

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSTGRADO EN FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

EPIDEMIOLOGÍA REGIONAL DE LA MANCHA GRIS DEL AGAVE AZUL (*Cercospora agavicola*) EN JALISCO, MÉXICO

JUAN JOSÉ CORIA CONTRERAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2019

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y 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 Juan José Coria Contreras, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe 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 Gustavo Mora Aguilera, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Epidemiología regional de la mancha gris del agave azul (Cercospora agavicola) en Jalisco, México

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 30 de enero de 2019



Firma del
Alumno (a)



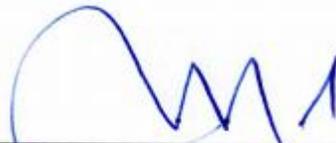
Dr. Gustavo Mora Aguilera
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Epidemiología regional de la mancha gris del agave azul (*Cercospora agavicola*) en Jalisco, México**, realizada por el alumno: **Juan José Coria Contreras** 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



Dr. Gustavo Mora Aguilera

ASESORA



Dra. María de Jesús Yañez Morales

ASESOR



MC. Ramón Rubio Cortes

EPIDEMIOLOGÍA REGIONAL DE LA MANCHA GRIS DEL AGAVE AZUL (*Cercospora agavicola*) EN JALISCO, MÉXICO

Juan José Coria Contreras, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

Cercospora agavicola, agente causal de la mancha gris del agave azul (*Agave tequilana*), es un hongo reglamentado bajo control oficial en estados bajo Denominación de Origen del Tequila (DOT). El trabajo se desarrolló en Jalisco, México, para determinar la inductividad epidémica espacio-temporal del hongo y desarrollar un sistema de muestreo-monitoreo regional a través de metodologías y herramientas tecnológicas aplicables a nivel regional para generar modelos probabilísticos de pronóstico con fines de manejo preventivo de la mancha gris. De octubre 2016 a diciembre 2017, en 41 parcelas establecidas en plantaciones comerciales de Los Altos (20), Valles (11) y Sur (10), se evaluó mensualmente la severidad en planta, incidencia y número de plantas enfermas con el uso de App-SIVEA v1.1, un muestreo sistemático de 1x3 y una escala logarítmica diagramática de 7 clases: 0 (Sana), 2 (0.1–3), 6 (3.1–13), 22 (13.1–43), 65 (43.1–77), 85 (77.1–91) 100 (Planta muerta) % de daño en planta totalizando 134,316 mediciones. Al menos nueve municipios de Los Altos tuvieron el mayor riesgo epidémico. Sin embargo, bajas tasas epidémicas (0.0008-0.006 unidades semana-1), fuerte restricción de contagio (1-4 plantas), reducido incremento anual de incidencia (0-32 plantas/0.5 ha) y nula captura de esporas, evidenciaron baja aptitud parasítica y epidémica del hongo. Por lo tanto se encontró limitada capacidad predictiva aun con los mejores modelos generados (R^2_{adj} 0.51-0.60). La variable horas favorables permitió establecer dos ventanas inductivas siendo la de enero-abril, la más consistente por lo que puede integrarse como algoritmo preventivo en SIVEA (www.sivea.org.mx). Las pérdidas regionales, bajo los parámetros epidémicos establecidos, estimaron entre 98.01 MDD y 237 mil dólares americanos. Cercosporina, toxina asociada al género *Cercospora*, puede estar implicada en el progreso temporal lineal atípico y debe integrarse en futuras investigaciones.

Palabras clave: Modelos; App-SIVEA v1.1; Inductividad epidémica; Weibull; ABCPE.

**REGIONAL EPIDEMIOLOGY OF THE GRAY SPOT OF AGAVE BLUE
(*Cercospora agavicola*) IN JALISCO, MEXICO**

Juan José Coria Contreras, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

Cercospora agavicola, the causal agent of the gray spot of blue agave (*Agave tequilana*), is a regulated fungus under official control in states under the Tequila Denomination of Origin (DOT). The work was carried out in Jalisco, Mexico, to determine the spatial-temporal epidemic inducibility of the fungus and to develop a regional sampling-monitoring system through methodologies and technological tools applicable at a regional level to generate probabilistic models of prognosis for preventive management purposes of the gray spot. From October 2016 to December 2017, in 41 plots established in commercial plantations of Los Altos (20), Valles (11) and Sur (10), the severity of the plant, incidence and number of diseased plants was evaluated monthly with the use of App -SIVEA v1.1, a systematic sampling of 1x3 and a diagrammatic logarithmic scale of 7 classes: 0 (Sana), 2 (0.1-3), 6 (3.1-13), 22 (13.1-43), 65 (43.1-77), 85 (77.1-91) 100 (Dead plant)% of plant damage totaling 134,316 measurements. At least nine municipalities in Los Altos had the highest epidemic risk. However, low epidemic rates (0.0008-0.006 units week⁻¹), strong restriction of contagion (1-4 plants), reduced annual increment of incidence (0-32 plants / 0.5 ha) and no spore capture, showed low aptitude parasitic and epidemic of the fungus. Therefore, limited predictive capacity was found even with the best generated models (R^2_{adj} 0.51-0.60). The variable favorable hours allowed the establishment of two inductive windows, being the one of January-April, the most consistent, so it can be integrated as a preventive algorithm in SIVEA (www.sivea.org.mx). The regional losses, under the established epidemic parameters, estimated between 98.01 MDD and 237 thousand US dollars. Cercosporin, a toxin associated with the genus *Cercospora*, may be involved in atypical linear temporal progress and should be integrated into future research.

Keywords: Models; App-SIVEA v1.1; Epidemic inductivity; Weibull; ABCPE.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca proporcionada para la manutención y colegiatura durante el periodo del posgrado.

Al Colegio de Postgraduados por mantenerse como una de las instituciones líderes en ciencias agrícolas y por permitir realizar mis estudios de posgrado.

Al SENASICA y DGSV-CNRF, Al Ing. Rigoberto González, Dr. Abel López Buenfil por el apoyo y vinculación para el desarrollo de esta investigación

Al equipo CP-LANREF, por su apoyo incondicional en el desarrollo del proyecto de investigación. En especial a mis compañeros, Coral, Laura, Baldemar, Gerardo, Eduardo, Oscar, Verónica, Edgar y Cecilia por compartir sus conocimientos para la adquisición de nuevos conocimientos y técnicas.

Al Consejo Regulador del Tequila por facilitar el acceso a datos históricos de incidencia de mancha gris del agave para el inicio del proyecto.

Al Dr. Gustavo Mora Aguilera por hacer posible mi crecimiento profesional a través de esfuerzo y dedicación constante y su persuasión en la visión del paradigma epidemiológico y el desarrollo de la ciencia.

A mis asesores Dra. María de Jesús Yáñez Morales y MC. Ramón Rubio Cortes, por sus aportaciones y sugerencias para el enriquecimiento de este trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A mis padres Honoría Contreras y Carlos Coría, por la educación que me dieron para ser un hombre de bien, su amor, apoyo incondicional y aliento para siempre seguir superándome a cumplir mis metas.

A mis hermanos Ernesto, Martín, Juan Carlos, Samuel, Otoniel y Yahír por apoyarme en todo mi trayecto de estudios y confiar en mí en todo momento.

A Verónica Martínez, por estar conmigo y apoyarme día a día a seguir superándome.

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA	vii
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Importancia del cultivo de agave en México.....	4
1.2 Problemática fitosanitaria.....	5
1.3 Importancia económica de la plaga.....	6
1.4 Clasificación taxonómica de <i>C. agavicola</i>	7
1.5 Descripción morfológica.....	7
1.6 Sintomatología.....	8
1.7 Aspectos fisiológicos y epidemiológicos del tizón foliar.....	9
1.8 Distribución de la mancha gris del agave.....	11
1.9 Estudio epidemiológico de enfermedades.....	12
1.9.1 Uso de escalas diagramáticas.....	12
1.9.2 Uso de Apps móviles para el monitoreo epidemiológico.....	13
1.9.3 Monitoreo epidemiológico de enfermedades.....	14
1.9.4 Monitoreo de inóculo ambiental.....	16
1.10 Manejo de la enfermedad.....	20
LITERATURA CITADA.....	21
CAPÍTULO I. SISTEMAS DE MUESTREO Y EVALUACIÓN DE <i>C. agavicola</i> APLICABLES A UN SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA.....	30
RESUMEN	30
2.1 INTRODUCCIÓN.....	31
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
2.2.1 Elaboración de la escala: Caso mancha gris del agave (<i>Cercospora agavicola</i>).....	33
2.2.2 Validación de la escala logarítmica diagramática.....	33
2.2.3 Diseño de un sistema de muestreo parcelario.....	34

2.2.4	App-SIVEA 1.1 como herramienta de evaluación de enfermedades: caso mancha gris	34
2.2.5	Validación de App-SIVEA 1.1: Caso mancha gris del agave	37
2.3	RESULTADOS	38
2.3.1	Elaboración de la escala: Caso mancha gris	38
2.3.2	Validación de la Escala logarítmica diagramática	40
2.3.3	Diseño de un sistema de muestreo parcelario	43
2.3.4	Validación de App-SIVEA 1.1: Caso <i>C. agavicola</i>	45
2.4	DISCUSIÓN	48
2.5	CONCLUSIÓN	49
2.6	LITERATURA CITADA	51
CAPITULO II. EPIDEMIOLOGÍA REGIONAL APLICADA A LA CARACTERIZACIÓN INDUCTIVA Y PRONÓSTICO DE LA MANCHA GRIS DEL AGAVE AZUL (<i>Cercospora agavicola</i>) EN JALISCO, MÉXICO		54
	RESUMEN	54
	ABSTRACT	55
2.1	INTRODUCCIÓN	56
2.2	MATERIALES Y MÉTODOS	57
2.2.1	Red de monitoreo e inductividad epidémica regional	57
2.2.2	Diagnóstico molecular de <i>C. agavicola</i>	60
2.2.3	Variables de evaluación	60
2.2.4	Caracterización de epidemias, análisis espacial y temporal	61
2.2.5	Detección de focos con dron	62
2.2.6	Desarrollo de modelos de pronóstico	62
2.2.7	Selección de variables independientes	62
2.2.8	Selección de variables dependientes	63
2.3	RESULTADOS	64
2.3.1	Caracterización del hongo	64
2.3.2	Inductividad epidémica regional	65
2.3.3	Caracterización de epidemias	66
2.3.4	Análisis Espacial	67
2.3.5	Análisis Temporal	70
2.3.6	Modelos de Pronóstico	73
2.4	DISCUSIÓN	76
2.5	CONCLUSIONES	78
2.6	LITERATURA CITADA	80

