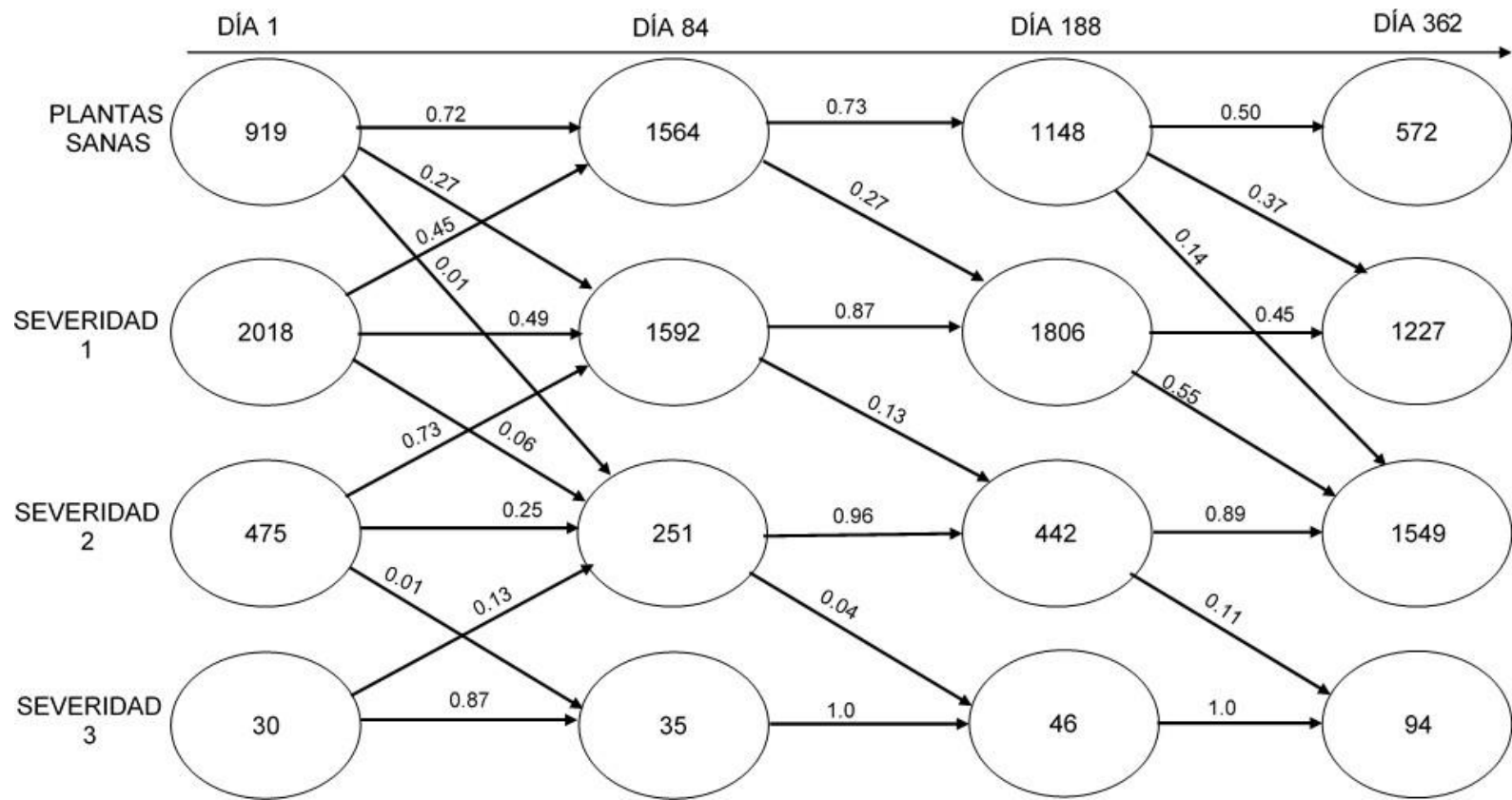


Figura 17. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) durante 362 días de evaluación (21 de mayo 2017 a 17 de mayo 2018) en el predio Potrero Viejo 1, del municipio de Magdalena, Jalisco, México.

En el Cuadro 19 y en la Figura 18 se muestra la transición de plantas hacia la marchitez nivel 3, desde las categorías sana, severidad 1 y severidad 2 después de los 362 d de evaluación. Cinco de las 919 plantas aparentemente sanas alcanzaron la marchitez nivel 3; bajo la asunción de un crecimiento lineal a través del tiempo, se estiman 3 nuevas plantas enfermas para 2019 (0.005 plantas con severidad 3 / planta sana • año). Veintinueve de las 2018 plantas con severidad 1 avanzaron hacia la severidad 3; se estiman 18 nuevas plantas enfermas estimadas para 2019 (0.014 plantas con severidad 3 / plantas con severidad 1 • año). De las 475 plantas con severidad inicial 2, treinta y dos cambiaron a la severidad 3; se estiman 104 nuevas plantas enfermas para 2019 (0.068 plantas severidad 3 / planta sana • año). Considerando plantas sanas y los niveles 1 y 2 de marchitez, la tasa global de formación de plantas con severidad 3, fue de 0.020 plantas severidad 3 / planta no severidad 3 • año. Si la tendencia fuese lineal 125 plantas alcanzarán la severidad 3 de marchitez para 2019. De manera similar a los campos de cultivo antes descritos, los cambios hacia niveles intermedios de severidad fueron espacial y temporalmente más drásticos. Como puede observarse en el Cuadro 20 y Figura 19, al final de la última evaluación, 246 de las 919 plantas iniciales aparentemente sanas, alcanzaron la severidad nivel 2, lo cual se traduce en una estimación de 153 nuevas plantas enfermas para 2019 (0.27 plantas severidad 2 / planta sana • año). De las 2018 plantas inicialmente categorizadas con nivel de severidad 1, novecientos veintiocho alcanzaron el nivel 2 de marchitez; y para el 2019 se estiman 564 nuevas plantas enfermas (0.464 plantas severidad 2 / planta severidad 1 . año). A nivel global, se observó un patrón espacial uniforme en la distribución de las nuevas plantas con severidad 2 después de los 362 d de evaluación.

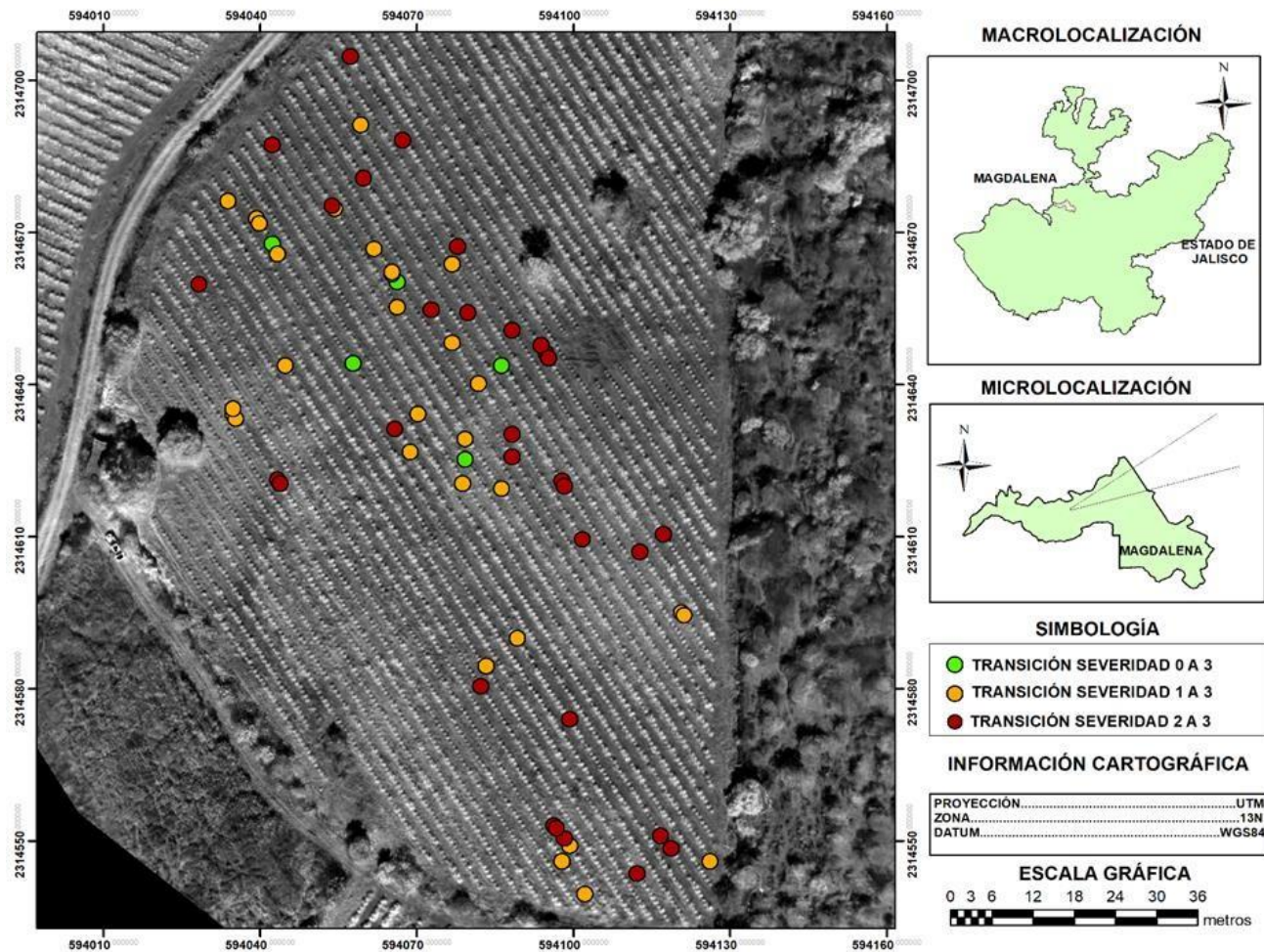


Figura 18. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 3 (periodo de evaluación: 21 de mayo de 2017 al 17 de mayo de 2018) del predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.



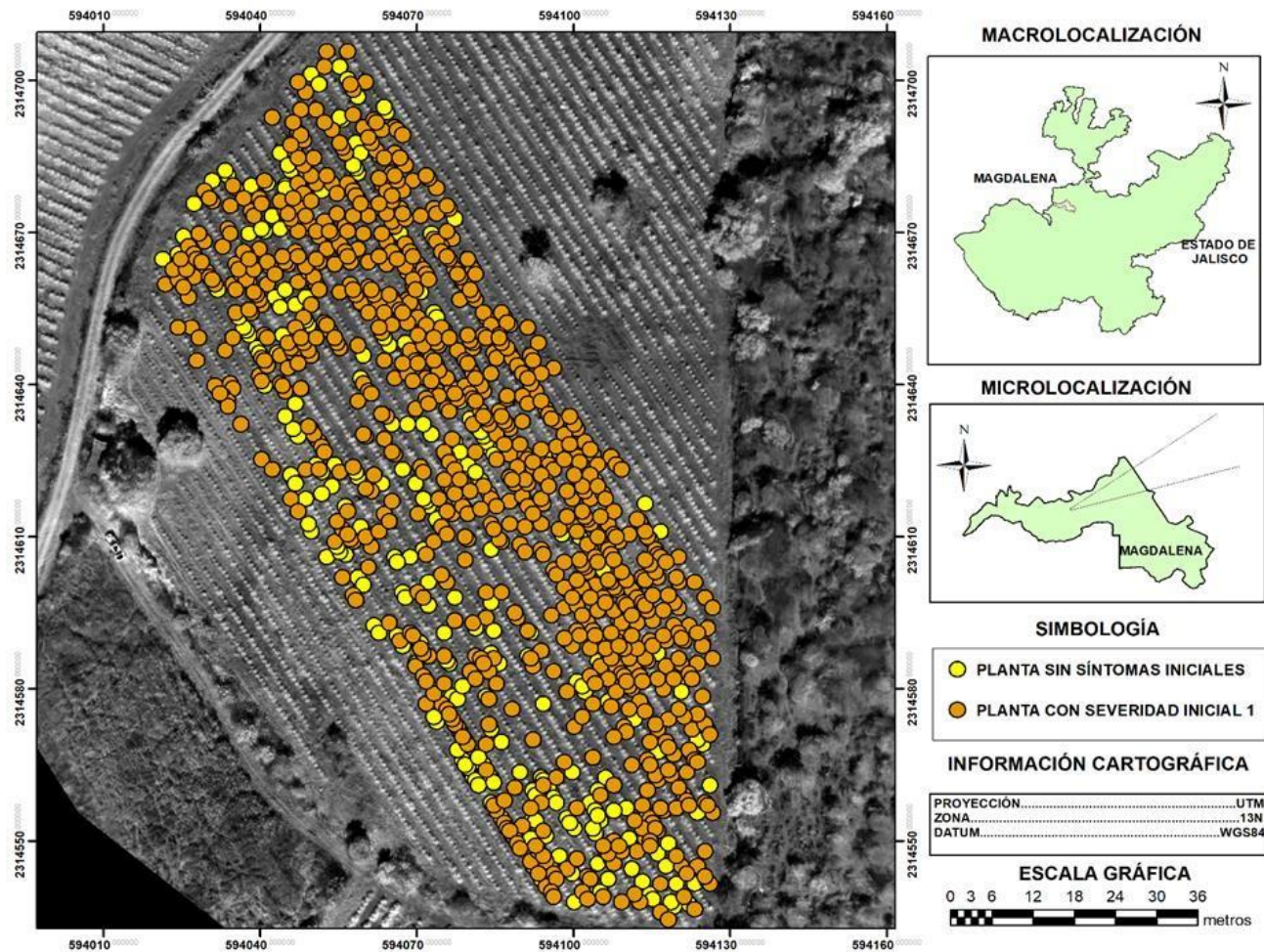


Figura 19. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 2 (periodo de evaluación: 21 de mayo de 2017 al 17 de mayo de 2018) del predio Potrero Viejo 1 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.



#### 1.4.2.4. Potrero viejo 2

En el Cuadro 20 se reporta el inventario total y porcentajes de plantas sanas y enfermas de agave azul en esta plantación. La severidad dominante durante el primer censo fue el nivel 1 (40.3%). En el censo subsecuente se observó un incremento hasta llegar a 57.7% y un decremento a 29.8% en el tercer censo, después de 284 días de evaluación. Los porcentajes de plantas con severidad 2 tuvieron una tendencia creciente a través del tiempo. Este nivel de severidad aumentó de tal manera que pasó del 4 al 50.6% durante todo el periodo de evaluación. Por su parte, el porcentaje de plantas con severidad 3, presentó un ligero incremento de 0.4% entre el primero y segundo censo ya que incrementó de 1.4 a 1.8% en los 112 días posteriores al primer censo, pero si tuvo incrementos drásticos entre el primero y el tercero, ya que la proporción de individuos creció de 1.4 a 4.0% (49 a 142 plantas) en todo el período considerado.

Cuadro 20. Totales y porcentajes<sup>&</sup> de plantas sanas y enfermas de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) en diferentes censos realizados en el predio Potrero viejo 2, del municipio de Magdalena, Jalisco, México.