CONCLUSIONES GENERALES	85
RECOMENDACIONES	89
ANEXOS	85
ANEXO 1. MATRIZ REG-N PARA ANÁLISIS DE ÁREAS DE INDUCTIVIDAD REGIONAL	91
ANEXO 2. DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE TRAMPA PARA UREDOSPORAS DE ROYA DEL CAFETO BAJO LOS PRINCIPIOS DE IMPACTACIÓN, DEPOSICIÓN Y ESCURRIMIENTO	97
2.1 INTRODUCCIÓN	97
2.2 CRITERIOS PARA EL DISEÑO DE LA TRAMPA	99
2.3 DESARROLLO DEL PROTOTIPO	100
2.3.1 Superficie horizontal para captura por deposición	101
2.3.2 Simulador de un mini-túnel de viento para colecta por impacto	101
2.3.3 Soporte de acero	102
2.4 LITERATURA CITADA	104
ANEXO 3. PROTOCOLO: COLECTA TEJIDO VEGETAL PARA ANÁLISIS BIOLÓGICOS DE MANCHA GRIS (<i>CERCOSPORA AGAVICOLA</i>) EN EL CULTIVO DE AGAVE TEQUILANA WEBER DE LA REGIÓN DE JALISCO	106
3.1 INTRODUCCIÓN	106
3.2 OBJETIVO	106
3.3 CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA A MUESTREAR	106
3.4 CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO A MUESTREAR	107
3.5 ESPECIFICACIONES DEL PROCESO DE COLECTA	107
3.6 PROCESAMIENTO EN LABORATORIO	109
3.7 FORMULACIÓN DE MEDIOS PARA EL AISLAMIENTO Y REPRODUCCIÓN DEL HONGO 112	
3.8 REFERENCIAS	113
ANEXO 4. PROTOCOLO AP PARA EXTRACCIÓN DE ADN (<i>Cercospora</i>)	114
ANEXO 5. PROGRESO TEMPORAL DEL DAÑO CAUSADO POR LA MANCHA GRIS DEL AGAVE (<i>Cercospora agavicola</i>), RELACIONADO CON VARIABLES CLIMÁTICAS (HUMEDAD RELATIVA Y TEMPERATURA) POR REGIÓN/SITIO DE MONITOREO EN SIVEA DE OCTUBRE 2016 A DICIEMBRE, 2017	115
6.2 REGIÓN LOS ALTOS	116
6.3 REGION VALLES	127
6.4 REGIÓN SUR	133
ANEXO 6. INPUTS PARA EL DESARROLLO DE MODELOS EN SAS	139
6.1 INPUT para el desarrollo de modelos temporales Weibull	139
6.2 Input para el desarrollo de modelos de pronóstico	140

LISTA DE CUADROS

CAPÍTULO I

- Cuadro 1.** Comparativo de parámetros entre cuatro procesos de validación de una escala logarítmica diagramática con soporte cualitativo de siete clases para evaluar la severidad de planta de la mancha gris del agave..... 40
- Cuadro 2.** Matriz de correlación de ocho evaluadores (*E*) de la severidad de mancha gris mediante una escala logarítmica diagramática y soporte cualitativo de siete clases..... 40

CAPITULO II

- Cuadro 1.** Localización de 41 parcelas de monitoreo en plantaciones comerciales de agave azul de 3-4 años de edad seleccionadas por criterio de inductividad epidémica para el estudio regional de la mancha gris, y condición inicial (Y_0) de ocurrencia de la enfermedad representado por número de plantas sintomáticas (P_{enf}) y severidad promedio de planta enferma ($SProm$) por parcela. Jalisco, México. 2016-2017..... 58
- Cuadro 2.** Variables dependientes e independientes para generar modelos estocásticos de pronóstico de cambios de intensidad de la enfermedad mancha gris del agave azul en Jalisco, México. 63
- Cuadro 3.** Parámetros de ajuste del modelo Weibull e Índice de Daño (ID) de curvas de proporción estandarizada de severidad (Y_4) de 14 epidemias seleccionadas regionalmente para estimar la tasa de epidémica ($1/b$) e intensidad epidémica (ID) inducida por *C. agavicola* en Jalisco, México. 2016-2017..... 71
- Cuadro 4.** Modelos estocásticos seleccionados para el pronóstico en dos ventanas de inductividad, VI1 (enero-abril) y VI2 (junio-octubre), del incremento absoluto de la sumatoria de plantas enfermas (Y_2) de mancha gris del agave azul en tres regiones agaveras de Jalisco. 2016-2017..... 73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Zona geografía de denominación de origen del tequila (DOT), conformada por 181 municipios en Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas.....	5
Figura 2. Síntomas de daño ocasionado por <i>C. agavicola</i> , en una plantación de agave azul de 3 años en Arandas, Jalisco. A) Síntomas iniciales en hojas cercanas al cogollo de la planta. B) Inclinación de la hoja dañada inicialmente y avance de daño. C) Amarillamientos generalizados de la planta, declinación y secamiento del cogollo. D) Muerte de la planta enferma (LANREF-CP).	9
Figura 3. Representación teórica de la participación de la cercosporina en la sintomatología causada por <i>C. agavicola</i> (Modificado de Daub y Chung 2007).	11
Figura 4. Esporas de <i>H. vastatrix</i> capturadas en tres trampas pasivas y una volumétrica en el Soconusco, Chiapas. TIDE. Imp=Impactación por viento, Dep=Deposición Y Esc=Escurrimiento; TIH=Trampa pasiva de Impacto Horizontal; TIV=Trampa pasiva de Impacto Vertical; Vol=Trampa Volumétrica. Créditos Mora-Aguilera <i>et al.</i> 2014.	18
Figura 5. Fluctuación semanal de conidios de <i>C. agavicola</i> capturadas con trampas volumétricas tipo Burkard en 4 subregiones de Jalisco. A-B) Conidios capturadas en Tepatitlán y Acatic en el periodo 2006-2007. C-D) Conidios capturados Zapolititc y Tecalitlan en el periodo 2007-2008.	19

CAPÍTULO I

Figura 1. Diseño conceptual de los módulos y funciones que componen App-SIVEA 1.1	36
Figura 2. Componentes básicos de la App-SIVEA 1.1.1. A) Caracterización del predio. B) Configuración del sistema de muestreo y la escala que se usará para la evaluación de severidad. C) Área de evaluación multiplaga, planta por planta de enfermedades del agave. D) Área de búsqueda de parcelas evaluadas para la observación del resumen por cuadrante y enfermedad.	37
Figura 3. Escala logarítmica diagramática de 7 (0-6) clases donde el cero indica una planta sana y el 100% indica una planta muerta por <i>Cercospora agavicola</i> . La escala cuenta con el rango y punto medio en porcentaje de daño. Se complementa con una descripción cualitativa del daño número de hojas dañadas e inclinación y apariencia del cogollo por cada clase de severidad.....	39
Figura 4. Análisis de correlación de la severidad estimada por cada evaluador contra la moda de la severidad en planta obtenida de ocho evaluadores	

	empleando una escala logarítmica diagramática con soporte cualitativo de siete clases para evaluar severidad de la mancha gris.	41
Figura 5.	Análisis comparativo de la precisión, exactitud, y reproducibilidad de las escalas SIVEA, CRT-SENASICA y Subcomité Fitosanitario-CRT, se incluye la desviación estándar representada por la barra vertical.	42
Figura 6.	Análisis comparativo de nueve diseños de muestreo sistemático respecto al censo. Se indica el número de plantas que se evaluaron por cada modelo de monitoreo y el censo. Las barras de error indican la desviación estándar que hubo entre las repeticiones de la evaluación.	43
Figura 7.	Representación de un sistema de muestreo sistemático 1X3 en un área de 70X70 m a partir de un foco central, con un arreglo de 1x2 entre surco (13 surcos) y 1x3 entre plantas (21 plantas/surco) con un total de 273 plantas a monitorear para aplicarse a la evaluación a la mancha gris en el modelo SIVEA.	44
Figura 8.	Procedimiento general para la caracterización y registro de una parcela de monitoreo. A) Obtención y registro automatizado de coordenadas a través del sistema GPS del smartphone. B) Llenado del formulario de caracterización de predio. C) Verificación y guardado de la caracterización de la parcela.	45
Figura 9.	Procedimiento general para definir el patrón de muestreo y el número de clases que se va emplear. A) Ventana inicial de la sección Evaluar, cuenta con el apartado de registro de escalas, definir muestreos y un apartado para la selección de la parcela de monitoreo a evaluar. B) Ventana de registro de una nueva escala. C) Ventana de registro de un nuevo sistema o patrón de muestreo.	47
Figura 10.	Vista principal de la plataforma SIVEA para la gestión de datos de evaluaciones enviadas desde la App-SIVEA v1.1 (www.sivea.org.mx).	48

CAPÍTULO II

Figura 1.	Árbol filogenético de muestras colectadas en 13 sitios de monitoreo en las regiones Los Altos (10), Sur (2) y Valles (1).	65
Figura 2.	Mapa de inductividad epidémica de <i>Cercospora agavicola</i> estimado con un indicador multivariado de ocurrencia de enfermedad (2012-2015), clima, tipología de suelo y superficie municipal de agave azul (<i>Agave tequilana</i>). Parcelas de monitoreo epidémico (puntos blancos) en plantaciones de agave comerciales de 3-4 años de edad. Jalisco, México. .	66
Figura 3.	Patrón espacial en las fases epidémicas Y0 y Ymax en tres parcelas comerciales seleccionadas por el mayor número de plantas enfermas en tres regiones agaveras de Jalisco, México. Y0 para Altos y Sur fue octubre 2016; Y0 en Valles noviembre 2016. Ymax en Altos y Sur Junio y Julio 2017, respectivamente; Valles septiembre 2017.	68

- Figura 4.** A. Imagen RGB capturada las 13 horas a 220 m de altura en vuelo centroide-vertical sobre una hectárea de agave azul de 3 años con incidencia de mancha gris en Arandas, Jalisco. B. Imagen procesada en ArcGis para estimación del número de plantas e incidencia de plantas enfermas. Censo terrestre: 3600 plantas vs Censo estimado por análisis de imagen: 3717. Incidencia censada vs estimada: 40.5 y 38.3%, respectivamente. Notar la discontinuidad dentro de surcos (ausencia de color verde o pérdida del bandeo) representando focos simples o coalescentes de enfermedad. 69
- Figura 5.** Progreso epidémico en 14 parcelas comerciales de agave en Jalisco, México. Proporción estandarizada acumulada de severidad en planta para A) Altos, B) Sur y C) Valles. Proporción estandarizada acumulada del número de plantas enfermas para D) Altos, E) Sur y F) Valles. 72
- Figura 6.** Curvas epidémicas de la sumatoria del número de plantas enfermas de agave azul con mancha gris en 8, 3 y 3 parcelas de monitoreo para Los Altos, Sur y Valles, respectivamente (líneas). Número acumulado por semana de horas favorables para la infección *C. agavicola* obtenidas de marzo 2016 a dic 2017 (barras). A) Ventana de inductividad epidémica correspondiente al periodo enero-abril 2017 (VI_1). B) Ventana de inductividad epidémica correspondiente al periodo jun-oct 2017 (VI_2). 75

INTRODUCCIÓN GENERAL

México ostenta la denominación de origen del tequila (DOT) desde 1970. Actualmente, conformada por cinco estados (Jalisco, Guanajuato, Nayarit, Michoacán y Tamaulipas), 181 municipios con una superficie sembrada de 81,053 ha de *Agave tequilana* Weber var. azul. En 2017, se tuvo una producción aproximada de 2 millones de toneladas con un valor de 14 mil mdp (SIAP 2018). Sin embargo, problemas agronómicos y fitosanitarios pueden poner en riesgo una de las industrias de mayor importancia en el país. Entre los que se encuentra la mancha gris del agave cuyo agente causal fue reportado por primera vez en 2005 como *Cercospora agavicola* (Ayala-Escobar et al., 2005) en Pénjamo, Guanajuato. A partir de esta detección se hicieron reportes de la enfermedad en zonas productoras de Jalisco y Nayarit. Derivado de la incidencia de esta y otras plagas del agave, en 2013 se implementó por parte del gobierno federal, la campaña contra plagas reglamentadas del agave para los estados que comprenden la DOT.

A partir de la década de los 90's, los inventarios productivos del agave en Jalisco han sido fuertemente afectados por factores fitosanitarios entre los que destacan el picudo (*Scyphophorus acupunctatus*), la marchitez por *Fusarium* spp, y la mancha gris causada por *Cercospora agavicola*. Ante los recurrentes desabastos de hijuelos para siembra y la tendencia creciente del precio de la piña (tallo del agave) se ha incrementado el volumen de hijuelos movilizados dentro y entre estados, acrecentando los riesgos fitosanitarios, por lo que es importante fortalecer el monitoreo y muestreo en el marco de la Campaña Contra Plagas Reglamentadas del Agave (SENASICA, 2017).

Actualmente, una de las preocupaciones de productores es la dificultad del control de *C. agavicola*, por lo que, este trabajo se enfocó a estudiar la mancha gris del agave en Jalisco, donde históricamente se han reportado daños en las regiones de Los Altos (Acatic, San Juan de los Lagos, Tepatitlán y Yahualica), Valles (Amatitán, Ahualulco, Arenal, Magdalena, San Juanito de Escobedo y Tequila), Sur (Autlán, El Grullo, El Limón y Unión de Tula) y Sierra Occidental (Atenguillo, Mascota y Mixtlán) (Rubio, 2007).

La infección del hongo, ocurre aparentemente en los periodos de octubre a marzo, en condiciones favorables con humedad relativa $\geq 80\%$ y temperatura media entre 15 y 22 °C (Ángeles-Espino et al., 2016; Valencia, 2011; Rubio, 2007). La infección primaria causa lesiones negras, ovaladas de hasta 1-3 cm, generalmente en el tercio medio-superior de hojas no expandidas del cogollo. La enfermedad se desarrolla rápidamente, produciendo manchas coalescentes, deprimidas grisáceas y termina con el colapso del cogollo y muerte de planta.

La severidad es una de las medidas de intensidad de enfermedad requerida para estudios epidemiológicos que soporten técnica y científicamente las medidas de manejo y control. Para lo cual se requiere evaluar con mayor precisión el porcentaje de área sintomática respecto a la unidad de planta, flor, hoja, tallo, etc. (Madden et al., 2007; Nutter et al., 2006). Que permitan el desarrollo de alertas en un sistema de vigilancia epidemiológica fitosanitaria.

La vasta mayoría de metodologías publicadas para el estudio del comportamiento epidémico de enfermedades, emplean principios pero con métodos tradicionales (Del Ponte et al., 2017). Los cuales, pueden ser restrictivos para programas a gran escala. Sin embargo, el auge tecnológico está orientado al uso de herramientas tecnológicas, para efficientizar el monitoreo epidemiológico (Guzmán-Hernández et al., 2017). Así mismo, el desarrollo de tecnologías de programación “web” y comunicación digital mediante telefonía móvil permite optimizar el registro y transferencia desde campo a bases de datos para la gestión de “big data” como una herramienta de innovación en la epidemiología fitosanitaria para operar programas de ámbito regional o nacional, permitiendo trabajar grandes poblaciones en tiempo real y aumentando la posibilidad de análisis eficientes para la oportuna toma de decisiones (Casacuberta 2013; Dias Porto-Chiavegatto Filho 2016). Estos métodos de registro se han empleado en el PVEF-Cafeto por más de cinco años (www.royacafe.lanref.org.mx) permitiendo mayor operatividad de las metodologías y efectividad en tiempo de respuesta a emergencias fitosanitarias (SENASICA 2017).

El sistema SIVEA (www.sivea.org.mx) generó una aplicación móvil Android para registrar *in situ* severidad, densidad de plagas-enfermedades y variables agronómicas

del cultivo de agave, que permite integrar el número de clases, de diversas escalas diagramáticas de evaluación, además de múltiples sistemas de muestreo y número de plantas a evaluar en el patosistema Agave-mancha gris.

Este estudio comprende la validación de App-SIVEA v1.1, a través del uso de escalas logarítmicas diagramáticas y sistemas de muestreo en atención a la premisa de que es posible pronosticar el proceso infeccioso primario de *C. agavicola*, a través de factores agroclimáticos espacio-temporales como la temperatura y humedad relativa ambiental. Por lo cual, se propuso caracterizar atributos espacio-temporales a nivel parcelario-región, con el fin de comprender procesos de dispersión, prevalencia e intensidad epidémica aplicables a la generación de alertas tempranas para fortalecer el manejo preventivo de la mancha gris del agave.

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Importancia del cultivo de agave en México

El agave es un género endémico de América, del cual se conocen aproximadamente 200 especies, de estas, 150 se encuentran en México. Este género se distribuye en aproximadamente 75% del territorio mexicano, debido a su adaptabilidad edafoclimática. La mayor diversidad de especies de agave se encuentra en regiones áridas y semiáridas en el centro y norte de la República Mexicana. Su densidad disminuye en condiciones cálidas y de alta humedad relativa ambiental como el sur y Golfo de México (García-Mendoza 2007).

El cultivo de agave en México representa gran importancia económica debido a la variedad de productos y subproductos que se pueden elaborar con las diferentes especies como son: bebidas (tequila, mezcal, pulque, bacanora, comiteco, etc.), fructanos (inulina), fibras y recientemente se menciona la posibilidad de usar agave para producir bioetanol (Carrillo-Trueba 2007; Robles *et al.* 2012; Rodríguez-Hernández 2016). De todas las especies de agave, el *Agave tequilana* Weber var. azul tiene la mayor importancia económica, por ser la materia prima para la industria del tequila, una de las bebidas de mayor importancia a nivel nacional y mundial. Dicho cultivo, genera un gran número de empleos en toda la cadena desde el campo hasta el consumidor final (Nava-Cruz *et al.* 2015).

A nivel mundial, México ostenta la Denominación de Origen del Tequila (DOT) conformada por algunos municipios de Guanajuato (7), Jalisco en su totalidad (125) Michoacán (30), Nayarit (8) y Tamaulipas (11) (Figura 1). Estos representan el 73.4% (81,053 ha) de siembra nacional de *A. tequilana*, del cual Jalisco aporta el 79.6% (64,499 ha) (CRT 2007; SIAP 2018). La DOT a través de la industria tequilera genera de forma directa una derrama económica regional estimada en \$1,600 millones de pesos anuales y representa el sustento de 70,000 familias (SIAP 2016).



Figura 1. Zona geografía de denominación de origen del tequila (DOT), conformada por 181 municipios en Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas.

1.2 Problemática fitosanitaria

La incidencia y severidad de plagas y enfermedades en la DOT históricamente se ha incrementado por diversas causas, entre las que destacan: concentración y estandarización tecnológica agrícola por grandes empresas tequileras, movilidad regional de material de siembra infestado, estrés por uso de herbicidas, eventual empleo de planta producida *in vitro*, y variaciones en las regiones de temperatura y precipitación (Rubio 2007; Vásquez 2011; Mora-Aguilera *et al.* 2014a).

El subcomité fitosanitario del Consejo Regulador del Tequila (CRT) en acuerdo con el SENASICA han establecido como problemas prioritarios para su inclusión en Campañas Fitosanitarias al picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal), marchitez del agave (*Fusarium oxysporum* Schldl), mancha gris del agave (*Cercospora agavicola* Ayala-Escobar) y pudrición blanda del cogollo atribuida a *Pectobacterium carotovora* (Jones) Waldee, que de manera individual o en combinación reducen la producción y calidad de agave, lo que afecta negativamente la relación costo-beneficio (SENASICA 2017). La mancha gris se observó desde los años 90's sin que ocasionara daños significativos a los agavicultores. Sin embargo, en 2003-2004 se reportaron epidemias de moderada a alta intensidad (Valencia 2011). En 2003, a partir de la incidencia de sintomatología típica de mancha gris en predios de agave de Pénjamo, Guanajuato se identificó a *C. agavicola* Ayala-Escobar con base en características morfométricas y moleculares (Ayala-Escobar *et al.* 2005). Esta enfermedad se presentó en los periodos de octubre a marzo y con condiciones favorables de humedad relativa (HR) superior al 80% y de 15 y 22 °C. La enfermedad es caracterizada por causar lesiones ovaladas y secas de color gris en hojas cercanas al cogollo (Rubio 2007; Ángeles-Espino 2016). A partir de su primer reporte en 2000-2003, la enfermedad se detectó en Jalisco en la región de Los Altos, en algunos municipios de la zona sur (Zacoalco), en la zona Centro y Valles (Ahuatlulco de Mercado y San Juanito Escobedo) y en 2004 se reportaron brotes en Tequila, Jalisco e Ixtlán del Río en Nayarit (Rubio y Cervantes 2006).

1.3 Importancia económica de la plaga

Las especies fúngicas del género *Cercospora*, representan uno de los grupos de fase asexual más grandes pertenecientes al estado sexual de la familia Mycosphaerellaceae (Ascomycota). La mayoría de estos patógenos causan manchas foliares de relevancia fitopatológica (Braun *et al.* 2014). Se han reportado pérdidas de 15-20% promedio con máximos de 60% en el cultivo de la soja (*Glycine max*) ocasionadas por *C. sojina* Hara en Brasil, Nigeria y Zambia (Sinclair 1989), en Zambia, de 33% (Mwase y Kapooria 2000), en Estados Unidos de Norte América, 35% (Cruz and Dorrance 2009) y en

Argentina se reportaron incidencias de hasta 100% con severidad de 30-60% (Carmona *et al.* 2009).

C. agavicola causa una enfermedad difícil de controlar cuando el daño se presenta en la mayoría de las hojas y llega a la piña de la planta. Sin embargo, cuando las condiciones climáticas dejan de ser favorables para el hongo se detiene el desarrollo del proceso infeccioso, pero no se elimina el daño, y el hongo presumiblemente se mantiene latente. Los daños iniciales se han encontrado en plantas de 2 y 3 años de edad considerándose esta etapa óptima para el control de la enfermedad, de lo contrario, de acuerdo a la edad e intensidad del daño puede ocasionar la muerte de las plantas en dos a seis meses a partir de la aparición de síntomas (Rubio 2007). En campo eventualmente se observan síntomas en hijuelos asociados a la planta madre o en nuevas plantaciones, evidenciando el rol que pueden tener en la diseminación del hongo (LANREF 2017 No publicado).

1.4 Clasificación taxonómica de *C. agavicola*

Taxonómicamente el hongo que causa la enfermedad mancha gris o tizón foliar se clasifica de la siguiente manera (NCBI, 2018):

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Pezizomycotina

Clase: Dothideomycetes

Subclase: Dothideomycetidae

Orden: Mycosphaerellales

Familia: Mycosphaerellaceae

Género: *Cercospora*

Especie: *Cercospora agavicola*

1.5 Descripción morfológica

El hongo presenta hifas moderadamente ramificadas, de 1.5-5 µm de ancho, septadas y subhialinas. Estroma desarrollado, inmerso y en ocasiones algo errupente, de 20-150

μm de diámetro, compuesto de células de hifas hinchadas, de 3 a 8 μm de ancho, color café. Conidióforos en fascículos laxos, pequeños a moderadamente grandes, erectos, divergentes, subcilíndricos-filiformes a flexuosos-sinuosos, no ramificados, ocasionalmente con constricciones e hinchazones, de 20-100 \times 3-6(-7) μm (con alta humedad pueden ramificarse ampliamente y medir hasta 200 μm), pluriseptados, inicialmente subhialinos, posteriormente oliváceos, café oliváceo a café claro, a menudo más claro o pálido hacia el ápice y paredes delgadas. Células conidiogénicas integradas, terminales de 10-40 μm de largo. Conidios solitarios subcilíndricos, de (35-)40-100(-120) \times 3-5.5 μm , con (0-)3-8 septos, hialinos, con pared delgada, con ápice obtuso, algunas veces con hinchadas, de 1.5-2.5 micras de ancho (Ayala-Escobar *et al.* 2005).

1.6 Sintomatología

Virgen *et al.* (2005) describe los síntomas como manchas foliares en las pencas que inician generalmente en las pencas medias, desde donde avanza hasta llegar al cogollo de las plantas infectadas. Una particularidad de esta enfermedad es que las manchas se decoloran a medida que avanza hacia las hojas del cogollo, mientras que en las hojas externas las manchas se vuelven blanquecinas; al centro de la lesión se observan los bordes café-rojizos, en el centro de las lesiones se pueden observar cuerpos fructíferos de color gris correspondiente a esporodoquios. Los síntomas también pueden presentarse como manchas foliares rígidas en la base de las pencas centrales, con el tiempo la infección avanza hasta llegar al cogollo (SENASICA-LANREF 2014) (Figura 2). La planta puede tornarse amarillenta y las lesiones avanzadas pueden ocasionar que el cogollo se incline, por ende la muerte de la planta. Las pencas muertas contienen estructuras reproductivas del hongo que eventualmente pueden constituirse en una fuente de inóculo.