	06/08/2017	25/11/2017	16/05/2018
Plantas Sanas	1921 (54.1)	1064 (30.0)	529 (14.9)
Marchitez Severidad 1	1431 (40.3)	2050 (57.7)	1059 (29.8)
Marchitez Severidad 2*	142 (4.0)	365 (10.3)	1796 (50.6)
Marchitez Severidad 3*	49 (1.4)	64 (1.8)	142 (4.0)
Pudrición del cogollo**	8 (0.2)	8 (0.2)	24 (0.7)
Mancha gris***	1 (0.03)	1 (0.03)	2 (0.1)
TOTAL	3552	3552	3552

<sup>&</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\*Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

En la Figura 20 se reportan gráficamente los porcentajes de plantas marchitas en los diferentes niveles de severidad considerados. La dinámica observada tuvo un comportamiento fluctuante, pero fue en general decreciente en la severidad 1, creciente en la severidad 2, y casi constante en la severidad 3.

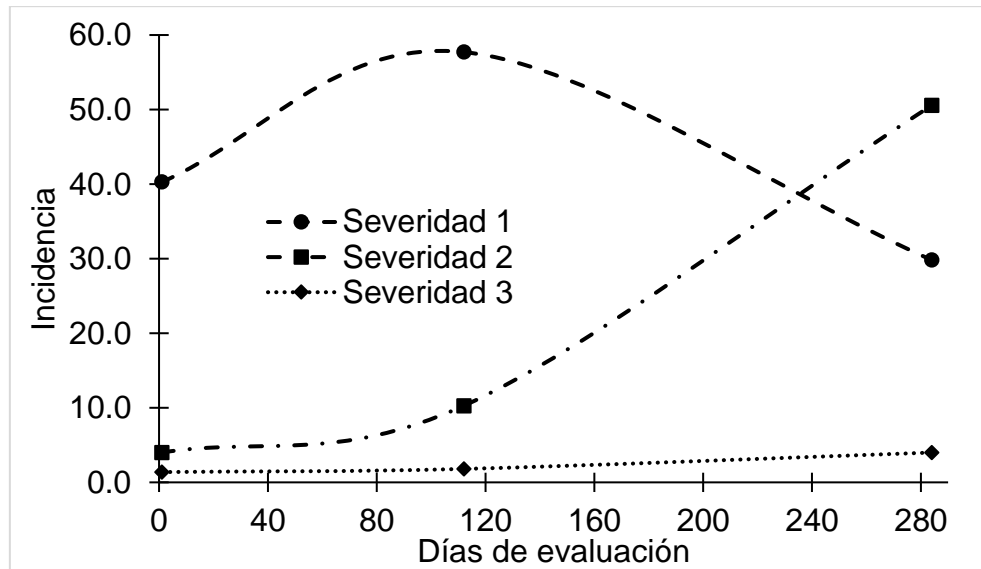


Figura 20. Dinámica temporal de los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 2, municipio de Magdalena, Jalisco, México.

En los Cuadros 21 y 22 se reportan las transiciones en los diferentes niveles de marchitez entre censos. En el Cuadro 23 se reportan los cambios globales entre el primer y último censo (intervalo de 284 días). En el diagrama de la Figura 21 se reporta la dinámica de cambios durante todo el proceso de evaluación. En este predio no se observó remisión de síntomas entre evaluaciones. Entre el primer censo y el segundo (intervalo de 112 d), de las 1921 plantas originalmente sin síntomas de enfermedad, el 55% se mantuvo aparentemente sano; 43 % avanzó hacia la severidad 1 y el 2%

cambio a marchitez nivel 2. De las 1431 plantas categorizadas inicialmente con marchitez nivel 1, el 85% se mantuvo en este nivel, 13% alcanzó el nivel 2, mientras que el 0.2% restante alcanzó la severidad 3. En el caso de las 142 plantas inicialmente evaluadas con marchitez nivel 2, sólo 8% avanzó hacia la severidad 3 y 92% no mostró cambios. De las 49 plantas inicialmente categorizadas con severidad 3, el 100% permaneció sin cambios. Entre el segundo y el tercer censo (periodo de 172 d), 55% de las plantas sin síntomas de marchitez se mantuvieron sin cambios, el 32% avanzó hacia la severidad 1 y el 18% cambió a la severidad 2. De las 2050 plantas con severidad 1, el 35% no mostró cambios, pero 63% de ellas cambió a severidad 2 y 1% avanzó a la severidad 3. En el caso de la severidad 2, 84% de las 365 plantas permanecieron en este nivel, mientras que 14% de estas avanzaron hacia la severidad 3. El 100% de las plantas con severidad 3 permaneció sin cambios.

Cuadro 21. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 2 del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 7 de agosto de 2017 (filas) y el censo del 26 de noviembre de 2017 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez* severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	1064 (29.95)	824 (23.20)	33 (0.93)	0	0	0	1921 (54.1)
Marchitez severidad 1	0	1226 (34.52)	202 (5.69)	3 (0.08)	0	0	1431 (40.3)
Marchitez severidad 2	0	0	130 (3.66)	12 (0.34)	0	0	142 (4.0)
Marchitez severidad 3	0	0	0	49 (1.38)	0	0	49 (1.4)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	8	0	8 (0.2)
Mancha gris	0	0	0	0	0	1 (0.03)	1 (0.03)
TOTAL	1064 (30.0)	2050 (57.7)	365 (10.3)	64 (1.8)	8 (0.2)	1 (0.03)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

Cuadro 22. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 2 del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 26 de noviembre de 2017 (filas) y el censo del 16 de mayo de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez* severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	529 (14.89)	339 (9.54)	195 (5.49)	0	1 (0.03)	0	1064 (30.0)
Marchitez severidad 1	0	720 (20.27)	1293 (36.40)	26 (0.73)	10 (0.28)	1 (0.03)	2050 (57.7)
Marchitez severidad 2	0	0	308 (8.67)	52 (1.46)	5 (0.14)	0	365 (10.3)
Marchitez severidad 3	0	0	0	64 (1.80)	0	0	64 (1.8)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	8 (0.23)	0	8 (0.2)
Mancha gris	0	0	0	0	0	1 (0.03)	1 (0.03)
TOTAL	529 (14.9)	1059 (29.8)	1796 (50.6)	142 (4.0)	24 (0.7)	2 (0.1)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.

En el Cuadro 23 y en la Figura 22 se muestran las transiciones hacia la marchitez nivel 3, desde las categorías sana, severidad 1 y severidad 2, después de los 284 d de evaluación. Dieciséis de las 1921 plantas aparentemente sanas, alcanzaron la marchitez nivel 3; bajo la asunción de un crecimiento lineal a través del tiempo, se estiman 4 nuevas plantas enfermas para 2019 (tasa de incremento de 0.011 plantas severidad 3 / planta sana \* año). Cuarenta y cuatro de las 1431 plantas con severidad 1 avanzaron hacia la marchitez nivel 3; para 2019 se estiman 33 nuevas plantas enfermas (0.04 plantas severidad 3 / planta severidad 1 \* año). Treinta y tres de las 142 plantas con nivel de severidad 2 cambiaron a la severidad 3 por lo que se

estiman 417 nuevas plantas enfermas para 2019 (0.23 plantas severidad 3 / planta con severidad 2 \* año). La tasa global de formación de plantas severidad con 3, desde los niveles previos de severidad fue de 0.035 plantas severidad 3 / planta sin severidad 3 \* año; bajo el supuesto de que las tasa fuese constante, en el 2019 habría 454 nuevas plantas con severidad 3. Como puede observarse en el Cuadro 24 y Figura 23, al final de la última evaluación, 673 de las 1921 plantas sin síntomas de marchitez, alcanzaron el nivel de severidad nivel 2, por lo que se estiman 185 nuevas plantas enfermas para 2019 (0.452 plantas severidad 2 / planta sana \* año). De las 1431 plantas inicialmente categorizadas con nivel de severidad 1, mil catorce alcanzaron el nivel 2 de marchitez; por lo cual se estiman 750 nuevas plantas con este nivel de severidad para 2019 (0.914 plantas severidad 2 / planta severidad 1 \* año). A nivel global, se apreció un patrón espacial uniforme en la distribución de las nuevas plantas con severidad 2, después de los 284 d de evaluación. La tasa de incremento global para la pudrición del cogollo (*Pectobacterium carotovorum*) fue de 0.003 plantas enfermas / planta sin esta enfermedad \* año, lo que supone que para el año 2019 habrá 33 nuevas plantas infectadas. Sólo las plantas sanas o con severidad 1 llegaron a presentar esta enfermedad.

Cuadro 23. Matriz de transición entre los diferentes tipos y severidades de enfermedades del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. azul) en el predio Potrero Viejo 2 del municipio de Arandas, Jalisco, México, ocurridos entre el censo del 6 de agosto de 2017 (filas) y el censo del 16 de mayo de 2018 (columnas).

	Plantas sanas	Marchitez severidad 1	Marchitez* severidad 2	Marchitez* severidad 3	Pudrición de cogollo**	Mancha gris***	TOTAL
Plantas sanas	529 (14.89)	694 (19.54)	673 (18.95)	16 (0.45)	9 (0.25)	0	1921 (54.1)
Marchitez severidad 1	0	365 (10.28)	1014 (28.55)	44 (1.24)	7 (0.25)	1 (0.03)	1431 (40.3)
Marchitez severidad 2	0	0	109 (3.07)	33 (0.93)	0	0	142 (4.0)
Marchitez severidad 3	0	0	0	49 (1.38)	0	0	49 (1.4)
Pudrición de cogollo	0	0	0	0	8 (0.23)	0	8 (0.2)
Mancha gris	0	0	0	0	0	1 (0.03)	1 (0.03)
TOTAL	529 (14.9)	1059 (29.8)	1796 (50.6)	142 (4.0)	24 (0.7)	2 (0.1)	

<sup>0</sup>Calculados con respecto al total de plantas evaluadas en cada censo.

\*Asociada a *Fusarium oxysporum* Schlechtendal.

\*\* Causada por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee.

\*\*\*Causada por *Cercospora agavicola* Ayala-Escobar.



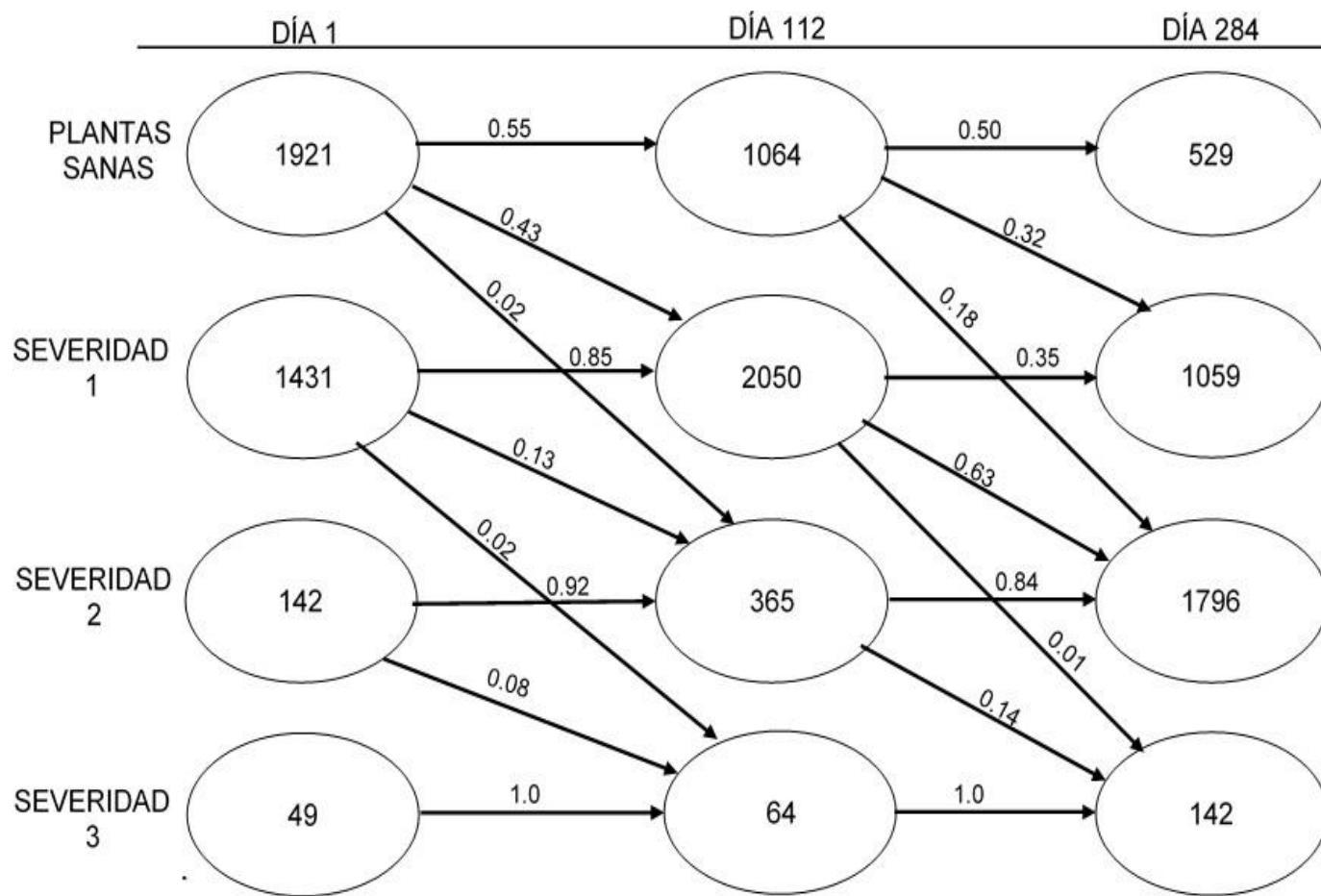


Figura 21. Diagrama de flujo de la transición entre los diferentes niveles de severidad de la marchitez del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) durante 284 días de evaluación (7 de agosto de 2017 a 16 de mayo de 2018) en el predio Potrero Viejo 2, del municipio de Magdalena, Jalisco, México. Las diferencias en las sumas de los porcentajes con respecto al valor de 1 se deben al ataque de pudrición del cogollo (*Pectobacterium carotovorum*), cuya incidencia no es contabilizada en este diagrama.

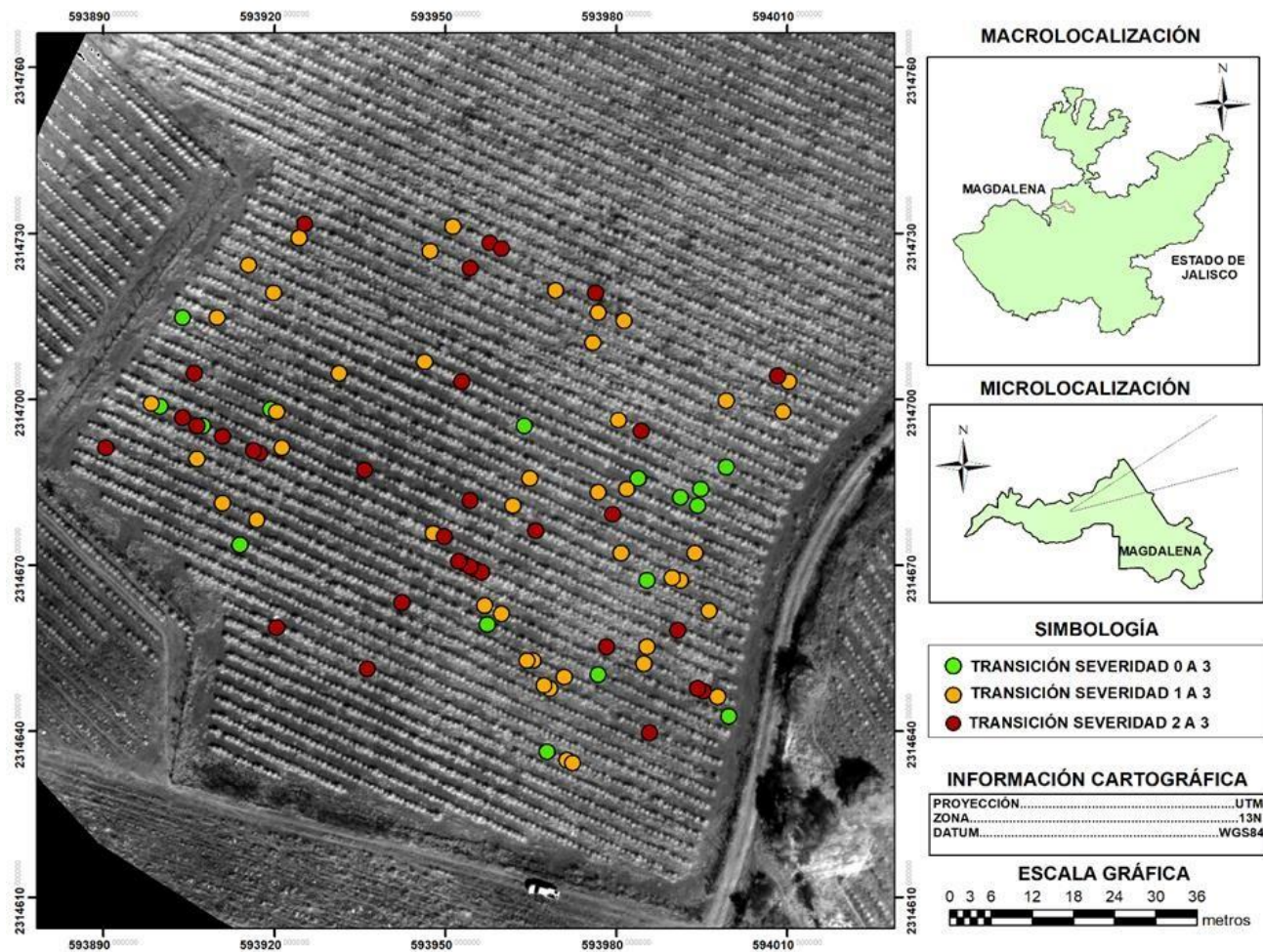


Figura 22. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 3 (periodo de evaluación: 7 de agosto de 2017 al 16 de mayo de 2018) del predio Potrero Viejo 2 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.

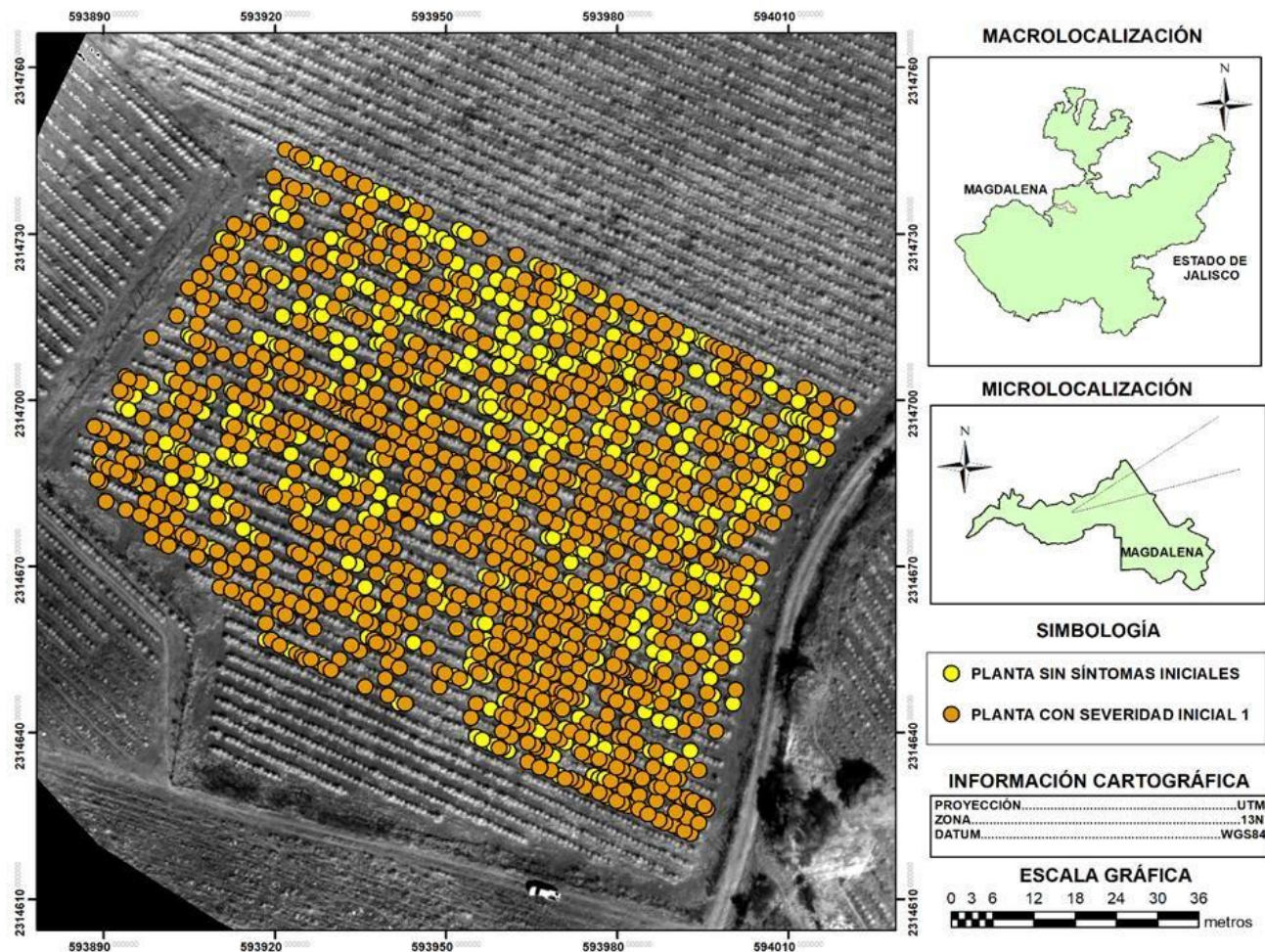


Figura 23. Ubicación geográfica de los cambios anuales en la marchitez severidad 2 (periodo de evaluación: 7 de agosto de 2017 al 16 de mayo de 2018) del predio Potrero Viejo 2 del municipio de Magdalena, Jalisco, México.



### 1.4.3. Variabilidad de la marchitez entre predios con agave

En el Cuadro 24 se reporta el área bajo la curva del progreso (ABCPE) de los diferentes niveles de severidad de la marchitez en los cuatro predios. Aunque no es posible hacer una prueba de hipótesis sobre las diferencias entre predios, debido a la inexistencia de repeticiones, es posible observar que, en la región de Arandas, las proporciones de plantas con severidad nivel 1 son considerablemente menores que en la región de Magdalena, donde los valores de ABCPE<sub>1</sub> fueron más del doble. En el caso de la severidad 2 solo en el predio Potrero Viejo 2, el ABCPE<sub>2</sub> es considerablemente más alto que en el resto de localidades, mientras que en el predio Agua Nueva se detectaron los valores más bajos, por lo que no es posible establecer un patrón general entre regiones agaveras. Lo mismo ocurre con los niveles de severidad 3, ya que los valores de ABCPE<sub>3</sub> son muy parecidos entre los predios Potrero Viejo 2 y El Estribo.

Cuadro 24. Área bajo la curva del progreso de la severidad de la marchitez (ABCPE)\* del agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul), evaluada a partir de tres censos realizados en cuatro predios del estado de Jalisco, México.

Predio	ABCPE <sub>1</sub>	ABCPE <sub>2</sub>	ABCPE <sub>3</sub>
El Estribo	7093.1	3126.7	603.1
Agua nueva	4122.6	1113.4	232.7
Potrero viejo 1	14255.4	2891.1	306.5
Potrero viejo 2	12966.4	6024.3	675.3

\*Calculada a partir de porcentajes de ocurrencia, mediante el método integración trapezoidal (Shaner y Finney, 1977)

<sub>1</sub>Marchitez severidad 1

<sub>2</sub>Marchitez severidad 2

<sub>3</sub>Marchitez severidad 3

## 1.5. DISCUSIÓN

Las enfermedades con origen en el suelo generalmente presentan un patrón espacial agregado (Campbell and Madden, 1990; Campbell and Benson, 1994). La relación VM es un índice sencillo que se utiliza para evaluar si la distribución espacial de una enfermedad es aleatoria o si ésta se presenta de manera uniforme o en forma de agregados. La marchitez del agave generalmente inicia en forma aleatoria, con varias plantas dispersas a lo largo de la plantación, que podrían provenir de hijuelos infectados (Virgen-Calleros 2000); a medida que avanza el tiempo se van formando agregados de plantas infectadas (Ramírez-Ramírez et al. 2017). Este patrón de cambios fue observado en las plantaciones El Estribo y Agua Nueva en Arandas. La variaciones en el patrón espacial de la enfermedad pueden deberse tanto a gradientes ambientales como a cambios en el régimen de humedad del suelo (CRT, 2005), al aumento o disminución de la temperatura (Ahanger et al. 2013), a la distribución del inóculo en el suelo (Okungbowa and Shittu 2012), al uso de herbicidas (Uvalle-Bueno y Vélez-Gutiérrez, 2003) y a la presencia de insectos barrenadores de tallo (Jeger 1999; Pérez y Rubio, 2007), los cuales incrementan la susceptibilidad del cultivo al ataque de fitopatógenos del género *Fusarium* (Virgen-Calleros 2000; Fucikovsky-Zak, 2001). En los predios Potrero Viejo 1 y Potrero Viejo 2, desde las primeras evaluaciones se detectó una distribución espacial uniforme, lo cual es típico de cultivos donde el hospedante es muy susceptible y el patógeno es muy virulento y el ambiente es muy favorable e hijuelos infectados provenientes de plantas madre enfermas, lo que propicia una rápida dispersión de la enfermedad (Virgen-Calleros 2000; Bailey et al., 2006).

Como en la mayoría de las enfermedades con origen en suelo, la infección primaria causante de la marchitez del agave puede propagarse hacia plantas sanas adyacentes durante el mismo ciclo. Sin embargo, el contagio planta a planta por *Fusarium* spp., generalmente es lento (Raaijmakers et al. 2009; Ramírez-Ramírez et al. 2017). Virgen-Calleros (2000) reportó que el proceso de infección se ve favorecido cuando la planta está bajo estrés hídrico, ya que las clamidosporas germinan cuando la humedad del suelo es menor o igual al 25% y la temperatura ambiental varía entre los 23 y 28° C (Jiménez-Díaz et al. 2015). De acuerdo al reporte de Virgen-Calleros (2000), la combinación de estos factores en la zona de estudio ocurre entre enero y abril. En años recientes se ha reportado un incremento en la temperatura de las zonas agaveras de Jalisco (Flores-López et al., 2016), lo cual concuerda con los datos climáticos reportados en el presente estudio, quienes dieron lugar a que en los predios El Estribo y Agua Nueva del municipio de Arandas, la infección de nuevas plantas ocurra durante todo el año, con un período crítico de infección en los meses de octubre a marzo, y picos en octubre-noviembre y febrero-marzo. Para el caso de Magdalena (predios Potrero Viejo 1 y Potrero Viejo 2), noviembre y diciembre parecen ser los meses más propicios para una mayor germinación de clamidosporas, aunque la aparición de nuevas plantas con marchitez inicial (severidad 1) se detectó durante todas las fechas de evaluación. La intensidad de la marchitez del agave fue mayor en la región de Magdalena comparada con Arandas debido a la ocurrencia de condiciones ambientales y edáficas más favorables. La combinación de factores como temperaturas elevadas y la baja humedad y profundidad del suelo, mantienen a la planta bajo estrés hídrico, lo cual afecta su fisiología y resistencia contra el ataque de *Fusarium* spp. (Virgen-Calleros 2000; Raaijmakers et al. 2009). Estos mismos factores

afectan el estado de crecimiento, desarrollo y patogenicidad del agente causal (Ahanger et al. 2013).

Independientemente del nivel inicial de severidad, algunas plantas murieron por marchitez en un periodo menor a un año, lo cual concuerda con lo reportado por Ireta y Flores (2011). El incremento en la severidad de la marchitez del agave se debe a que *F. oxysporum* penetra a la endodermis a través de heridas en la raíz y posteriormente coloniza el tejido vascular al moverse por el xilema hacia la parte aérea, lo cual provoca un bloqueo que impide el flujo normal del agua (Leslie and Summerell, 2006). El uso de herbicidas como el glifosato también parece afectar la transición de plantas sanas a severidad 1 ya que incrementa las poblaciones de especies patogénicas, debido al incremento de aminoácidos en los exudados radicales y a la disminución en la producción de fitoalexinas (Means *et al.*, 2007; Kremer and Means 2009). La remisión de síntomas observados durante el censo de mayo y agosto de 2017 en los predios El Estribo y Potrero 1 se debió al incremento en la precipitación durante el periodo de junio a septiembre (cuadro 2 y 3). Algunos síntomas iniciales de marchitamiento (severidad 1) posiblemente se confundieron con el estrés hídrico, ya que con la sequía ocurrió pérdida de agua en la planta, por lo cual disminuye la formación y el crecimiento de pelos absorbentes y raíces secundarias (Nobel and Valenzuela 1987), un patrón similar al que ocurre con la infección inicial de *Fusarium* spp., que reduce la capacidad de la planta para absorber agua y nutrientes (Raaijmakers et al. 2009), dando lugar a síntomas similares en ambos casos (CRT, 2005; Rubio, 2007). En las plantas que no tuvieron avance ni remisión de síntomas posiblemente se dio un ajuste de sus procesos fisiológicos para tolerar la acción del glifosato o el ataque de *Fusarium* spp. (Ramírez-Tobías *et al.*, 2014) pero se estima que en ciclos subsecuentes se observen avances



en el nivel de severidad, puesto que el proceso de aparición de síntomas generalmente es largo y puede durar 6 a 8 meses después de la infección (Virgen-Calleros *et al.*, 2011). El incremento gradual en la proporción de plantas enfermas en todos los niveles de severidad en los predios El Estribo y Agua Nueva puede deberse a que cuando se realizó la evaluación, la enfermedad comenzaba a manifestar síntomas. La intensidad de la enfermedad para esta región fue menor en este último predio debido principalmente a diferencias en la edad del cultivo (3 versus 1 año). Virgen-Calleros (2000) y Rubio (2007) reportaron que la marchitez se presenta con mayor frecuencia en plantaciones de tres años de edad. En nuestro trabajo, el ABCPE para todos los niveles de severidad reveló precisamente que en un cultivo menor a 3 años, la incidencia de la enfermedad no alcanza porcentajes considerables. En la región de Magdalena (predios Potrero Viejo 1 y Potrero Viejo 2) el incremento en el nivel de severidad 2 causó una reducción proporcional en el número de plantas con severidad. Como se mencionó anteriormente, estos cambios estuvieron asociados a la ocurrencia de condiciones ambientales favorables (sensu Virgen-Calleros, 2000). Contrario a lo reportado por Virgen-Calleros (2000) y Virgen-Calleros *et al.*, (2011) quienes mencionan cuantiosas pérdidas, las bajas tasas de incremento indican que la enfermedad no supone una limitante importante para el aprovechamiento del cultivo, puesto que las plantas que llegan a morir, independientemente de su nivel de severidad, representan menos del 4% del total de individuos en una plantación. Sin embargo, no se debe descartar el hecho de que la severidad 2 si constituye una amenaza puesto que este nivel representa el límite entre el aprovechamiento o la pérdida de la materia prima. En comparación con la marchitez, la mancha gris (*C. agavicola*) si representa una amenaza debido a que su tasa global de incremento es mayor que la

tasa global de incremento de la marchitez en los campos El Estribo y Agua Nueva, por la cantidad de nuevas plantas enfermas para el ciclo agrícola posterior y por la agresividad con la que ataca a la planta, puesto que esta puede llegar a morir en 30 a 90 días posteriores a la infección (Rubio y Cervantes, 2006; Valencia-Botín, 2011).