Figura 2. Síntomas de daño ocasionado por *C.agavicola*, en una plantación de agave azul de 3 años en Arandas, Jalisco. A) Síntomas iniciales en hojas cercanas al cogollo de la planta. B) Inclinación de la hoja dañada inicialmente y avance de daño. C) Amarillamientos generalizados de la planta, declinación y secamiento del cogollo. D) Muerte de la planta enferma (LANREF-CP).

1.7 Aspectos fisiológicos y epidemiológicos del tizón foliar

La enfermedad afecta principalmente a plantas de 1 a 3 años, pero resulta más severa en individuos de mayor edad (CESAVEG 2008). La infección se estima que inicia

durante la época de lluvias (finales de julio a agosto), continúa un período de incubación y la manifestación de los síntomas se observan a partir de octubre. La temperatura óptima para el desarrollo de *C. agavicola*, está en el rango de 15 a 22°C. Eventos de lluvia son requeridos en el proceso de germinación, sin embargo, las neblinas y el rocío pueden ser suficientes para la infección (Rubio 2007; Valencia 2011).

Un aspecto de importante para el manejo de la enfermedad es entender la activación de la cercosporina en agave. En general se reporta su activación entre 22–25°C y su inhibición a temperaturas arriba de 30°C (Jenns *et al.* 1989). Esta actúa como un agente fotosensibilizador en las células vegetales, lo que provoca daños en la membrana y pérdida de electrolitos causando la muerte celular. La acumulación de la toxina puede ser favorecida por altas concentraciones de nitrógeno (Ehrenshaft and Upchurch 1992; Williamson and Scandalios 1992; Daub and Ehrenshaft 2000) (Figura 3). Una toxina no específica, es un metabolito secundario que puede causar parte de los síntomas de una enfermedad inducida por un patógeno (Franco-Navarro y Zavaleta-Mejía 2001).

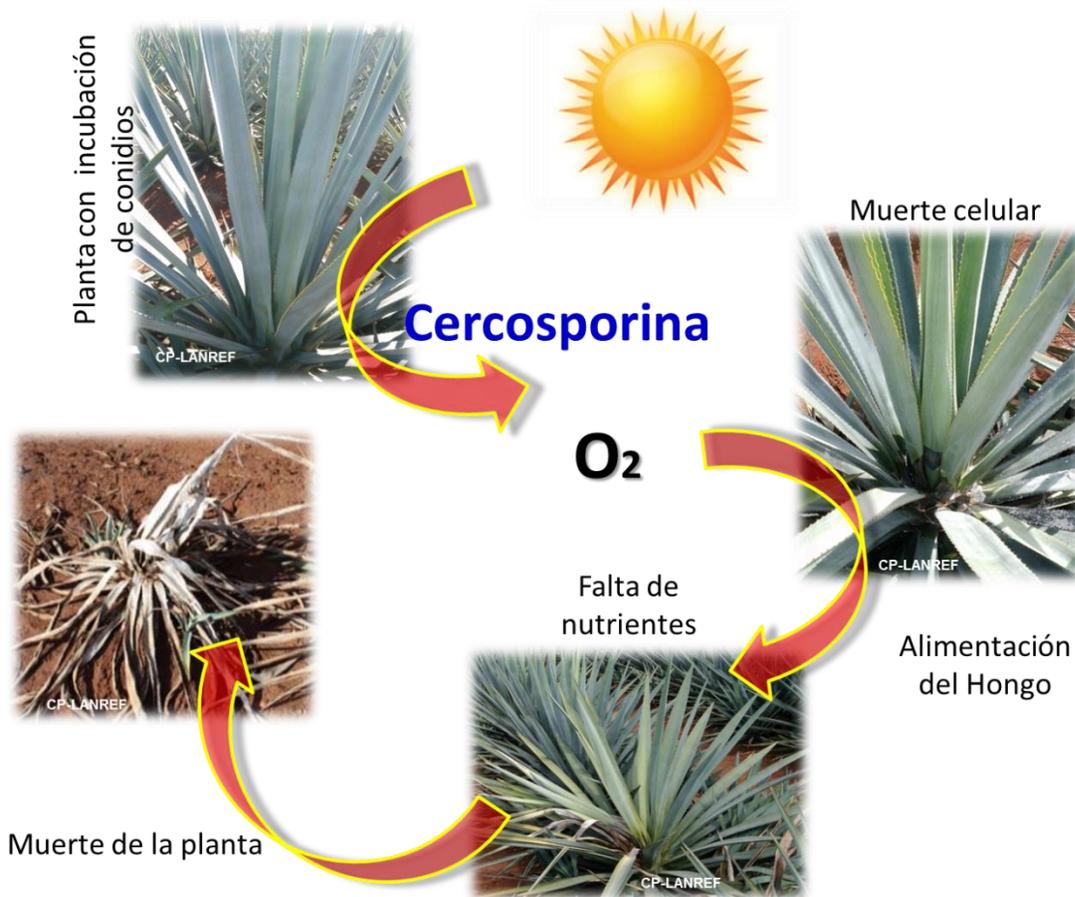


Figura 3. Representación teórica de la participación de la cercosporina en la sintomatología causada por *C. agavicola* (Modificado de Daub y Chung 2007).

1.8 Distribución de la mancha gris del agave

En México, se han reportado daños causados por este hongo en regiones agaveras de Jalisco como Altos (Acatic, San Juan de los Lagos, Tepatitlán y Yahualica), Valles (Amatitán, Ahualulco, Arenal, Magdalena, San Juanito de Escobedo y Tequila), Sur (Autlan, El Grullo, El Limón y Unión de Tula) y Sierra Occidental (Atenguillo, Mascota y Mixtlán), (Rubio 2007). La distribución actual se puede encontrar en www.sivea.org.mx, el cual es una plataforma de vigilancia y control del SENASICA. Ver sección 1.9.3. para la descripción del sistema.

1.9 Estudio epidemiológico de enfermedades

1.9.1 Uso de escalas diagramáticas

El estudio epidemiológico de plagas y enfermedades tiene como base la medición del daño en un cultivo y su relación con factores medioambientales incluyendo el clima, manejo agronómico entre otros factores. (Campbell and Madden 1990). Para la evaluación del daño en general se emplean escalas pictográficas o diagramáticas con el fin de estandarizar los criterios de evaluación. Las escalas diagramáticas basadas en el principio de Webner-Fechner, pueden reducir la subjetividad y aumentar la confiabilidad de las estimaciones de severidad que causa la enfermedad, dado que permiten establecer clases con base en un sistema logarítmico que elimina la designación arbitraria de clases Martins *et al.* 2004; Zavala y Alejo 2012; Belan *et al.* 2014). Estas escalas están sustentadas en pruebas estadísticas de exactitud, precisión y reproducibilidad (Mora-Aguilera *et al.* 2000a). La exactitud representa la proximidad entre el valor de la media poblacional y la media muestral; la precisión, mide la variabilidad de los valores estimados respecto a los verdaderos, esta es estimada por el coeficiente de determinación y por la varianza de los errores absolutos; y la reproducibilidad es el grado de similitud entre sucesivas mediciones realizadas (Campbell and Madden 1990; Nutter *et al.*, 1991).

El uso de escalas logarítmicas diagramáticas implican la representación pictográfica de la severidad de un daño en n categorías o clases. Su implementación en estudios epidemiológicos ha permitido la estimación del daño con alta precisión y exactitud (Zavala y Alejo 2012; Ortega-Acosta *et al.* 2016; Del Ponte *et al.*, 2017. El número de clases de la escala depende del objetivo de un estudio. Sin embargo, si se requiere caracterizar el comportamiento epidémico lo adecuado pueden ser 5-7 clases, mientras que para estudios de estimación de pérdidas pueden ser de 7 a 9 escalas. Un número reducido de clases (p.e. 3) puede reducir la precisión de la evaluación impidiendo además la correcta conformación de una curva epidémica Mora-Aguilera *et al.*, 2000a). En mancha gris, el empleo de una escala se incluye en la campaña contra plagas del agave. Esta es de 3 clases incluyendo la condición sana y es de tipo nominal (SENASICA 2017). Este tipo de escalas son útiles para el diagnóstico de

distribución y ocurrencia, pero restrictivo para estudios de pronóstico y toma de decisiones.

1.9.2 Uso de Apps móviles para el monitoreo epidemiológico

En la actualidad la tecnología ha sido un factor importante en la oportuna toma de decisiones para el manejo preventivo de plagas y enfermedades. El auge tecnológico está encaminado al uso de smartphones, con aplicaciones móviles que permitan eficientizar el monitoreo epidemiológico (Guzmán-Hernández *et al.* 2017). Los avances en el procesamiento de imágenes aplicados en la evaluación del daño tiene perspectivas en la epidemiología. La necesidad de realizar evaluaciones cada vez más rápidas, precisas y confiables ha permitido el desarrollo de aplicaciones para teléfonos móviles y computadoras de escritorio, con el fin de estimar el porcentaje de área dañada a partir de una imagen fotográfica de un órgano de planta o imágenes satelitales, a través del análisis colorimétrico de patrones espaciales (Pethybridge and Nelson 2015, 2018; Nelson *et al.* 2017) desarrollaron una aplicación móvil que permite la evaluación de severidad de diversas enfermedades mediante la comparación de imágenes fotográficas de campo con un repositorio precargado de imágenes de la misma enfermedad. La aplicación se ha empleado para evaluar la severidad que causa *Cercospora beticola* Sacc. en hojas de *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*, donde se encontró coeficientes de determinación y correlación de 0.79 y 0.99, respectivamente. En estos casos las evaluaciones quedan almacenadas en el teléfono móvil. LANREF-CP ha desarrollado aplicaciones móviles que permiten emplear una escala de severidad o ingreso de unidades absolutas de daño como número de hojas dañadas. El registro de datos de campo se realiza sin conexión a internet o señal telefónica por lo que pueden almacenarse temporalmente, el envío de datos se hace vía internet a una plataforma web donde se integran a una base de datos para su análisis. Ejemplos sobre estas aplicaciones son **AppVEFCafe v2.2**, que opera a nivel nacional en el Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria del Cafeto en México (www.royacafe.lanref.org.mx), y la **App-SIVEA v1.1** que se usa en el Sistema de Vigilancia Epidemiológica del Agave (www.sivea.org.mx) las cuales registran 50 y 25

variables respectivamente, estas incluyen, daño, fenología y manejo (Guzmán-Hernández *et al.* 2017).