## **1.6. CONCLUSIONES**

Los síntomas de estrés hídrico son fácilmente confundibles con los síntomas iniciales de marchitez, sin embargo, durante y después de la temporada de lluvias se puede tener la certeza de que los síntomas observados corresponden a la marchitez vascular del agave tequilero.

La dispersión de la marchitez del agave tequilero es un fenómeno que se da por el contagio de plantas sanas adyacentes a una planta que funciona como foco de infección e inicia en forma de agregados en las plantaciones.

Aunque la proporción de plantas que llegan a morir de un año a otro fue relativamente baja (<2%) y no representa una amenaza importante para el cultivo, en el término de un año ocurre un incremento considerable en la proporción de plantas con severidad 2, lo cual si constituye un riesgo para la industria tequilera si las condiciones ambientales se tornan extremadamente propicias.

## 1.7. REFERENCIAS

- Ahanger, R. A., Bhat, H. A., Bhat, T. A., Ganie, S. A., Lone, A. A., and Imtiyaz, A. 2013. Impact of climate change on plant diseases. *Int. J. Mod. Plant Anim. Sci.* 1:105–115.
- Ávila Miranda, M. E. ., López Zazueta, J. G. ., Arias Castro, C., Rodríguez Mendiola, M. A., Guzmán de Peña, D. A., A., V. N. J., et al. 2010. Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Weber var. azul). *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 12:166–180.
- Ayala-Escobar, V., Yañez-Morales, M. D. J., Braun, U., Groenewald, J. Z., and Crous, P. W. 2005. *Cercospora agavicola* - A new foliar pathogen of *Agave tequilana* var. azul from Mexico. *Mycotaxon.* 93:115–121.
- Bailey, D. J., Kleczkowski, A, and Gilligan, C. A. 2006. An Epidemiological Analysis of the Role of Disease-Induced Root Growth in the Differential Response of Two Cultivars of Winter Wheat to Infection by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Phytopathology.* 96:510–516.
- Bowen, S., and Valenzuela-Zapata, A. 2009. Geographical indications, terroir, and socioeconomic and ecological sustainability: The case of tequila. *J. Rural Stud.* 25:108–119.
- Campbell C. L. and Madden L. V. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Ed. Wiley. New York. 560 pp.
- Campbell, C.L. and Benson, D.M. Epidemiology and Management Root Disease. North Carolina State University. Department of Plant Pathology. 334 pags.

- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2005. Plagas y enfermedades del *Agave tequilana* Weber var Azul. Ed. Pandora. Impreso en México. 123p.
- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2010. Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber Var. Azul. Comité técnico agronómico-Subcomite de fitosanidad. 10p.
- Flores López, H. E., Chávez Durám, Á. A., Ruíz Corral, J. A., de la Mora Orozco, C., y Rodríguez Moreno, V. M. 2016. Efecto del cambio climático sobre las zonas de riesgo por marchitez en el *Agave tequilana* Weber variedad Azul en Jalisco. Rev. Mex. ciencias agrícolas. :2497–2510.
- Fucikovsky-Zak, L. 2001. Tristeza and death of *Agave tequilana* Weber var. azul. Ed. De Boer, S.H., In: Plant Pathogenic Bacteria. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London. 434 p.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI. 2017. [http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/jal/territorio/div\\_municipal.aspx?tema=me&e=14](http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/jal/territorio/div_municipal.aspx?tema=me&e=14).
- Ireta M. J. y Flores L. H. 2011. Epidemiología de las enfermedades del cultivo de agave azul tequilero p. 21-27 In Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Guadalajara, Jalisco.
- Jeger, M. J. 1999. Improved understanding of dispersal in crop pest and disease management: Current status and future directions. Agric. For. Meteorol. 97:331–349.
- Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., Jiménez-Gasco, M. del M., Landa, B. B., and Navas-Cortés, J. A. 2015. *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. Crop Prot. 73:16–27.

- Kremer, R. J., and Means, N. E. 2009. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *Eur. J. Agron.* 31:153–161.
- Leslie, J. F. and Summerell. An overview of *Fusarium*. P 1-10 In Brown, D. W. and Proctor, R. H. 2006. *Fusarium: genomics, molecular and cellular biology*. Caister Academic Press.
- Ludwig, J. A. and Reynolds, J. F. 1988. *Statistical Ecology: A primer on method and computing*. Ed. Wiley. New York. 337 pp.
- Means, N. E., Kremer, R. J., and Ramsier, C. 2007. Effects of glyphosate and foliar amendments on activity of microorganisms in the soybean rhizosphere. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes.* 42:125–132.
- Nobel, P. S., and Valenzuela, A. G. 1987. Environmental responses and productivity of the CAM plant, *Agave tequilana*. *Agric. For. Meteorol.* 39:319–334.
- Okungbowa, F. I., and Shittu, H. 2012. *Fusarium* Wilts : An Overview. *Environmental Res. J.* 6(2):83–102.
- Pérez D., J. F. y R. Rubio C. 2007. Tecnología de manejo y control de plagas del agave. p. 135-168 In Rulfo V., F. O. et al. (ed.). *Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de Agave tequilana Weber en la zona de denominación de origen del tequila*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro.
- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., and Moënne-Loccoz, Y. 2009. The rhizosphere: A playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil.* 321:341–361.

- Ramírez-Ramírez, M. de J., Mancilla-Margalli, N. A., Meza-Álvarez, L., Turincio-Tadeo, R., Guzmán-De Peña, D., and Ávila-Miranda, M. E. 2017. Epidemiology of *Fusarium* agave wilt in *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Plant Prot. Sci.* 53:144–152.
- Ramírez-Tobías, H. M., Peña-Valdivia, C. B., and Aguirre, J. R. 2014. Respuestas bioquímico-fisiológicas de especies de agave a la restricción de humedad. *Bot. Sci.* 92:131–139.
- Rubio C., R. 2007. Enfermedades del cultivo de agave. p. 169-195 In Rulfo V., F. O. et al. (ed.). Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de *Agave tequilana* Weber en la zona de denominación de origen del tequila. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. Tepatitlán, Jalisco.
- Rubio, C.R., Cervantes, D.L. 2006. Manejo de Plagas y Enfermedades del Agave Tequilero en Jalisco y Nayarit. In: Estado Actual del Manejo de Plagas y Enfermedades del Agave Tequilero. Bernal, SJ, Orozco, HA, del Real, LJI., González, H.H. (eds.). Memorias Simposio Prioridades Fitosanitarias Actuales en el Cultivo de *Agave tequilana* Weber var. Azul. XXIX Congreso Nacional de Control Biológico. Manzanillo, Colima, 9 de noviembre de 2006. México. pp: 116-162.
- Schwanck, A., Savary, S. y Willocquet, L. 2016. Exploring Spatiotemporal Patterns of Phoma Black Stem in Sunflower. *Journal of Phytopathology*, 164: 979-989.
- Shaner, G., Finney, R.E., 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 67, 1051-1056.



- Uvalle-Bueno, J. X., C. Vélez-Gutiérrez. 2003. Selectividad fisiológica de herbicidas en *Agave tequilana* Weber, Memoria del XVI Congreso Latinoamericano de Malezas y XXIV Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de la Ciencia de la Maleza. Manzanillo, Colima, México.
- Valencia-Botín., A. J. 2011. Evolución histórica y situación actual de la mancha gris en el cultivo del agave azul tequilero. p. 45-54 In Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Guadalajara, Jalisco.
- Virgen-Calleros. G. 2000. Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber, var. Azul. Departamento de producción agrícola. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Informe técnico para el programa general de apoyo y desarrollo tecnológico a la cadena productiva agave-tequila.
- Virgen-Calleros. G., Méndez M. L. y Espitia C. C. 2011. Evolución Histórica y Situación Actual de la Marchitez y Pudrición Seca del Cogollo en el Cultivo del Agave azul tequilero p. 28-34 In Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Guadalajara, Jalisco.

## CAPÍTULO II. FACTORES ASOCIADOS A LA MARCHITEZ DEL AGAVE

### TEQUILERO (*Agave tequilana* Weber var. azul)

#### 2.1. RESUMEN

La marchitez del agave tequilero es una enfermedad asociada a la ocurrencia de *Fusarium oxysporum*. Algunos factores como estrés hídrico, exceso de humedad, herbicidas y el ataque de *Scyphophorus acupunctatus*, pueden exacerbar los síntomas. En este trabajo se analizó cómo la ocurrencia de marchitez asociada a la infección por *Fusarium oxysporum* puede ser alterada por la deficiencia y exceso de humedad en el suelo, la presencia o ausencia de *S. acupunctatus* y las aplicaciones de glifosato. Se evaluaron cuatro factores: 1) humedad del suelo, 2) herbicidas, 3) insectos barrenadores del agave y *Fusarium oxysporum*. El diseño experimental fue en bloques completos al azar. Se realizaron dos experimentos simultáneos, el primero con plantas sometidas a temperatura de entre los 12 y 40° C y el segundo bajo una temperatura constante de 27° C  $\pm$  3° C. A 180 d del inicio del primer experimentos, la interacción Humedad x Herbicida x Picudo x *Fusarium* resultó significativa con  $P > F = 0.0145$ . Condiciones de sequía recurrente favorecieron el desarrollo de síntomas de marchitez independientemente de la acción de los factores Herbicida (glifosato), *Fusarium* (*F. oxysporum*) y Picudo. Estos factores a su vez incrementaron el marchitamiento de las plantas de agave con respecto al testigo no tratado y bajo condiciones óptimas de humedad, pero el grado de encarrujamiento en general no llegó a ser tan intenso como el causado por la sequía. La inundación periódica de los suelos incrementó el encarrujamiento a niveles intermedios a los observados bajo condiciones óptimas de humedad y bajo sequía.

**Palabras clave:** marchitez del agave, *Fusarium oxysporum*, factores asociados.

## 2.2. INTRODUCCIÓN

La marchitez del agave (*Agave tequilana* Weber var. azul) es una enfermedad asociada a la ocurrencia de *Fusarium oxysporum* (Virgen-Calleros, 2000; Ávila-Miranda *et al.*, 2010), un hongo que ataca al cultivo principalmente durante los primeros tres años de su desarrollo (Rubio, 2007). Los síntomas característicos de la enfermedad son decoloración foliar, que contrasta con el azul típico de las plantas sanas y enrollamiento de hojas hacia el centro. En etapas avanzadas, las hojas sufren desecación y endurecimiento descendiente desde la parte apical hasta la base (Martínez *et al.*, 1998), lo que se conoce comúnmente como encarrujamiento. Estas anomalías se deben a la deshidratación de los tejidos por la reducción, muerte o destrucción del sistema radicular, o bien porque hay destrucción o taponamiento de haces vasculares (Tlapal Bolaños *et al.*, 2014). Algunos factores como el estrés hídrico, el exceso de humedad, herbicidas y el ataque de barrenadores del tallo (*Scyphophorus acupunctatus*), pueden exacerbar los síntomas (CRT, 2005).

Cuando la planta sufre de estrés hídrico, el pobre desarrollo radicular y los tejidos debilitados de la raíz vuelven vulnerable a la planta contra *Fusarium* spp, cuyo ataque se vuelve más severo en suelos con bajo contenido de humedad (Virgen-Calleros, 2000; Leslie and Summerell, 2006). Cuando el suelo se satura de agua, también se inhibe el crecimiento radicular, se limita la expansión del área foliar y la capacidad fotosintética se ve afectada negativamente, ya que se crean condiciones anaerobias por desplazamiento del oxígeno en el espacio poroso, lo que causa condiciones de anoxia, acumulación de metano, óxido nitroso, y amoníaco (Ramírez-Tobías *et al.*, 2014). Los daños por herbicidas no selectivos como glifosato y glufosinato de amonio suelen evidenciarse como encarrujamiento de las hojas que

entran en contacto con estos. Este daño se puede asociar o confundir con la marchitez provocada por *Fusarium oxysporum*, ya que el tiempo de aparición de síntomas después del periodo de lluvias (3 a 4 meses) corresponde al tiempo en el cual se manifiestan los daños por aplicación en campo (Uvalle-Bueno and Vélez-Gutiérrez, 2002). Las galerías hechas por el picudo del agave (*S. acupunctatus*), pueden ser invadidas por agentes patógenos y saprófitos, lo que puede también derivar en síntomas de marchitez, producto del daño indirecto que provocan, al disminuir la cantidad de agua y nutrientes que la planta puede translocar (Rubio, 2011).

Es posible que bajo condiciones de campo las plantas de agave se vean afectadas por la acción simultánea de los factores antes considerados, lo que convierte a la marchitez en un fenómeno multifactorial. Por lo cual es de interés analizar en qué medida cada uno de estos factores determina la expresión de síntomas y si ocurren interacciones entre ellos. En este trabajo, se analizó cómo la ocurrencia de marchitez asociada a la infección por *Fusarium oxysporum* puede ser alterada por la deficiencia y exceso de humedad en el suelo, la presencia o ausencia del barrenador de las piñas (*S. acupunctatus*) y las aplicaciones del herbicida glifosato, un producto químico comúnmente utilizado en plantaciones de agave donde es frecuente el fenómeno de marchitez.

## **2.3. METODOLOGÍA**

### **2.3.1. Colecta de material en campo**

Se colectaron ocho plantas de agave en cuatro predios del estado de Jalisco (dos plantas por predio) con una tercera parte de sus pencas enrolladas y encarrujadas entre 20-30 cm (Figura 24A); su sistema radicular era escaso a nulo y todas tenían una lesión rojiza y polvosa en el tallo (Figura 24B). Los adultos de picudo del agave (*S. acupunctatus*) se colectaron en un predio jimado (cosechado) en el municipio de Arandas, Jalisco. Fue necesario destruir completamente el tallo (piña) para poder extraerlos, puesto que se encuentran dentro de galerías formadas hacia el centro de este órgano (Figura 25). Los insectos fueron sexados de acuerdo con Figueroa-Castro *et al.*, (2013) con el objetivo de colocar una pareja en cada unidad experimental.

### **2.3.2. Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum***

De cada planta se tomaron cinco piezas de tejido enfermo-sano y cinco trozos de raíz sin epidermis, los cuales se desinfectaron con solución de hipoclorito de sodio al 2% durante dos minutos. Posteriormente se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril para eliminar el exceso de cloro. Finalmente, se colocaron en papel secante estéril durante 24 horas. Por cada planta se sembraron 2 cajas Petri (16 en total) con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) y se incubaron a 25° C durante una semana. Los aislamientos obtenidos por este procedimiento se preservaron en tubos de ensayo con medio de cultivo PDA vaciado de forma inclinada, lo cual facilita su manipulación. Se agregó aceite mineral con la finalidad de prolongar su tiempo su vida. Para confirmar la identidad del hongo, se utilizaron las claves taxonómicas de Booth (1971) y Leslie and Summerell (2006).



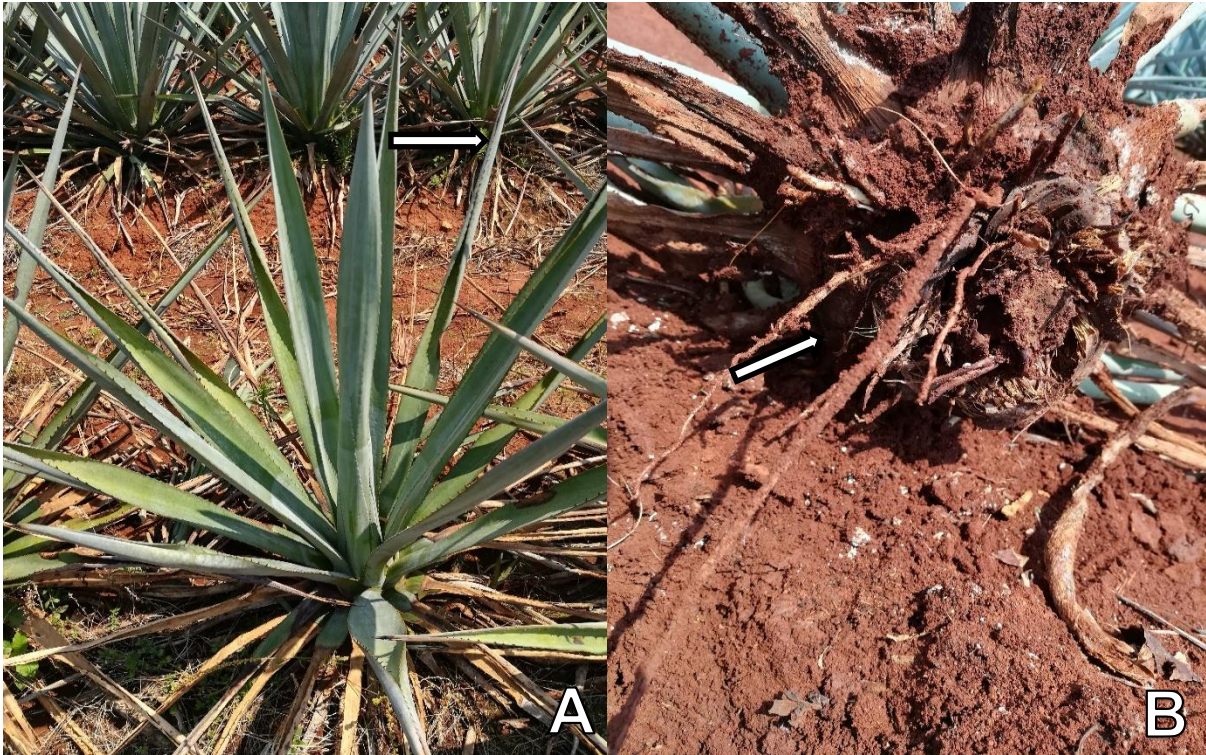


Figura 24. Sintomatología de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) con marchitez, utilizadas para el aislamiento de *Fusarium oxysporum*. A) encarrujamiento de hojas. B) sistema radicular destruido.

### 2.3.3. Preparación del inóculo

Una vez identificado el hongo como *Fusarium oxysporum* se transfirió nuevamente a cajas Petri con PDA, las cuales se incubaron a temperatura ambiente durante 10 días bajo luz germicida (253 nm), para favorecer la formación de estructuras de reproducción (micro y macroconidios), con el fin de incrementar el inóculo para su posterior utilización. El incremento se realizó con un sustrato a base de semillas de mijo (*Panicum miliaceum*). Se colocaron 50 ml de semilla en matraces de 200 ml para su esterilización a 15 PSI durante 15 minutos, cada 24 horas durante 3 días. Una vez que se evaporó el exceso de humedad se colocaron dentro de los matraces tres círculos de agar, de 5 mm de diámetro, con medio de cultivo con el hongo. Se dejó incubar a temperatura ambiente durante 22 días, para asegurar que el



hongo invadiera completamente el sustrato. Se añadió agua destilada estéril para obtener un filtrado del hongo. La concentración final del filtrado fue de  $6 \times 10^6$  microconidios  $\text{mL}^{-1}$ , lo cual fue determinado con ayuda de una cámara de Neubauer.

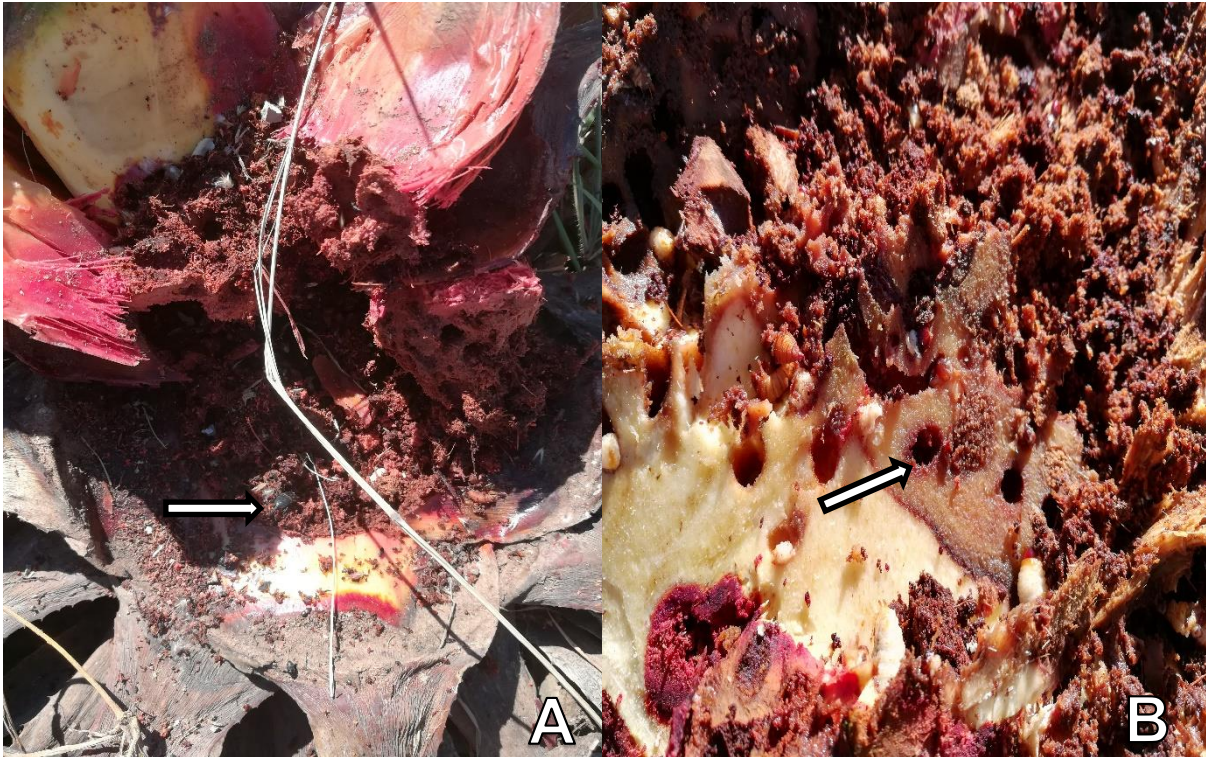


Figura 25. Daño causado por el picudo del agave (*Syphophorus acupunctatus*) en plantas maduras de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul). A) Adulto de *S. acupunctatus* emergiendo de una galería. B) Galería hecha por el insecto en tejido necrosado.

#### 2.3.4. Tratamientos

Se evaluaron cuatro factores asociados a la marchitez del agave: 1) régimen de humedad del suelo (déficit recurrente, óptimo, saturación recurrente), 2) herbicidas (con o sin glifosfato), 3) insectos barrenadores del agave (con o sin *S. acupunctatus*) y *Fusarium oxysporum* (con o sin el patógeno). La combinación de estos factores y niveles produjo un total 24 tratamientos (Cuadro 25), que se evaluaron bajo un diseño experimental en bloques completos al azar. La unidad experimental fue una planta de



agave de un año de edad, producida a partir de implantes de cultivo *in vitro*. Las plantas, que fueron proporcionadas por Casa Sauza S.P.R. de R.L., se trasplantaron en bolsas de polietileno de 35 x 35 cm con suelo común previamente solarizado. Las plantas se mantuvieron en cámaras bioclimáticas a 27° C, durante 6 meses. Antes del inicio de los tratamientos se les proporcionó tres riegos por semana para reducir el estrés del trasplante y asegurar el correcto funcionamiento fisiológico de la planta.

Cuadro 25. Factores y niveles evaluados en arreglo factorial<sup>1</sup> para analizar su impacto en la marchitez del agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. Azul).

Factor	Niveles
Humedad	Déficit <sup>2</sup> , Óptimo, Saturación <sup>3</sup>
Herbicida (glifosato)	Con, Sin
Picudo ( <i>Scyphophorus acupunctatus</i> )	Con, Sin
Hongo ( <i>Fusarium oxysporum</i> )	Con, Sin

<sup>1</sup>Con cuatro repeticiones. Se realizaron seis evaluaciones, cada 30 d.

<sup>2</sup>Un riego regular cada 60 días.

<sup>3</sup>Un litro diario de agua/planta.

Se realizaron dos experimentos simultáneos. En el primero, las plantas estuvieron expuestas a las condiciones del invernadero, con un régimen de temperatura de entre los 12 y 40° C. En el segundo experimento, las unidades experimentales estuvieron bajo una temperatura constante de 27° C ± 3° C. En ambos experimentos, a las plantas donde se aplicó el tratamiento de déficit hídrico se les privó de riego durante 60 días; posterior a este periodo, se aplicó un riego manual de 1000 ml y nuevamente se suspendió el riego por otros 60 días. A las plantas con el tratamiento óptimo de humedad se les suministró 750 ml de agua tres veces por semana durante todo el periodo de evaluación. En las plantas con el tratamiento de excesos recurrentes de humedad, se mantuvo una condición de “encharcamiento” que se logró al no hacer agujeros de drenaje en las bolsas que contenían el suelo. Para

los tratamientos con herbicida, en ambos experimentos se utilizó la dosis alta recomendada en campo ( $5 \text{ L ha}^{-1}$ ). para lo cual se preparó una solución con 5 L de agua corriente, a la cual se añadieron 134 mL de Faena® Fuerte (glifosato). Cada planta fue regada con 52 ml de dicha solución. Donde fue aplicable, se colocaron dos picudos del agave (macho y hembra); en estos casos cada planta se introdujo en una jaula de 40 x 40 x 100 cm cubierta con malla de fibra de vidrio para evitar que los insectos migraran. La inoculación de los tratamientos con *F. oxysporum*, se realizó con 100 mL del filtrado del hongo aplicados al suelo, por unidad experimental, en dos ocasiones, una al inicio del experimento y la otra a los 15 d posteriores. La severidad de la marchitez se evaluó mediante el porcentaje de encarrujamiento total de la planta. El diámetro de las piñas (DPI) se midió con ayuda de un calibrador digital milimétrico TRUPER®. La altura al cogollo se midió con una regla graduada de 50 cm. La frecuencia de la evaluación fue cada 30 d, durante 180 d. La infección por *F. oxysporum* se corroboró mediante cortes en el tejido interno del tallo de la planta. Se observaron las lesiones en las raíces y el tallo a los 180 d después de la inoculación.

### **2.3.5. Análisis estadístico**

Los datos de porcentaje de marchitamiento fueron transformados mediante la raíz cuadrada del ArcoSeno (Steel y Torrie, 1980). Esta variable, así como el diámetro de tallo y la altura de las plantas fueron analizadas mediante la técnica de análisis de varianza para diseños factoriales. Después de determinar qué efectos principales o interacciones resultaron significativos, se realizaron pruebas de Tukey ( $P = 0.05$ ) para comparar diferencias entre medias. Los cálculos fueron realizados mediante el software para análisis estadístico SAS v 9.4 (SAS Institute, Cary, North Carolina).

## **2.4. RESULTADOS**

### **2.4.1. Descripción del agente causal**

En medio PDA, se observó micelio abundante, septado y de color blanco. Las colonias tenían un aspecto amarillo a naranja (Figura 26A). Macroconidios en esporodoquio, largos, ligeramente curvados; phragmosporas fusiformes, con 3-5 septos, de 23-54  $\mu\text{m}$  de largo (Figura 26B) y 3.0-4.5  $\mu\text{m}$  de ancho, con célula apical curvada-cónica, célula basal en forma de pie. Los microconidios eran abundantes y dispuestos en falsas cabezas en el micelio, elípticos, unicelulares, ligeramente curvados de 5-12  $\mu\text{m}$  de largo y de 2.3-3.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Figura 26C). Las células conidiogénicas estuvieron formadas por monofiálides cortas y abundantes en el micelio. Las clamidosporas se observaron hialinas, individuales y dispuestas en hifas aéreas, con paredes gruesas y rugosas de 5-13  $\mu\text{m}$ . Estas características coinciden con los reportado por Booth (1971) y Leslie y Summerell (2006) para *Fusarium oxysporum*.

### **2.4.2. Sintomatología**

Las plantas bajo déficit de humedad recurrente mostraron un doblamiento descendente de las hojas, las cuales perdieron rigidez. La estructura de la planta se deformó, las hojas nuevas tendieron a orientarse más cerca del cogollo, mientras que las hojas viejas se marchitaron. El color del agave cambió del azul turquesa a azul grisáceo. En el régimen de humedad óptima no se observaron cambios ni en la estructura de las hojas, ni en la de la planta o en el color del agave. La apertura de hojas fue en promedio de 3 hojas por mes. En las plantas con saturación recurrente de humedad hubo encarrujamiento de las hojas nuevas y cambio de coloración del

azul típico a color a verde. La apertura de hojas fue de 1 a 2 por mes. En algunos casos, se observó necrosis y rigidez de los tejidos en los bordes y la parte apical de las hojas.