1.9.3 Monitoreo epidemiológico de enfermedades

El monitoreo de plagas y enfermedades, además de la evaluación del daño o el organismo puede incluir diferentes factores intrínsecos del cultivo, como manejo agronómico y fitosanitario, edad, altura (msnm), ubicación del área de estudio (latitud y longitud), variables de daño, inóculo, variables climáticas, entre otras. Cuando se desea realizar un manejo fitosanitario basado en criterios epidemiológicos para toma de decisiones. El paradigma del monitoreo epidemiológico, se basa en la sanidad de la planta como eje integrador y no únicamente la plaga u organismo causante de la enfermedad, principios clásicos de la Fitosanidad (Mora-Aguilera *et al.* 2014a). Otra implicación del nuevo paradigma es que la ausencia del patógeno en una región o área no es limitante para un manejo preventivo mediante una epidemiología orientada al análisis de riesgo (Mora-aguilera *et al.* 2014b). La epidemiología convencional de una enfermedad implica el estudio a partir de focos de infección bajo el principio de protección. Sin embargo, esta visión reactiva resulta restrictiva e insustentable y requiere complementarse con la aplicación de una estrategia preventiva. Adicionalmente un enfoque regional es una estrategia operativa y metodológica viable para acciones de control coordinadas por el sector oficial y/o actores productivos (Mora-Aguilera *et al.* 2013). La epidemiología regional se basa en analizar la variabilidad de factores del sistema epidemiológico involucrados en el comportamiento epidémico de una enfermedad (es), con el fin de generar índices, parámetros epidémicos y alertas tempranas de riesgo basadas en modelos probabilísticos o estocásticos. Por lo tanto un estudio epidemiológico con enfoque regional requiere la integración de los subsistemas del sistema epidemiológico mediante la evaluación de variables del hospedante, patógeno/plaga, clima, manejo, suelo y otros factores específicos al problema fitosanitario en estudio (Mora-Aguilera *et al.* 2014a; Flores-Sánchez *et al.* 2012).

El monitoreo epidemiológico se ha empleado en diversos cultivos como el café (*Coffea arabica* L.) para el estudio simultáneo de más de 10 plagas y enfermedades de importancia económica y cuarentenaria con énfasis en la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.). Este es un programa oficial de DGSV-SENASICA que tiene el apoyo de técnico-científico de CP-LANREF (www.royacafe.lanref.org.mx). El programa opera a nivel regional en los principales estados productores de café en México (SENASICA 2017). Otros estudios semejantes se han realizado en el marco del sistema nacional de monitoreo y vigilancia de la roya del cafeto en Guatemala (ANACAFE 2015). Montes y colaboradores (2012), evaluaron la incidencia y severidad de *Cercospora coffeicola* en 30 plantas en 8 parcelas demostrativas en La Cauca, Colombia con diferentes tipos de manejo y relacionaron con variables climáticas. Reportaron una asociación de la incidencia de la enfermedad con la humedad relativa y temperatura ambiental (18-19°C y humedad >80%). Estos resultados coinciden con trabajos realizados por Coelho *et al.* (2010). Otros patosistemas donde se han realizado estudios regionales para la predicción de cambios en la intensidad de la enfermedad son *C. soijina* (Carmona *et al.* 2009) y *Pseudocercospora opuntia* en Morelos (Hernández-Sánchez *et al.* 2014), entre otros.

A la fecha no existen estudios epidemiológicos cuantitativos publicados sobre el comportamiento temporal parcelario o regional de *C. agavicola*. Casa Sauza y Herradura en 2006-2007 realizaron estudios conjuntos de la dinámica temporal de esporas de *C. agavicola* (Rubio-Cortes. Casa Sauza comunicación personal). Ver sección 1.9.4 para información complementaria. En 2013 el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) con base en el “Acuerdo por el que se establece la campaña y las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para controlar y en su caso erradicar el picudo del agave, así como disminuir el daño de las enfermedades asociadas a dicha plaga en la Zona de Denominación de Origen Tequila” (SAGARPA 2013), implementó la Campaña contra Plagas Reglamentadas del Agave en los estados de Jalisco, Guanajuato, Michoacán, Nayarit y Tamaulipas, con el objetivo de reducir los niveles de infestación del picudo del agave y enfermedades reglamentadas a fin de garantizar el abasto de la cadena productiva agave-tequila. El

SENASICA (2017) en convenio con el Consejo Regulador del Tequila (CRT) actualizó e implementó el Manual Operativo de la Campaña Contra Plagas Reglamentadas del Agave (www.sivea.org.mx) con los siguientes objetivos:

- a) Determinar la distribución de plagas reglamentadas del agave.
- b) Reducir los daños de plagas reglamentadas del agave.
- c) Establecer medidas de manejo que de manera paulatina favorezcan el confinamiento y supresión de las plagas reglamentadas del agave.
- d) Controlar oportunamente los focos de infestación de las plagas reglamentadas del agave.
- e) Establecer como obligatorio el uso de material propagativo libre de picudo y enfermedades reglamentadas del agave.
- f) Lograr el reconocimiento de Zonas Libres: Zonas Agroecológicas, Municipios o Estados Libres de picudo del agave.

En 2016 en el marco del citado convenio se estableció un proyecto de investigación con investigadores del Colegio de Postgraduados (COLPOS) para desarrollo de metodologías epidemiológicas para implementar el Sistema Integral de Vigilancia Epidemiológica del Agave (SIVEA) con operación en línea en <http://www.sivea.org.mx/web/index.php>. El sistema en una primera etapa contó con 108 sitios de monitoreo distribuidos en todo el estado de Jalisco, implementado con el objetivo de coadyuvar en la vigilancia epidemiológica de las principales plagas y enfermedades del agave azul (Acevedo-Sánchez *et al.* 2017; Coria-Contreras *et al.* 2017; García-Martínez *et al.* 2017a, 2017b; Guzmán-Hernández *et al.* 2017; Hernández-Hernández *et al.* 2017; Jiménez-González *et al.* 2017; López-Bautista *et al.* 2017; Mendoza-Ramos *et al.* 2017; Mora-Aguilera *et al.* 2017; Santana-Peñaloza *et al.* 2017).

1.9.4 Monitoreo de inóculo ambiental

Los estudios aerobiológicos son importantes para entender la dispersión del inóculo o propágulos de un fitopatógeno y su efecto en los procesos epidémicos bajo la

presunción de que es el viento el principal factor de dispersión (Mora-Aguilera *et al.* 2000b, 2013; Ramos y Meza, 2017).

Desde el punto de vista de la climatología-agrícola, algunos fenómenos como convecciones térmicas, inversiones o situaciones de turbulencia, inciden en la acumulación y transporte de partículas en la atmósfera, aumentando o disminuyendo sus niveles en la misma (Almaguer *et al.* 2008). A través del monitoreo aerobiológico se puede identificar el momento ideal para implementar diferentes medidas de manejo para el cultivo (Almaguer *et al.* 2012).

De acuerdo al monitoreo de esporas con una trampa volumétrica de esporas tipo Burkard (Gadoury y MacHardy 1983) realizado por Vásquez-López (2012), se reportaron periodos específicos de la liberación de esporas de *Fusarium* spp. y *Alternaria* sp. durante mayo-octubre en cultivo de papaya (*Carica papaya*) en Huamuxtlán, Guerrero. Así mismo, se logró identificar patrones diurnos de liberación de conidios de estos hongos. Coria-Contreras y colaboradores en 2014, realizaron trabajos de monitoreo de esporas en el Soconusco Chiapas, donde utilizó trampas pasivas de impacto deposición y escurrimiento (TIDE) (Mora-Aguilera *et al.*, 2014b) y una trampa volumétrica para comparar resultados. En las trampas pasivas, específicamente en el dispositivo de deposición, se capturó la mayor cantidad de esporas de *Hemileia vastatrix*, mientras que la trampa volumétrica obtuvo la menor captura, solo por encima del dispositivo de escurrimiento (Figura 4). Coria-Contreras y colaboradores en 2014, a través del monitoreo de esporas con TIDEs encontraron que el periodo de liberación de urediniosporas estuvo entre los meses Agosto-2013 a Mayo-2014 con picos de mayor densidad en los meses de diciembre y febrero. En México no se observaron gradientes de dispersión regional tomando como base la región de Guatemala como potencial fuente de contagio, fortaleciendo la premisa de una dispersión localizada.

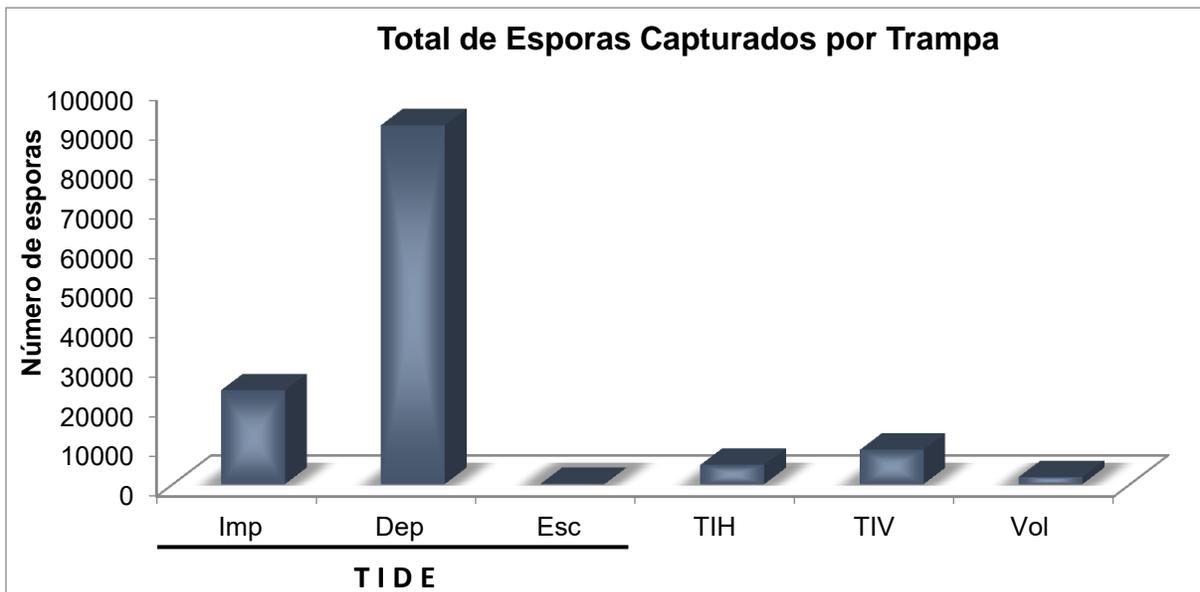


Figura 4. Esporas de *H. vastatrix* capturadas en tres trampas pasivas y una volumétrica en el Soconusco, Chiapas. TIDE. Imp=Impactación por viento, Dep=Deposición Y Esc=Escurrimiento; TIH=Trampa pasiva de Impacto Horizontal; TIV=Trampa pasiva de Impacto Vertical; Vol=Trampa Volumétrica. Créditos Mora-Aguilera *et al.* 2014.

Casa Sauza en conjunto con Casa Herradura, realizaron trampeo de esporas de *C agavicola* a través de trampas volumétricas. Los trabajos se realizaron en dos periodos y cuatro subregiones. Durante 2006-2007, se realizó el monitoreo en Los Altos de Jalisco en una parcela de Tepatitlán y otra de Acatic. Los resultados obtenidos fueron picos de liberación de conidios en el periodo septiembre-diciembre, con la mayor captura en Acatic con un pico máximo de 204 conidios en la tercera semana de octubre 2006. El siguiente periodo fue 2007-2008 en Zapoltitic y Tecalitlán, en este último se observó un pico de 39 conidios en la segunda semana de octubre.

En general el periodo de mayor densidad de conidios en el aire en los dos periodos fue septiembre-diciembre (Figura 5). Estos estudios permiten entender la mayor inductividad en la región de Los Altos (Rubio-Cortés. Datos no publicados).

1.10 Manejo de la enfermedad

Una de las estrategias que se han utilizado para el manejo de la mancha gris es la aplicación de bencimidazoles (benomil). Sin embargo para evitar resistencia del hongo sugiere alternar o mezclar productos como los elaborados a base de trifloxystrobin y pyraclostrobin. La aplicación de sulfato de cobre pentahidratado es otro de los ingredientes activos comúnmente utilizada para retrasar la enfermedad y los daños de la misma, (Valencia 2011) a través de aplicaciones cada 15 días cuando inician los síntomas. El uso de un fungicida sistémico mezclado con un fungicida de contacto en una o dos aplicaciones durante la época más crítica (septiembre a marzo), posterior a la época de lluvias y el inicio del invierno es otra estrategia (Rubio 2007).