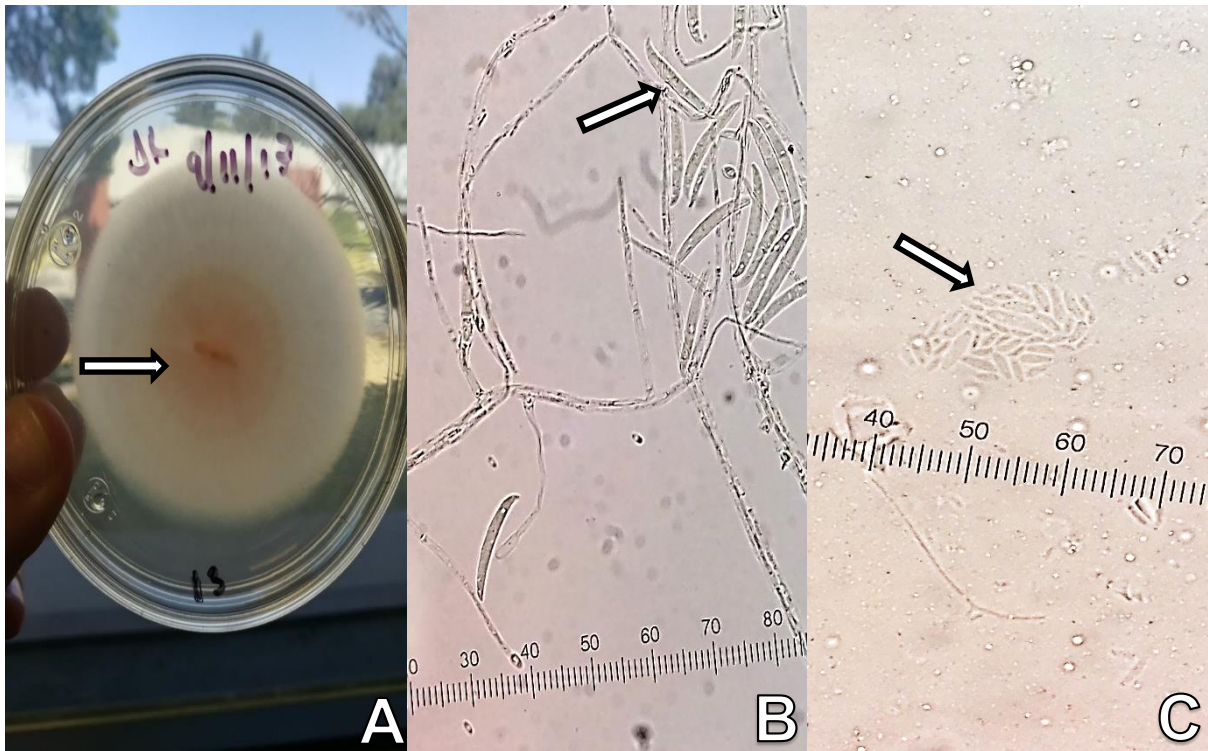


Figura 26. Morfología del agente causal de la marchitez del agave tequilero (*Fusarium oxysporum* Schtdl). A) Colonia del hongo en PDA. B) macroconidios (phragmosporas) curvados multicelulares. C) microconidios unicelulares dispuestos en falsas cabezas.

En las plantas que fueron tratadas con glifosato, se observó una decoloración generalizada al cambiar del azul típico del agave a aguamarina; en algunas de las hojas viejas hubo pigmentaciones amarillentas (Figura 27A). También se observó agrietamiento y necrosamiento color naranja en el lado adaxial de las pencas (Figura 27B). Las hojas nuevas tendieron a enrollarse hacia el centro, desde la parte apical hasta una tercera parte del total de la penca (Figura 27A). Esto ocurrió en los tres regímenes de humedad.



Figura 27. Daño causado por el herbicida glifosato en plantas jóvenes de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul). A) amarillamiento generalizado y encarrujamiento de las hojas. B) agrietamiento color naranja de las hojas.

Los daños ocasionados por el picudo del agave (*S. acupunctatus*) fueron diversos, en algunas plantas se observaron heridas en forma de raspaduras en el cogollo; en otras, el daño fue una galería en la piña, en otros casos, el insecto se introdujo a la piña por la parte basal (Figura 28A y 28B). Los daños provocaron un leve encarrujamiento de las hojas nuevas, no hubo cambio de coloración en las plantas. En tres plantas, el daño fue tan severo que estas murieron en 180 d después de introducir al insecto.



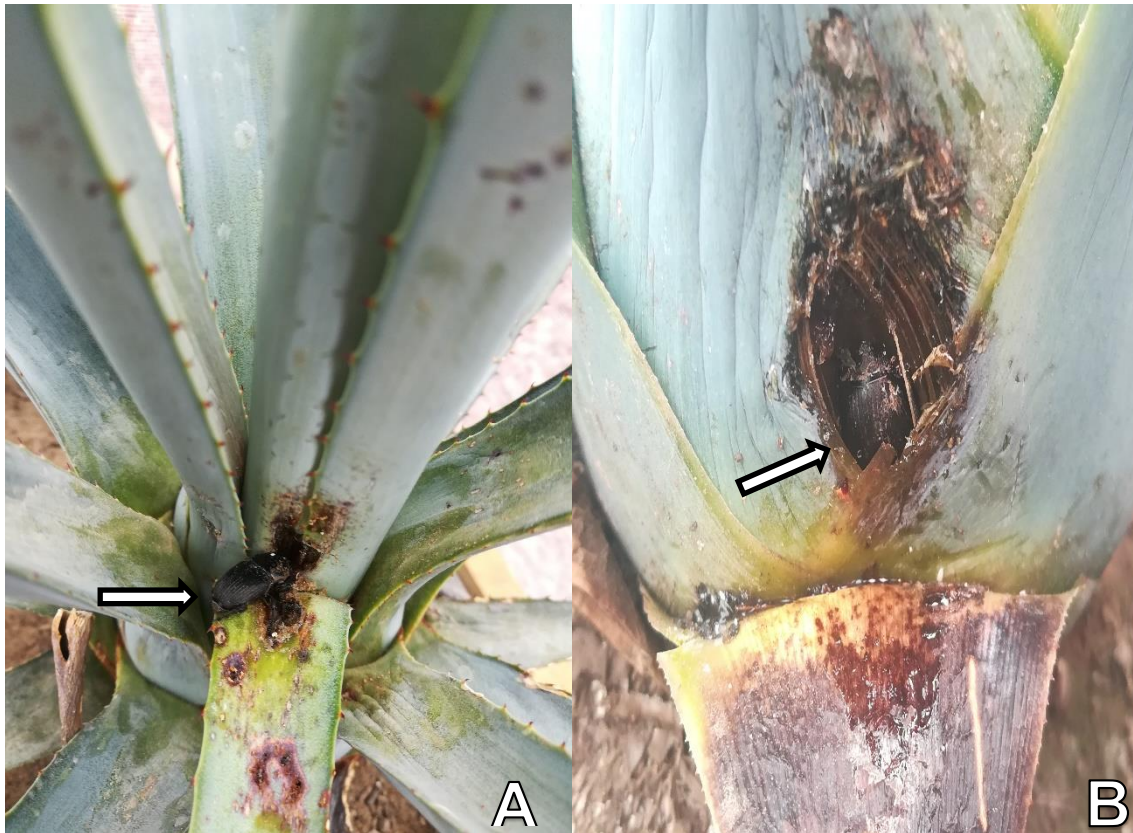


Figura 28. Daños causado en las plantas de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) por el picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) al alimentarse de la piña. A) raspaduras y galería en el cogollo. B) galería en la piña.

Los daños inducidos por *F. oxysporum* en las plantas de agave fueron encarrujamiento de las hojas nuevas hacia el centro de las mismas, desde la parte apical hasta la mitad de la penca (Figura 29A). Este síntoma estuvo acompañado por un cambio de color del azul típico hacia un tono violáceo que en algunas plantas se tornó amarillento (Figura 29B). Hubo una decoloración generalizada en la planta hacia un azul grisáceo. Únicamente en una planta se observó el síntoma de desecación y endurecimiento del tejido (Figura 29C).

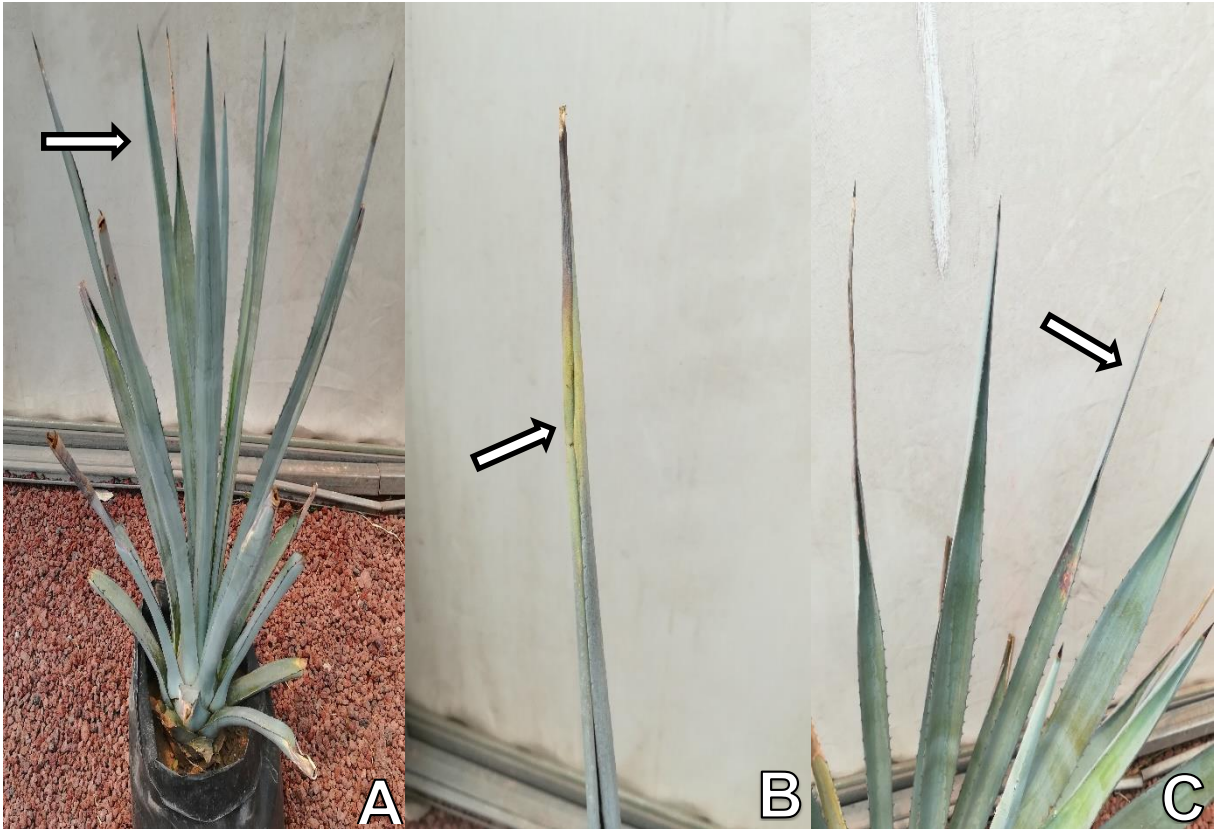


Figura 29. Sintomatología típica de la marchitez del agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) inducida por *Fusarium oxysporum*. A) planta de agave con encarrujamiento en nivel intermedio de severidad. B) amarilamiento y encarrujamiento de la punta de una hoja. C) desecación del tejido de las pencas del agave tequilero.

Se observaron lesiones necróticas a lo largo de la raíz, así como una lesión rojiza en la base del tallo, la cual es indicativo de la invasión de los tejidos vasculares (Figura 30).





Figura 30. Lesiones causadas por la infección de *Fusarium oxysporum* en las plantas de agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul). A) lesiones rojizas a lo largo de las raíces. B) lesión corchosa en la base del tallo.

### 2.4.3. Experimento bajo condiciones de invernadero.

#### 2.4.3.1. Desarrollo de la enfermedad

En el Cuadro 26 se reporta el resultado del análisis de varianza de los diferentes factores sobre el porcentaje de encarrujamiento de las hojas de agave, indicativo de la severidad de la marchitez. La interacción Humedad x Herbicida x Picudo x *Fusarium* resultó significativa con  $P > F = 0.0145$ . En la Figura 31 se reportan los promedios correspondientes a esta interacción. De acuerdo con estos resultados, las plantas de agave bajo déficit recurrente de humedad, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con glifosato y sin picudo, tuvieron los valores más altos del indicador de marchitez en todo el experimento (Figura 32A) y su promedio resultó mayor que el obtenido bajo

humedad óptima o excesos recurrentes de humedad, pero el resto de plantas del mismo grupo mantenido bajo déficit de humedad recurrente no tuvo diferencias significativas con respecto a ese tratamiento, independientemente si fueron inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con herbicida, o infestadas con el picudo. Por otra parte, las plantas testigo (mantenidas en condiciones óptimas de humedad, no inoculadas con *F. oxysporum*, no tratadas con glifosato y no infestadas con picudo) tuvieron los valores más bajos de marchitez de todo el experimento y su promedio resultó significativamente menor que el resto de tratamientos, independientemente del régimen de humedad (Figura 32B). Dentro del grupo de plantas mantenidas con humedad óptima, la inoculación con *F. oxysporum*, o la adición de glifosato o la infestación con picudos incrementó el nivel de marchitamiento con respecto al testigo, pero su porcentaje de encarrujamiento resultó menor que en los tratamientos sometidos a déficit hídrico recurrente. A su vez, las plantas pertenecientes al mismo grupo no tuvieron diferencias significativas entre sí por efecto de la adición sola o combinada de *F. oxysporum*, glifosato o barrenadores del tallo. En el caso de las plantas sometidas a excesos recurrentes de humedad en el suelo, los indicadores de marchitamiento fueron en general numéricamente intermedios entre los observados en los tratamientos bajo humedad óptima y bajo sequía recurrente (Figura 32C), pero no tuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto al primer grupo (humedad óptima) con excepción del testigo, ni diferencias significativas entre sí. En este caso, solo los tratamientos bajo déficit de humedad, sin picudo, con o sin *F. oxysporum* y herbicida, tuvieron una marchitez más severa que los mismos tratamientos bajo exceso recurrente de humedad.

Cuadro 26. Análisis de varianza del primer experimento<sup>&</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) e infección por el hongo *Fusarium oxysporum* sobre la severidad de la marchitez (porcentaje de encarrujamiento) de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var azul).

Efectos principales e interacciones*	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P > F
HUM	2	5048.384607	2524.192304	119.91	<.0001
HER	1	2.286159	2.286159	0.11	0.7427
HUM*HER	2	81.721556	40.860778	1.94	0.1510
PIC	1	3.245002	3.245002	0.15	0.6958
HUM*PIC	2	148.949934	74.474967	3.54	0.0342
HER*PIC	1	24.767522	24.767522	1.18	0.2817
HUM*HER*PIC	2	184.905426	92.452713	4.39	0.0159
FUS	1	318.620061	318.620061	15.14	0.0002
HUM*FUS	2	32.874726	16.437363	0.78	0.4619
HER*FUS	1	39.591876	39.591876	1.88	0.1745
HUM*HER*FUS	2	521.191113	260.595556	12.38	<.0001
PIC*FUS	1	7.792955	7.792955	0.37	0.5448
HUM*PIC*FUS	2	42.030468	21.015234	1	0.3736
HER*PIC*FUS	1	120.95833	120.95833	5.75	0.0191
HUM*HER*PIC*FUS	2	189.133035	94.566518	4.49	0.0145

<sup>&</sup>Bajo condiciones de invernadero.

\*Factores: HUM (déficit, óptimo, saturación); HER (con glifosato, sin glifosato); PIC (con *S. acupunctatus*, sin la plaga); FUS (con *F. oxysporum*, sin el hongo).

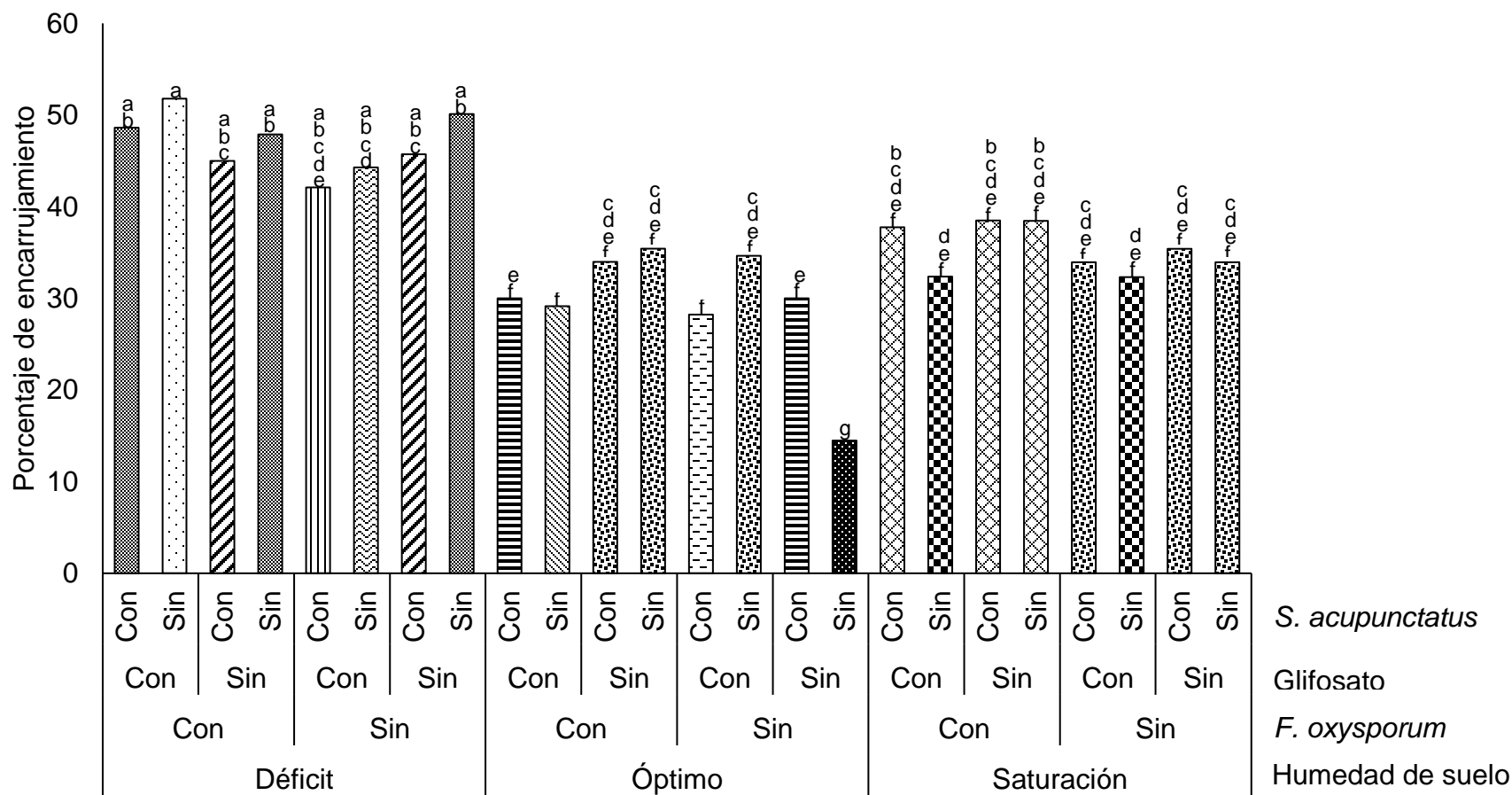


Figura 31. Efecto de interacción entre el nivel de humedad del suelo, la inoculación con *Fusarium oxysporum* la aplicación de glifosato la presencia del picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) sobre la altura al cogollo (cm) de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber, var. azul) en el experimento en condiciones de invernadero. Promedios de 4 repeticiones, a 180 d desde el inicio del experimento. Las medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, P = 0.05).



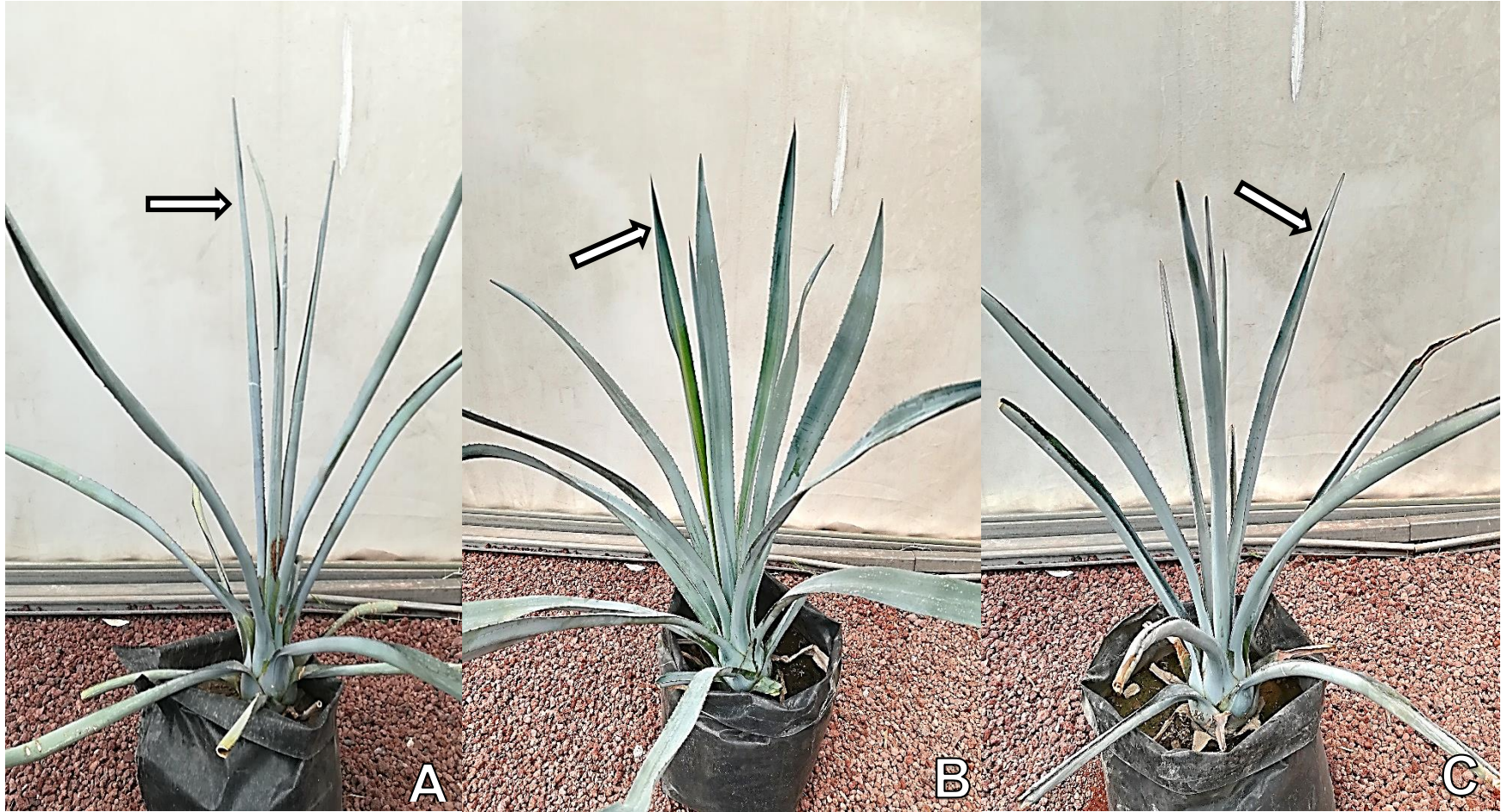


Figura 32. Expresión de síntomas de marchitez del agave tequilero (*Agave tequilana* Weber var. azul) con diferentes niveles de humedad en el suelo a 180 d del inicio del experimento. A) Planta mantenida con déficit de humedad recurrente, e inoculada con *F. oxysporum*, tratado con glifosato e infestación de *S. acupunctatus*. B) tratamiento con humedad óptima, no inoculado con *F. Oxysporum*, sin glifosato y sin *S. acupunctatus*. C) Planta mantenida bajo exceso de humedad recurrente, inoculada con *F. oxysporum*, tratada con glifosato y con *S. acupunctatus*.

En el caso del experimento mantenido bajo condiciones de cámara de crecimiento, con temperaturas moderadas y relativamente más constantes, no se detectó efecto de tratamientos (Cuadro 27) en la severidad de la marchitez.

Cuadro 27. Análisis de varianza del primer experimento<sup>&</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) e infección por el hongo *Fusarium oxysporum* sobre la severidad de la marchitez (porcentaje de encarrujamiento) de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var azul).

Efectos principales e interacciones*	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P > F
HUM	2	163.4584757	81.7292378	0.41	0.6627
HER	1	30.511419	30.511419	0.15	0.6955
HUM*HER	2	496.6045286	248.3022643	1.26	0.2906
PIC	1	44.0632425	44.0632425	0.22	0.6381
HUM*PIC	2	534.9751155	267.4875578	1.35	0.2646
HER*PIC	1	197.5857561	197.5857561	1	0.3206
HUM*HER*PIC	2	403.1027418	201.5513709	1.02	0.3656
FUS	1	133.3311418	133.3311418	0.68	0.4140
HUM*FUS	2	25.7397824	12.8698912	0.07	0.9370
HER*FUS	1	37.9692685	37.9692685	0.19	0.6624
HUM*HER*FUS	2	584.3264949	292.1632475	1.48	0.2347
PIC*FUS	1	305.4275518	305.4275518	1.55	0.2177
HUM*PIC*FUS	2	239.5760043	119.7880022	0.61	0.5480
HER*PIC*FUS	1	74.744549	74.744549	0.38	0.5404
HUM*HER*PIC*FUS	2	787.736979	393.8684895	1.99	0.1436

<sup>&</sup>Bajo condiciones de invernadero.

\*Factores: HUM (déficit, óptimo, saturación); HER (con glifosato, sin glifosato); PIC (con *S. acupunctatus*, sin la plaga); FUS (con *F. oxysporum*, sin el hongo).

#### 2.4.3.2. Diámetro de la piña (DPI)

En el caso del diámetro de las piñas (DPI), en el experimento bajo condiciones de invernadero solamente detectó efecto principal significativo de los factores Humedad y Picudo y no se detectaron interacciones (Cuadro 28). El DPI se redujo significativamente (Tukey P = 0.05) con respecto a los tratamientos bajo humedad óptima y exceso recurrente de agua de riego, cuando las plantas fueron sometidas a



estrés hídrico (67.1 cm vs 77.7 y 75.7 cm, respectivamente). Por su parte la infestación de las plantas con picudo del tallo redujo significativamente el DPI (70.9 vs 76.1 cm, respectivamente).

Cuadro 28. Análisis de varianza del primer experimento<sup>&</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) e infección por el hongo *Fusarium oxysporum* sobre el diámetro de la piña (DPI) de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var azul).

Efectos principales e interacciones*	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P > F
HUM	2	2019.31784	1009.65892	26.63	<.0001
HER	1	1.738817	1.738817	0.05	0.831
HUM*HER	2	43.172702	21.586351	0.57	0.5684
PIC	1	657.934817	657.934817	17.36	<.0001
HUM*PIC	2	160.153727	80.076864	2.11	0.1284
HER*PIC	1	46.53735	46.53735	1.23	0.2716
HUM*HER*PIC	2	65.667306	32.833653	0.87	0.4249
FUS	1	7.571267	7.571267	0.2	0.6563
HUM*FUS	2	50.670215	25.335107	0.67	0.5157
HER*FUS	1	2.561067	2.561067	0.07	0.7957
HUM*HER*FUS	2	102.721152	51.360576	1.35	0.2645
PIC*FUS	1	36.211267	36.211267	0.96	0.3317
HUM*PIC*FUS	2	76.320077	38.160039	1.01	0.3705
HER*PIC*FUS	1	34.177067	34.177067	0.9	0.3455
HUM*HER*PIC*FUS	2	76.708765	38.354382	1.01	0.3687

<sup>&</sup>Bajo condiciones de invernadero.

\*Factores: HUM (déficit, óptimo, saturación); HER (con glifosato, sin glifosato); PIC (con *S. acupunctatus*, sin la plaga); FUS (con *F. oxysporum*, sin el hongo).

En el caso del experimento bajo condiciones de cámara de crecimiento, no se detectaron efectos de tratamientos sobre el DPI (Cuadro 29).

Cuadro 29. Análisis de varianza del segundo experimento<sup>&</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) e infección por el hongo *Fusarium oxysporum* sobre el diámetro de la piña (DPI) de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var azul).

Efectos principales e interacciones*	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P > F
HUM	2	302.1868771	151.0934385	2.39	0.0988
HER	1	31.05375	31.05375	0.49	0.4856
HUM*HER	2	298.4017687	149.2008844	2.36	0.1016
PIC	1	3.9285042	3.9285042	0.06	0.8038
HUM*PIC	2	142.5853521	71.292676	1.13	0.3293
HER*PIC	1	16.3680167	16.3680167	0.26	0.6124
HUM*HER*PIC	2	115.0688021	57.534401	0.91	0.4070
FUS	1	2.9610375	2.9610375	0.05	0.8292
HUM*FUS	2	6.5056187	3.2528094	0.05	0.9499
HER*FUS	1	43.0944	43.0944	0.68	0.4117
HUM*HER*FUS	2	48.4551437	24.2275719	0.38	0.6830
PIC*FUS	1	21.9459375	21.9459375	0.35	0.5575
HUM*PIC*FUS	2	133.1010187	66.5505094	1.05	0.3542
HER*PIC*FUS	1	15.2960667	15.2960667	0.24	0.6242
HUM*HER*PIC*FUS	2	231.2221521	115.611076	1.83	0.1679

<sup>&</sup>Bajo condiciones de invernadero.