Los agricultores, de manera preventiva realizan aplicaciones de cal agrícola a la parte central de la planta para evitar la acumulación de humedad y evitar la germinación del hongo. Sin embargo, empíricamente los productores han observado que una vez establecida la infección del hongo el control, aun con productos sistémicos es poco eficiente lo que los ha obligado al uso de fuego directo sobre lesiones jóvenes y eventualmente la planta completa con el uso de productos inflamables como aceite automotriz quemado (usado) o gasolina. Esto sugiere la necesidad de comprender el de la toxina y su relación biológica con el hongo.

A nivel de laboratorio se ha inoculado al hongo para descifrar el comportamiento infectivo del hongo. Angeles-Espino y colaboradores (2016) irradiaron con rayos Gamma Co^{60} hojas de plántulas de agave, con el fin de activar mecanismos de defensa en la planta. Evaluó el comportamiento de las lesiones a diferentes dosis de radiación para seleccionar las plántulas con mayor resistencia al hongo.

LITERATURA CITADA

1. Acevedo-Sánchez G, Santana-Peñalosa B, López-Bautista V, Martínez-Bustamante V, Coria-Contreras J, Mendoza-Ramos C, Jiménez-González L y Mora-Aguilera G. 2017. Criterios epidemiológicos para implementar una red de monitoreo de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. en regiones agaveras de Jalisco. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 176-177.
2. Almaguer-Chávez M, Rojas-Flores T, Dobal-Amador V, Batista-Mainegra A, Rives-Rodríguez N, Jesús-Aira M, Hernández-Lauzardo AN and Hernández-Rodríguez A. 2012. Aerobiological dynamics of potentially pathogenic fungi in a rice agroecosystem in La Habana, Cuba. *Aerobiologia* 28: 177. doi.org/10.1007/s10453-011-9222-2
3. Almaguer M, Rojas TI. y Hernández A. 2008. Perspectivas de los estudios aeromicológicos para la protección del cultivo del arroz. *Revista de Protección Vegetal* 23(3): 137-143. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522008000300001&lng=es&tlng=es.
4. Ángeles-Espino A, Virgen-Calleros G, Valencia-Botín J, Ramírez-Serrano C, Paredes-Gutiérrez L y Hurtado de la Peña S. 2016. Evaluación no destructiva de la patogenicidad de *Cercospora agavicola* en vitroplántulas de agave azul tequilero irradiadas con rayos gamma Co⁶⁰. *Acta Universitaria* 26(6): 3-10. doi:10.15174/au.2016.1121
5. Asociación Nacional del Café (ANACAFE). 2015. Sistema nacional de monitoreo y vigilancia de la roya (Abril). Boletín especial CEDICAFE. <http://docplayer.es/63995434-Boletin-especial-cedicafe-sistema-nacional-de-monitoreo-y-vigilancia-de-la-roya-reporte-a-abril-de-con-el-apoyo-de-pcvr.html>.
6. Ayala-Escobar V, Yañez-Morales M, Braun U, Groenewald JZ and Crous PW. 2005. *Cercospora agavicola* a new foliar pathogen of *Agave tequilana* var. azul from Mexico. *Mycotaxon* 93:115-121.

7. Belan LL, Pozza EA, Freitas MLO, Souza RM, Jesus-Junior WC and Oliveira JM. 2014. Diagrammatic scale for assessment of bacterial blight in coffee leaves. *Journal of Phytopathology* 162:801-810. doi.org/10.1111/jph.12272.
8. Braun U, Crous WP and Nakashima C. 2014. Cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) 2 Species on monocots (Acoraceae to Xyridaceae, excluding Poaceae). *International Mycological Association* 5(2): 203-390. doi:10.5598/imafung.us.2014.05.02.04
9. Campbell CL. and Madden LV. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons. New York, USA. p.532
10. Carmona M, Scandiani M and Luque A. 2009. Severe outbreaks of soybean frog-eye leaf spot in the Pampean Region, Argentina. *Plant Disease* 93(9): 966.
11. Carrillo-Trueba LA. 2007. Los destilados de agave en México y su denominación de origen. *Ciencias* 87: 41-49.
12. CESAVERG. 2008. Campaña Del Manejo Fitosanitario Del Agave Tequilero. Folleto Técnico. http://www.cesaveg.org.mx/html/folletos/folletos_08/folleto_agave_08.pdf
13. Coelho-Souza AG, Avila-Rodrigues F, Antonio-Maffia L and Gomide-Mizubuti AS. 2010. Infection Process of *Cercospora coffeicola* on Coffee Leaf. *J. Phytopathology* 159: 6-11. doi: 10.1111/j.1439-0434.2010.01710.x.
14. Coria-Contreras J, Acevedo-Sánchez G, Mendoza-Ramos C, Jiménez-González L, Santana-Peñaloza B, Delgado-Mora F, García-Martínez C y Mora-Aguilera G. 2017. Epidemiología regional de la mancha gris del agave (*Cercospora agavicola*) en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 176.
15. Coria-Contreras J, Mora-Aguilera G, Martínez-Bolaños M, Guzman-Deheza A, Acevedo-Sánchez G y Flores-Sánchez J. 2014. Fluctuación estacional de uredosporas de *Hemileia vastatrix* en el Soconusco, Chiapas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32: 42.
16. CRT (Consejo Regulador del Tequila). 2007. Denominación de Origen. <http://crtequila.blogspot.com/2007/01/denominacin-de-origen.html>

17. Cruz CD and Dorrance AE. 2009. Characterization and survival of *Cercospora sojina* in Ohio. Online. Plant Health Progress. doi:10.1094/PHP-2009-0512-03-RS
18. Daud ME and Ehrenshaft M. 2000. The Photoactivated *Cercospora* toxin cercosporin: Contributions to plant disease and fundamental biology. Annual Review of Phytopathology 38: 461-490.
19. Daud ME and Chung KR. 2007. Cercosporin: A phytoactivated toxin in plant disease. doi:10.1094/APSnetFeature/2007-0207.
20. Del Ponte EM, Pethybridge SJ, Bock CH, Michereff SJ, Machado FJ and Spolti P. 2017. Standard area diagrams for aiding severity estimation: Scientometrics, pathosystems, and methodological trends in the last 25 years. Phytopathology 107(10):1161-1174.
21. Ehrenshaft M and Upchurch RG. 1992. Nitrate and plant extracts modulate cercosporin accumulation. Phytopathology 82:1166 (Abstr.)
22. Flores-Sánchez J, Mora-Aguilera G, Velázquez-Monreal JJ, López-Arroyo JI, Loeza-Kuk E, Hernández R, Domínguez-Monge S y Acevedo-Sánchez G. 2012. Caracterización epidemiológica del HLB en Colima con énfasis en el subsistema manejo. In Memorias del 3º Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing p: 61-62. 9-11, Diciembre. Veracruz, México.
23. Franco-Navarro F y Zavaleta-Mejía E. 2001. Estado actual del conocimiento acerca del modo de acción de las toxinas no selectivas. Revista Mexicana de Fitopatología 19(2): 237-244.
24. Gadoury DM and MacHardy WE. 1983. A 7-day recording volumetric spore trap. Phytopathology 73: 1526-1531.
25. García-Martínez C, López-Bautista V, Bustamante-Martínez V, Gutiérrez-Espinoza MA, Acevedo-Sánchez G y Mora-Aguilera G. 2017a. Distribución y prevalencia regional de *Fusarium* spp. asociadas a marchitez y pudrición seca del cogollo del agave azul (*Agave tequilana*) en Jalisco. Revista Mexicana de Fitopatología 35: 181-182.

26. García-Martínez C, López-Bautista V, Bustamante-Martínez V, Acevedo-Sánchez G y Mora-Aguilera G. 2017b. Índice biológico de *Fusarium* spp. asociados a características físico-químicas del suelo y ocurrencia de marchitez y pudrición seca del cogollo del agave azul (*Agave tequilana*) en Jalisco. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 182-183.
27. García-Mendoza AJ. 2007. Los agaves de México. *Ciencias* 87: 14-23. <http://www.revistaciencias.unam.mx/es/48-revistas/revista-ciencias-87/285-los-agaves-de-mexico.html>
28. Guzmán-Hernández E, Flores-Colorado OE, Acevedo-Sánchez G, Mora-Aguilera G, López-Javier MA y González-Gómez R. 2017. Apps como herramientas de soporte epidemiológico aplicado a sistemas regionales de vigilancia epidemiológica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 178-179.
29. Hernández-Hernández M, Guzmán-Hernández E, Acevedo-Sánchez G, Flores-Colorado OE y Mora-Aguilera G. 2017. Desarrollo de un datalogger climatológico para apoyo a Sistemas de Vigilancia Epidemiológicos Fitosanitarios. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 181.
30. Hernández-Sánchez E, Mora-Aguilera G, Tlapal-Bolaños B, Rodríguez-Leyva E y Alvarado-Rosales D. 2014. Efecto de intensidad inicial de enfermedad en la caracterización temporal y espacial de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Mexicana de Fitopatología* 32(2): 132-146. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092014000200132&lng=es&tlng=es.
31. Jens AE, Daub ME and Upchurch RG. 1989. Regulation of cercosporin accumulation in culture by medium and temperature manipulation. *Phytopathology* 79: 213-219.
32. Jiménez-González L, Mendoza-Ramos C, Santana-Peñaloza B, Coria-Contreras J, Delgado-Mora F, Acevedo-Sánchez G, Guzmán-Hernández E y Mora-Aguilera G. 2017. Escala logarítmica diagramática de severidad para medición de pudrición seca del cogollo, marchitez y mancha gris del agave azul. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 177.

33. López-Bautista V, Bustamante-Martínez V, García-Martínez C, Gutiérrez-Espinoza MA y Mora-Aguilera G. 2017. Extracción de ADN total de rizosfera y rizoplasma de agave azul (*Agave tequilana*) aplicable a detección de *Fusarium* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 182
34. Martins MC, Guerzoni RA, Cámara GMdS, Mattiazzi P, Lourenço SA and Amorim L. 2004. Diagrammatic scale for assessment of late season leaf diseases in soybean. *Fitopatología Brasileira* 29:179-184. doi.org/10.1590/S0100-41582004000200009
35. Mendoza-Ramos C, Jiménez-González L, Santana-Peñaloza B, Delgado-Mora F, Coria-Contreras J, Acevedo-Sánchez G, Guzmán-Hernández E y Mora-Aguilera G. 2017. Comportamiento de enfermedades del agave asociadas a variables fisiológicas de planta y físicas del suelo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 177-178.
36. Montes C, Armando O y Almicar-Cadena R. 2012. Infestación e incidencia de broca, roya y mancha de hierro en cultivo de café del departamento del Cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 10(1): 98-108.
37. Mora-Aguilera G, Acevedo-Sánchez G, Santana-Peñaloza B, Guzmán-Hernández E. 2017. Drones como herramienta de análisis en la epidemiología espacial fitosanitaria del agave azul. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 179.
38. Mora-Aguilera G, Flores-Sánchez J, Acevedo-Sánchez G, Domínguez-Monge S, Oropeza-Salín C, González-Gómez R y Robles-García P. 2014a. Vigilancia epidemiológica y estatus actual del amarillamiento letal del cocotero (ALC), punta morada de la papa (PMP) y huanglongbing de los cítricos (HLB) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32: 120-131.
39. Mora-Aguilera G, Coria-Contreras J, Flores-Sánchez J, Domínguez-Monje S, Acevedo-Sánchez G, Aguilar-Pérez L, Martínez-Bolaños M y Guzmán-Deheza A. 2014b. Desarrollo y validación de una trampa pasiva para monitoreo de esporas de *Hemileia vastatrix*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32(S): 83.
40. Mora-Aguilera G, Acevedo-Sánchez G, Flores-Sánchez J, González-Gómez R and Robles-García P. 2013. Applied epidemiology to plant disease risk analyses.

In IV Brazilian Workshop of Plant Disease Epidemiology. Curitiba, Brazil. December 2-4. 27-29p.

41. Mora-Aguilera AA, Teliz OD, Mora-Aguilera G, Sánchez GP y Javier MJ. 2003. Progreso temporal de la escoba de bruja” (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:1-12.
42. Mora-Aguilera G, Rivas-Valencia P, Góngora-Canul C, Tovar-Soto A, Cristóbal-Alejo J, Loeza-Kuk E, Michereff S, Marinelli A y Osada-Velázquez K. 2000a. Sistemas computarizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola 15-17 Oct. 2000, Puerto Vallarta, México.
43. Mora-Aguilera A, Noriega-Cantú DH, Téliz-Ortíz D y Mora-Aguilera G. 2000b. Diseño de una trampa volumétrica de esporas de cloruro de polivinilo (PVC) con tambor giratorio a 7 días. XXVII Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Puerto Vallarta, Jalisco. 9-13 Julio. L-65.
44. Mwase WF and Kapooria RG. 2000. Incidence and severity of frog-eye leaf spot and associated yield losses in soybeans in agroecological zone II of Zambia. *Mycopathologia* 149: 73–78.
45. National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2018. Taxonomy. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=284008>.
46. Nava-Cruz NY, Medina-Morales MA, Martínez JL, Rodríguez R y Aguilar CN. 2015. Agave biotechnology: an overview, *Critical Reviews in Biotechnology* 35(4): 546-559. doi:10.3109/07388551.2014.923813
47. Nelson SC, Corcoja I and Pethybridge SJ. 2017. Cluster: A new application for spatial analysis of pixelated data for epiphytotics. *Phytopathology* 107:1-11. doi.org/10.1094/PHYTO-07-17-0223-R
48. Nutter FW, Teng OS and Shokes RM. 1991. Disease assessment terms and concepts. *Plant Disease* 75: 1187-1188. doi:10.1094/PD-75-1187.
49. Ortega-Acosta S, Velasco-Cruz C, Hernández-Morales J, Ochoa-Martínez D and Hernández-Ruiz J. 2016. Diagrammatic logarithmic scales for assess the severity of spotted leaves and calyces of roselle. *Mexican Journal of Phytopathology*

34(3): 270-285.

50. Pethybridge SJ† and Nelson SC. 2018. Estimate a new iPad for assessment of plant disease severity using photographic standard area diagrams. *Plant Disease*. 102: 102-276. doi.org/10.1094/PDIS-07-17-1094-SR
51. Pethybridge SJ and Nelson SC. 2015. Leaf Doctor: A new portable application for quantifying plant disease severity. *Plant Disease* 99:1310-1316.
52. Ramos R y Meza V. 2017. Efectos de algunos factores meteorológicos sobre la concentración de esporas de hongos en la Plaza San Martín de Lima. *Ecología Aplicada* 16(2): 143-149. doi.org/10.21704/rea.v16i2.1018.
53. Robles SN, Gutiérrez VC, Serwatowski HR, Saldaña RA, Flores OA, Quiroz RC, Cabrera SJM, García BS y Juárez GA. 2012. Propuesta de una cosechadora-desmenuzadora de *Agave tequilana* Weber para la producción de bioetanol y revisión de los procedimientos existentes. *Acta Universitaria* 22(2): 9–18.
54. Rodríguez-Hernández R, Barrios-Ayala A, Flores-López HE, Sánchez-Vásquez V y Ariza-Flores R. 2016. Factibilidad económica de la producción de bioetanol con tres especies de *Agave* spp. en regiones productoras de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(6): 1439-1453.
55. Rubio CR y Cervantes DL. 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 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. Manzanillo, Colima, 9 de noviembre de 2006. México. pp: 116-162.
56. Rubio CR. 2007. Enfermedades del Cultivo de Agave. *In: Rulfo VFO (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 (INIFAP). Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. Libro Técnico 4. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. pp: 170-195.

57. Santana-Peñaloza B, Coria-Contreras J, Jiménez-González L, Mendoza-Ramos C, Delgado-Mora F, Acevedo-Sánchez G, Guzmán-Hernández E y Mora-Aguilera G. 2017. Incidencia regional de mancha gris, marchitez y pudrición seca del cogollo de agave azul y su relación con poblaciones del picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*). Revista Mexicana de Fitopatología 35: 180-181.
58. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2013. Acuerdo por el que se establece la campaña y las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para el control y en su caso erradicación del picudo del agave, así como disminuir el daño de las enfermedades asociadas a dicha plaga en la Zona Denominación de Origen Tequila. Recuperado de <https://normateca.sagarpa.gob.mx/acuerdo-216>.
59. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2017. Manual Operativo de la Campaña Contra Plagas Reglamentadas del Agave. Dirección de protección fitosanitaria. Clave: MOP-DPF-PRAV. <http://www.sivea.org.mx>
60. SENASICA-LANREF. 2014. Guía dinámica de plagas y enfermedades asociadas al *Agave tequilana* Weber var. Azul. SENASICA-LANREF, México, D.F. 27p. <http://www.sivea.org.mx/web/files/tecnico/guiasdesintomas/Guia%20dinamica%20de%20sintomas%20v13feb16%20FINAL.pdf>.
61. Servicio de Información Agrícola y Pesquera (SIAP). 2018. Cierre de la producción agrícola por estados. Consultado en línea en abril de 2018 en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
62. Servicio de Información Agrícola y Pesquera (SIAP). 2016. Atlas agroalimentario 2016. Primera edición p. 83. http://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2016/Atlas-Agroalimentario-2016
63. Sinclair JB. 1989. Frogeye leaf spot. In: Backman PA. (ed.) Compendium of soybean diseases (3rd edition). American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 19–24pp.

64. Valencia BA. 2011. Evolución histórica y situación actual de la mancha gris en el cultivo del Agave azul tequilero. 1er Foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero integrando esfuerzos para impulsar bienestar en el sector. 31 de may-01 jun Guadalajara, Jalisco, México.
65. Vásquez L. 2011. Cambio climático, incidencia de plagas y prácticas agroecológicas resilientes. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). La Habana. 242p. ISBN 978-959-7023-53-1
66. Vásquez-López A, Hernández-Castro E, Mora-Aguilera JA, Nava-Díaz C y Sánchez-García F. 2012. Etiología y epidemiología de la necrosis de flores y frutos juveniles del papayo (*Carica papaya* L.) en Guerrero, México. *Agrociencia*, 46(8): 757-767.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952012000800002&lng=es&tlng=es.
67. Virgen CG, Nakata A y Kinoshita M. 2005. Descripción y manejo del tizón foliar (*Cercospora* sp.) en *Agave tequilana* Weber var. azul. Universidad de Guadalajara, Agencia Internacional de Cooperación Japonesa (JICA), Consejo Regulador del Tequila (CRT), AC. Reporte de Investigación. Guadalajara, Jalisco, México. p18
68. Williamson DJ and Scandalios GJ. 1992. Differential response of maize catalases and superoxide dismutases to the photoactivated fungal toxin cercosporin. *The Plant Journal* 2(3): 351-358. doi.org/10.1046/j.1365-313X.1992.t01-33-00999.x
69. Zavala-León M y Alejo J. 2012. Escala logarítmica diagramática de severidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en papaya (*Carica papaya*). *Fitosanidad*, 16(2): 83-86.

CAPÍTULO I. SISTEMAS DE MUESTREO Y EVALUACIÓN DE *C. agavicola* APLICABLES A UN SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

RESUMEN

El estudio del comportamiento temporal de las enfermedades es un componente fundamental para la oportuna toma de decisiones con fines del manejo preventivo. Este trabajo se realizó en las regiones agaveras de Jalisco con el objetivo de desarrollar y validar una escala logarítmica diagramática bajo diferentes intensidades de muestreo sistemático y su implementación en una App móvil para su uso en SIVEA. Se realizaron cuatro validaciones de la escala con 8 evaluadores, totalizando la evaluación de 6,000 plantas en cuatro predios agaveros. La validación final tuvo parámetros de precisión, exactitud y reproducibilidad en el rango de 0.98-0.99 con desviación estándar entre 0.01-0.03 y se conformó por siete clases, las cuales estuvieron definidas por un punto medio, límite inferior y límite superior de severidad en planta: 0(Sana), 2(0.1 - 3), 6(3.1 - 13), 22(13.1 - 43), 65(43.1 - 77), 85(77.1 - 91) 100(Planta muerta). La App-SIVEA v1.1 se instaló en 4 Smartphones donde se configuró la escala de severidad en planta para mancha gris con siete clases para la evaluación mensual de 11,375 plantas entre los 4 evaluadores. En total se hicieron 500 evaluaciones de severidad planta en 41 parcelas de muestreo con 273 plantas evaluadas totalizando en 12 meses 136,500 evaluaciones en planta. Las evaluaciones fueron enviadas en tiempo real a la plataforma web SIVEA (www.sivea.org.mx) para la organización y pre análisis de la información. El enfoque híbrido, con uso de escalas visuales pero un registro digital y envío de evaluaciones en tiempo real resultó efectivo para la gestión de datos en un estudio epidemiológico regional.

Palabras Clave: Muestreo Regional; Escalas; Smartphones; Apps

2.1 INTRODUCCIÓN

La severidad es una medida de intensidad de enfermedad requerida para estudios epidemiológicos o de control que requieren discriminar o evaluar efectos con mayor precisión que la incidencia. La severidad es esencial para el desarrollo de alertas en un sistema de vigilancia epidemiológica fitosanitaria. La severidad puede definirse como el porcentaje de área sintomática respecto a la unidad de planta, flor, hoja, tallo, etc. (Madden *et al.*, 2007; Nutter *et al.*, 2006). Usualmente el registro de severidad en campo se realiza en formatos impresos prediseñados según el tipo de muestreo y escala de evaluación. Posteriormente se captura la información en sistemas de hojas de cálculo digital para su análisis. Este enfoque es variable para estudios fitosanitarios no extensivos que incluyen un limitado número de unidades experimentales (i.e. árboles, parcelas, etc.). Sin embargo, aunque este método se ha usado en sistemas computarizados de vigilancia por medio del registro directo de datos estandarizados, el consumo de tiempo para una respuesta eficiente y efectiva de toma de decisiones puede comprometer un programa fitosanitario epidemiológico o de control. El desarrollo de tecnologías de programación “web” y comunicación digital mediante telefonía móvil permite optimizar el registro y transferencia desde campo a bases de datos para la gestión de “*big data*” como una herramienta de innovación en la epidemiología fitosanitaria para operar programas de ámbito regional o nacional, permitiendo trabajar grandes poblaciones en tiempo real y aumentando la posibilidad de análisis eficientes para la oportuna toma de decisiones (Casacuberta 2013; Dias Porto-Chiavegatto Filho 2016). Los métodos de medición requieren de sistemas automatizados que garanticen eficiencia de procesamiento con fines de manejo preventivo de enfermedades, como formatos de registro en Ms Excel® para tablets o programación de aplicaciones en Smartphones. La vasta mayoría de metodologías publicadas, emplean principios pero con métodos tradicionales (Del Ponte *et al.*, 2017). Los cuales pueden ser restrictivos o programas a gran escala. El auge tecnológico está orientado al uso de Smartphones para eficientizar el monitoreo epidemiológico (Guzmán-Hernández *et al.*, 2017). Estos métodos de registro se han empleado en el PVEF-Cafeto por más de cinco años (www.royacafe.lanref.org.mx) permitiendo mayor operatividad de las metodologías y

efectividad en tiempo de respuesta a emergencias fitosanitarias (SENASICA 2017). A través de estas tecnologías se mejora la calidad y confiabilidad del dato al estandarizar e incluir sistemas de validación del registro de datos. Sin embargo, los principios clásicos como el desarrollar y validar escalas, entrenamiento de evaluadores y desarrollo de sistemas de verificación de la calidad de evaluaciones aún son necesarios e incluso adquieren mayor relevancia dado que son sistemas pensados para aplicarse regionalmente por un grupo de técnicos u oficiales que deben garantizar datos estandarizados de calidad (Del Ponte *et al.*, 2017; Pethybridge and Nelson 2018).