\*Factores: HUM (déficit, óptimo, saturación); HER (con glifosato, sin glifosato); PIC (con *S. acupunctatus*, sin la plaga); FUS (con *F. oxysporum*, sin el hongo).

#### 2.4.3.3. Otras variables.

Además de las variables antes reportadas se evaluó el número de hojas y la altura de las plantas, pero no se detectaron efectos concluyentes de los diferentes tratamientos evaluados (Cuadros 30 y 31).

Cuadro 30. Análisis de varianza del primer experimento<sup>&</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) e infección por el hongo *Fusarium oxysporum* sobre la altura al cogollo de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var azul).

Efectos principales e interacciones*	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P > F
HUM	2	452.4775	226.23875	9.82	0.0002
HER	1	33.2526042	33.2526042	1.44	0.2337
HUM*HER	2	54.8133333	27.4066667	1.19	0.3104
PIC	1	101.4759375	101.4759375	4.4	0.0394
HUM*PIC	2	147.7525	73.87625	3.21	0.0464
HER*PIC	1	0.4959375	0.4959375	0.02	0.8838
HUM*HER*PIC	2	332.8525	166.42625	7.22	0.1014
FUS	1	13.4251042	13.4251042	0.58	0.4479
HUM*FUS	2	106.0908333	53.0454167	2.3	0.1074
HER*FUS	1	0.4134375	0.4134375	0.02	0.8938
HUM*HER*FUS	2	41.3175	20.65875	0.9	0.4126
PIC*FUS	1	11.2751042	11.2751042	0.49	0.4866
HUM*PIC*FUS	2	11.9908333	5.9954167	0.26	0.7717
HER*PIC*FUS	1	75.7926042	75.7926042	3.29	0.0739
HUM*HER*PIC*FUS	2	4.4633333	2.2316667	0.1	0.9078

<sup>&</sup>Bajo condiciones de invernadero.

\*Factores: HUM (déficit, óptimo, saturación); HER (con glifosato, sin glifosato); PIC (con *S. acupunctatus*, sin la plaga); FUS (con *F. oxysporum*, sin el hongo).

Cuadro 31. Análisis de varianza del primer experimento<sup>&</sup> factorial para evaluar el efecto de la humedad del suelo, herbicida glifosato, picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) e infección por el hongo *Fusarium oxysporum* sobre la altura al cogollo de plantas de agave azul (*Agave tequilana* Weber var azul).

Efectos principales e interacciones*	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P > F
HUM	2	179.055625	89.5278125	2.02	0.1405
HER	1	0.375	0.375	0.01	0.9270
HUM*HER	2	376.609375	188.3046875	4.24	0.0181
PIC	1	0.54	0.54	0.01	0.9125
HUM*PIC	2	25.631875	12.8159375	0.29	0.7500
HER*PIC	1	85.50375	85.50375	1.93	0.1694
HUM*HER*PIC	2	54.045625	27.0228125	0.61	0.5467
FUS	1	41.8704167	41.8704167	0.94	0.3346
HUM*FUS	2	6.2977083	3.1488542	0.07	0.9316
HER*FUS	1	6.8266667	6.8266667	0.15	0.6961
HUM*HER*FUS	2	7.6939583	3.8469792	0.09	0.9171
PIC*FUS	1	8.8816667	8.8816667	0.2	0.6560
HUM*PIC*FUS	2	21.1414583	10.5707292	0.24	0.7887
HER*PIC*FUS	1	61.7604167	61.7604167	1.39	0.2420
HUM*HER*PIC*FUS	2	19.5827083	9.7913542	0.22	0.8025

<sup>&</sup>Bajo condiciones de invernadero.

\*Factores: HUM (déficit, óptimo, saturación); HER (con glifosato, sin glifosato); PIC (con *S. acupunctatus*, sin la plaga); FUS (con *F. oxysporum*, sin el hongo).

## 2.5. DISCUSIÓN

El agave tequilero es una planta adaptada a condiciones de aridez y tiene la capacidad de conservar agua durante los periodos de sequía (Nobel and Valenzuela 1987). Cuando hay restricción de humedad en el suelo, la planta inhibe la formación de raíces secundarias y obstruye los tejidos vasculares (Ramírez-Tobías *et al.*, 2014). Sin embargo, cuando la planta agota sus reservas hídricas, la respiración y la fotosíntesis se alteran negativamente (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006). Eventualmente, si el agua en el suelo se pierde de tal forma que las plantas no pueden compensar su pérdida por transpiración, las hojas pierden turgencia y se llega al punto en el que la

planta se marchita permanentemente (Campbell and Benson, 1994). Este marchitamiento la hace vulnerable al ataque de patógenos con origen el suelo como *Fusarium oxysporum* (Ahanger *et al.*, 2013).

Los síntomas como encarrujamiento y cambio en la coloración de las plantas inoculadas con *F. oxysporum*, observados en ambos experimentos concuerdan con los resultados de Ávila-Miranda *et al.*, (2010) quienes observaron estos síntomas a 90 d (encarrujamiento) y 150 d (cambio de color) después de la inoculación del hongo. Sin embargo, el enrollamiento de las hojas en la planta testigo, observado en nuestro trabajo, no es reportado en el trabajo de estos investigadores. Las diferencias en el comportamiento del experimento en condiciones de invernadero y condiciones de cámara de crecimiento se deben al régimen de temperaturas a que fueron expuestas las plantas. En el primer caso el rango y las temperaturas extremas fueron mayores, mientras en el segundo las plantas se mantuvieron bajo condiciones más favorables y menos cambiantes. La temperatura juega un rol primordial en los factores primarios que regulan los ciclos de infección (Nelson, 1981). Tanto en el experimento en condiciones de invernadero como en el experimento en cámara de crecimiento ocurrieron temperaturas adecuadas para el desarrollo de la infección por *F. oxysporum* (Navas-Cortés *et al.* 2007; Jiménez-Díaz *et al.* 2015), no obstante, las altas temperaturas y el estrés hídrico provocaron un desequilibrio fisiológico en la planta, lo cual incrementó su vulnerabilidad ante el efecto de la infección por *F. oxysporum*, la acción del glifosato y el picudo del agave (*S. acupunctatus*). Virgen-Calleros (2000) reportó que el proceso de infección de *F. oxysporum* se ve favorecido cuando la planta está bajo estrés hídrico, ya que las clamidosporas germinan cuando la humedad del suelo es menor o igual al 25%, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el

experimento bajo condiciones de invernadero, en el cual las plantas sometidas a déficit de humedad tuvieron los valores más elevados de severidad; en contraste con las plantas mantenidas bajo régimen óptimo de humedad, quienes tuvieron los valores más bajos debido a que las funciones fisiológicas no se resultaron severamente afectadas, lo cual permitió al agave tequilero tolerar el efecto de la interacción de los factores causantes de marchitez (Flores-López *et al.* 2016). Las plantas bajo exceso recurrente de humedad en el suelo mostraron valores intermedios en el porcentaje de encarrujamiento, lo cual difiere de lo reportado por Nelson (1981) quien afirma que *F. oxysporum* es un hongo que requiere de condiciones aeróbicas y de humedad en el suelo cerca de capacidad de campo para crecimiento óptimo y sobrevivencia, pero en condiciones de saturación o inundación se reduce su población. La sintomatología inducida por el glifosato coincide con lo reportado por Uvalle-Bueno y Vélez-Gutiérrez (2002) quienes observaron el encarrujamiento y la pérdida de turgencia de las hojas que entran en contacto con este herbicida. El modo de acción del glifosato es la inhibición de la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato-sintasa (Duke, 2003), la cual bloquea la ruta del ácido shikímico e inhibe la formación de reguladores de crecimiento y fitoalexinas, lo cual, deja a la planta sin defensas y vulnerable al ataque de *F. oxysporum* (Kremer *et al.*, 2007). Adicionalmente, el hongo puede degradar varios componentes antifúngicos generados por las plantas (Leslie and Summerell 2006). Los daños provocados por *S. acupunctatus* coinciden con los reportados por Aquino *et al.*, (2007) quienes observaron que el adulto se encuentra con frecuencia en la base de las hojas cercanas al cogollo y en ocasiones en la base del tallo y en la raíz principal. Los daños causados por la alimentación del insecto provocan que la planta no pueda translocar agua y nutrientes, esto deriva en una disminución en el tamaño y calidad de



las piñas; además de que las galerías y las raspaduras pueden ser invadidos por microorganismos saprófitos y patógenos, los cuales pueden inducir síntomas de marchitamiento en las plantas (Rubio, 2011).

## **2.6 CONCLUSIONES**

Condiciones de sequía recurrente favorecieron el desarrollo de síntomas de marchitez independientemente de la acción de los factores Herbicida (glifosato), *Fusarium* (*F. oxysporum*) y Picudo. Estos factores a su vez incrementaron el marchitamiento de las plantas de agave con respecto al testigo no tratado y bajo condiciones óptimas de humedad, pero el grado de encarrujamiento en general no llegó a ser tan intenso como el causado por la sequía.

La inundación periódica de los suelos incrementó el encarrujamiento a niveles intermedios a los observados bajo condiciones óptimas de humedad y bajo sequía.

Es recomendable continuar las evaluaciones en los experimentos establecidos en el presente trabajo de tesis, los cuales llevan una duración de 180 d, ya que es posible que los efectos de tratamiento se manifiesten con mayor claridad en fechas subsecuentes, de acuerdo con lo reportado por otros autores.

## 2.7 REFERENCIAS

- Ahanger, R. A., Bhat, H. A., Bhat, T. A., Ganie, S. A., Lone, A. A., and Imtiyaz, A. 2013. Impact of climate change on plant diseases. *Int. J. Mod. Plant Anim. Sci.* 1:105–115.
- Aquino Bolaños, T., Iparraguirre Cruz, M. A., and Ruiz Vega, J. 2007. *Scyphophorus acupunctatus* (=interstitialis) Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). Plaga del agave mezcalero: Pérdidas y daños en Oaxaca, México. *Rev. Cient. UDO Agric.* 7:175–180.
- Ávila-Miranda, M. E. ., López-Zazueta, J. G. ., Arias-Castro, C., Rodríguez-Mendiola, M. A., Guzmán-de Peña, Doralinda Vera-Núñez, J. A., and Peña-Cabriales, J. J. . 2010. Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Weber var. azul). *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 12:166–180.
- Booth C, 1971. *The Genus Fusarium*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute.
- Campbell, C.L. and Benson, D.M. *Epidemiology and Management Root Disease*. North Carolina State University. Department of Plant Pathology. 334 pags.
- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2005. *Plagas y enfermedades del Agave tequilana* Weber var Azul. Ed. Pandora. Impreso en México. 123p.
- Duke, S.O., Baerson, S.R., and Rimando, A.M. 2003. Herbicides: glyphosate. In: Plimmer, J.R., Gammon, D.W., Ragsdale, N.N. (Eds.), *Encyclopedia of Agrochemicals*,. John Wiley & Sons, New York.
- Figuroa-Castro, P., Solís-Aguilar, J. F., González-Hernández, H., Rubio-Cortés, R., Herrera-Navarro, E. G., Castillo-Márquez, L. E., *et al.* 2013. Population Dynamics of *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) on Blue

- Agave. Florida Entomol. 96:1454–1462.
- Flores-López, H. E., Chávez-Durám, Á. A., Ruíz-Corral, J. A., de la Mora-Orozco, C., and Rodríguez-Moreno, V. M. 2016. Efecto del cambio climático sobre las zonas de riesgo por marchitez en el Agave tequilana Weber variedad Azul en Jalisco. Rev. Mex. ciencias agrícolas. :2497–2510.
- Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., Jiménez-Gasco, M. del M., Landa, B. B., and Navas-Cortés, J. A. 2015. *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. Crop Prot. 73:16–27.
- Kremer, R. J., Means, N. E., and Kim, S. 2007. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere micro-organisms. Int. J. Environ. Anal. Chem. 85:1165–1174.
- Leslie, J. F., and Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. 1st Edition. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Martínez R. J. L., Vázquez G. M., Pimienta B. E., Bernal M. F., Flores M. F., Ibarra D. R., Torres M. P., Cuevas C. H., Martín del Campo M. N., Rodríguez R. R. y Virgen C. G. 1998. Proyecto: Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber var. Azul. Revista Mexicana de Fitopatología 16: 116.
- Navas-Cortés, J. A., Landa, B. B., Méndez-Rodríguez, M. A., and Jiménez-Díaz, R. M. 2007. Quantitative Modeling of the Effects of Temperature and Inoculum Density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* Races 0 and 5 on Development of *Fusarium* Wilt in Chickpea Cultivars. Phytopathology. 97:564–573.

- Nelson, P. E. 1981. Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: fungal wilt diseases of plants. Mace, M. E.; Bell, A. A. and Beckman, C. H. (Eds.). Academic Press Inc. New York, USA.
- Nobel, P. S., and Valenzuela, A. G. 1987. Environmental responses and productivity of the CAM plant, *Agave tequilana*. *Agric. For. Meteorol.* 39:319–334.
- Pimienta-Barrios, E., Zañudo-Hernández, J., García-Galindo, J., Pimineta, E., Zañudo, J., and Garcia, J. 2006. Seasonal Photosynthesis in Young Plants of *Agave tequilana*. *Agrociencia*.
- Ramírez-Tobías, H. M., Peña-Valdivia, C. B., and Aguirre, J. R. 2014. Respuestas bioquímico-fisiológicas de especies de agave a la restricción de humedad. *Bot. Sci.* 92:131–139.
- Rubio C., R. 2007. Enfermedades del cultivo de agave. p. 169-195 In Rulfo V., F. O. et al. (ed.). *Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de Agave tequilana Weber en la zona de denominación de origen del tequila*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. Tepatlán, Jalisco.
- Rubio, C. R. 2011. Evolución histórica y situación actual del daño de Picudo en el cultivo del agave azul tequilero p 79-85. In *Memorias del 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero*. Guadalajara, Jalisco.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill.

- Tlapal Bolaños, B., González Hernández, H., Zavaleta Mejía, E., Sánchez García, P., Mora Aguilera, G., Nava Díaz, C., et al. 2014. Colonización de *Trichoderma* y *Bacillus* en Plántulas de *Agave tequilana* Weber, var. Azul y el Efecto Sobre la Fisiología de la Planta y Densidad de *Fusarium*. Rev. Mex. Fitopatol. 32:62–74.
- Uvalle-Bueno, J. X., and Vélez-Gutiérrez, C. 2002. Selectividad fisiológica de herbicidas en *Agave tequilana* Weber. :317–322.
- Virgen-Calleros, G. 2000. Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber, var. Azul. Departamento de producción agrícola. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Informe técnico para el programa general de apoyo y desarrollo tecnológico a la cadena productiva agave-tequila.