Recientemente, la necesidad de realizar evaluaciones cada vez más precisas, confiables y rápidas ha derivado en el empleo de tecnologías de reconocimiento de imágenes para automatizar la evaluación real de severidad (Pethybridge and Nelson 2015). Pethybridge and Nelson (2018), desarrollaron una aplicación móvil que permite evaluar diversas enfermedades a través de fotografías de campo que son comparadas con un repositorio de imágenes previamente registradas. Aunque esta tecnología tiene gran potencial en el futuro aún hay limitaciones en equipos móviles para la discriminación y procesamiento de imágenes de síntomas complejos y en tejidos diversos. En el sistema SIVEA (www.sivea.org.mx) se generó una aplicación móvil Android para registrar *in situ* severidad, densidad de plagas-enfermedades y variables agronómicas del cultivo de agave, que permitiera integrar el número de clases de diversas escalas diagramáticas de evaluación, múltiples sistemas de muestreo y el número de plantas evaluables. Para validación y funcionalidad, la App se empleó para la evaluación de la mancha gris del agave en 41 parcelas de predios comerciales de agave azul en tres regiones de Jalisco, México. Por lo anterior, este trabajo se hizo con el objetivo de desarrollar y validar una escala logarítmica diagramática bajo diferentes intensidades de muestreo sistemático y su implementación en una App móvil para implementarse en SIVEA.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Elaboración de la escala: Caso mancha gris del agave (*Cercospora agavicola*)

El desarrollo de la escala logarítmica diagramática, se hizo con la metodología propuesta por Mora-Aguilera *et al.* (2000). Se incluyeron 650 fotos capturadas con una cámara digital de 13 mega pixeles en predios de agave de dos a cuatro años de edad en la región de Los Altos de Jalisco durante el periodo febrero a octubre 2016, lo que permitió la captura de un amplio rango de niveles de severidad para generar el número de clases de la escala representativos a la inductividad epidémica de la región agavera de Jalisco. La exposición pictográfica se realizó entre las 11:00 am y 2:00 pm, con la finalidad de capturar variabilidad de tonalidades que provoca la luz y sombra sobre las plantas. La escala logarítmica se generó con el programa 2-Log V1.0 propuesto por Mora-Aguilera *et al.* (2000).

2.2.2 Validación de la escala logarítmica diagramática

La validación de la escala se realizó a través de la evaluación de 6,000 mil plantas divididas en cuatro predios comerciales de agave por ocho personas con y sin experiencia en el ámbito fitopatológico, los cuales tuvieron la escala propuesta impresa a color y plastificada. Debido a que la escala se generó para planta completa y a la ubicación de los daños iniciales no fue posible la integración digitalizada de las imágenes, por lo que el valor real de la escala fue la moda de un conjunto de ocho evaluadores, tomado como un factor de reproducibilidad. La exactitud y precisión de cada evaluador fue determinada a través de un análisis de regresión lineal simple entre la moda obtenida de la evaluación como variable independiente y la severidad estimada por cada evaluador como variable dependiente, donde la pendiente con $p \leq 0.05$ indicó la exactitud y el coeficiente de determinación (R^2) representó la precisión. Se determinó el coeficiente de correlación entre evaluadores donde los valores más próximos a uno indican mayor afinidad a la moda obtenida. Los análisis se realizaron a través del programa de Ms Excel 2010®. Adicionalmente, en 50 plantas evaluadas por ocho evaluadores se realizó la comparación estadística de precisión, exactitud y reproducibilidad de la escala logarítmica diagramática con las escalas nominales del

SENASICA-CRT y la del Subcomité Fitosanitario-CRT, previamente empleadas en la Campaña contra Plagas Reglamentadas del Agave (SENASICA 2017).

2.2.3 Diseño de un sistema de muestreo parcelario

El sistema se diseñó con el objetivo de caracterizar la expansión de focos de mancha gris del agave. Se realizaron recorridos de reconocimiento en los municipios de Arandas, Jesús María y Tepatitlán con la finalidad de identificar un huerto con alta inductividad epidémica. Con el uso de la escala seleccionada se realizó un censo de 3000 plantas, a partir del cual se evaluaron diferentes sistemas de muestreo sistemático. Los esquemas de evaluación fueron: 1×3, 1×4, 1×10, 1×10×3, 2×10×4, 1×10×5, 1×15×3 y 1×15×4. Se calculó la media del censo realizado y se comparó con la media de los diseños de muestreo, además se realizó la prueba de Tukey con $p < 0.05$ para definir las diferencias estadísticas entre diseños.

2.2.4 App-SIVEA 1.1 como herramienta de evaluación de enfermedades: caso mancha gris

La App-SIVEA es una aplicación desarrollada en el marco del proyecto SENASICA-CRT 2015-2017, la cual tiene como objetivo la captura de información de campo proveniente de muestreos y monitoreo de plagas y enfermedades del Agave. El desarrollo se realizó con el lenguaje de programación Java para Android®. Esta App tiene soporte para ejecutarse en las versiones 4.4 KitKat a 8.0 Oreo. Se utilizaron tecnologías web y lenguajes de programación *back-end* (PHP, HTML, CSS, etc.) para generar servicios web de registro-envío de datos. Se empleó una estructura de base de datos MySQL y servicios web JSON.

Se hizo un desarrollo multifuncional, multivariado y multiplaga, en cinco módulos principales con las siguientes funciones generales:

- 1) Caracterización de 41 predios para monitoreo de las enfermedades y plagas del agave azul.
- 2) Evaluación de las principales enfermedades del agave (marchitez, mancha gris y pudrición del cogollo). Este módulo se desarrolló para configurar

diferentes escenarios de muestreo, parámetros de número de clases, número de plantas por cuadrante/surco, número de cuadrantes/surcos, etc.

- 3) Registro de trampas y contabilización de la densidad de picudos por trampa. Se integró un visualizador gráfico para monitorear la dinámica temporal de poblaciones de picudo por predio.
- 4) Envío de los muestreos y conteos de picudo a la plataforma www.sivea.org.mx (SIVEA).
- 5) Sincronizar los predios y datos climáticos de los predios que tiene asignado un usuario.

Para hacer uso de la App, el usuario se debe registrar y autorizar por el administrador de SIVEA, la cual es la plataforma de gestión y análisis de datos fitosanitarios de la Campaña contra Plagas Reglamentadas del agave del SENASICA. El acceso es dado por el sector oficial (SENASICA) de acuerdo al rol del usuario en una empresa o institución a cargo de la evaluación de la sanidad del cultivo de agave.

App-SIVEA 1.1 (Guzmán-Hernández *et al.*, 2017), fue empleada en el desarrollo de este trabajo para la evaluación de *C. agavicola* debido a que los módulos de geoposicionamiento, autenticación de usuarios, caracterización de unidades productivas, sistemas de escaneo de códigos QR, registro de variables de daño, fenología, envío de datos al sistema web SIVEA y módulos de recuperación de evaluaciones, etc., (Figura 1 y 2) garantizaron la estandarización, oportunidad, confiabilidad y representatividad regional de datos. Los datos evaluados se enviaron en tiempo real, o en caso de no haber conectividad se almacenaron en el dispositivo móvil para su posterior envío a SIVEA. Este utiliza servicios programados en el lenguaje PHP para recibir y procesar las evaluaciones de App-SIVEA 1.1. La flexibilidad de la App-SIVEA 1.1, permitió el registro y configuración de un método de muestreo que se desarrolló para la evaluación de la mancha gris del agave así como el número de clases de la escala empleada en las evaluaciones (Figura 2).

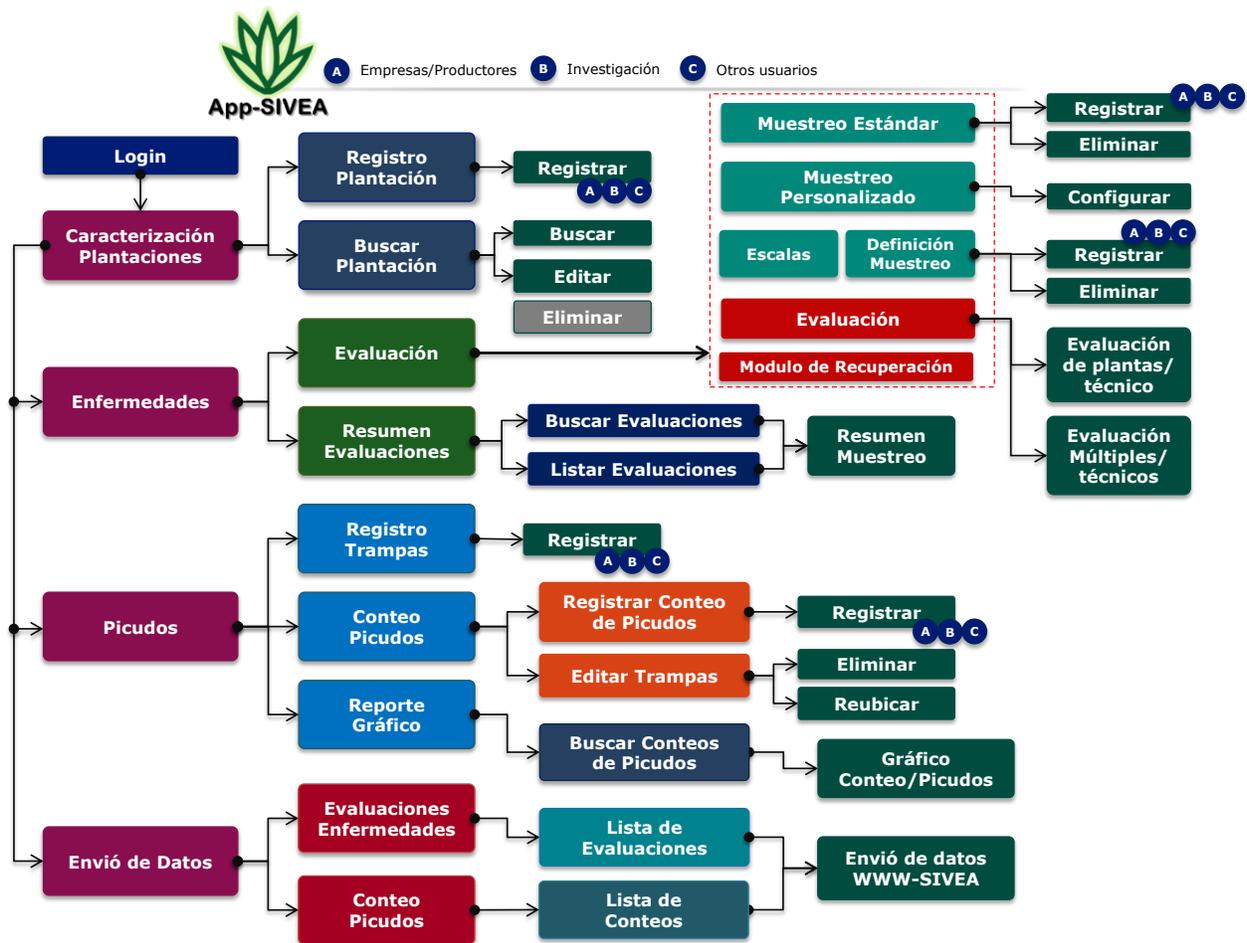


Figura 1. Diseño conceptual de los módulos y funciones que componen App-SIVEA 1.1

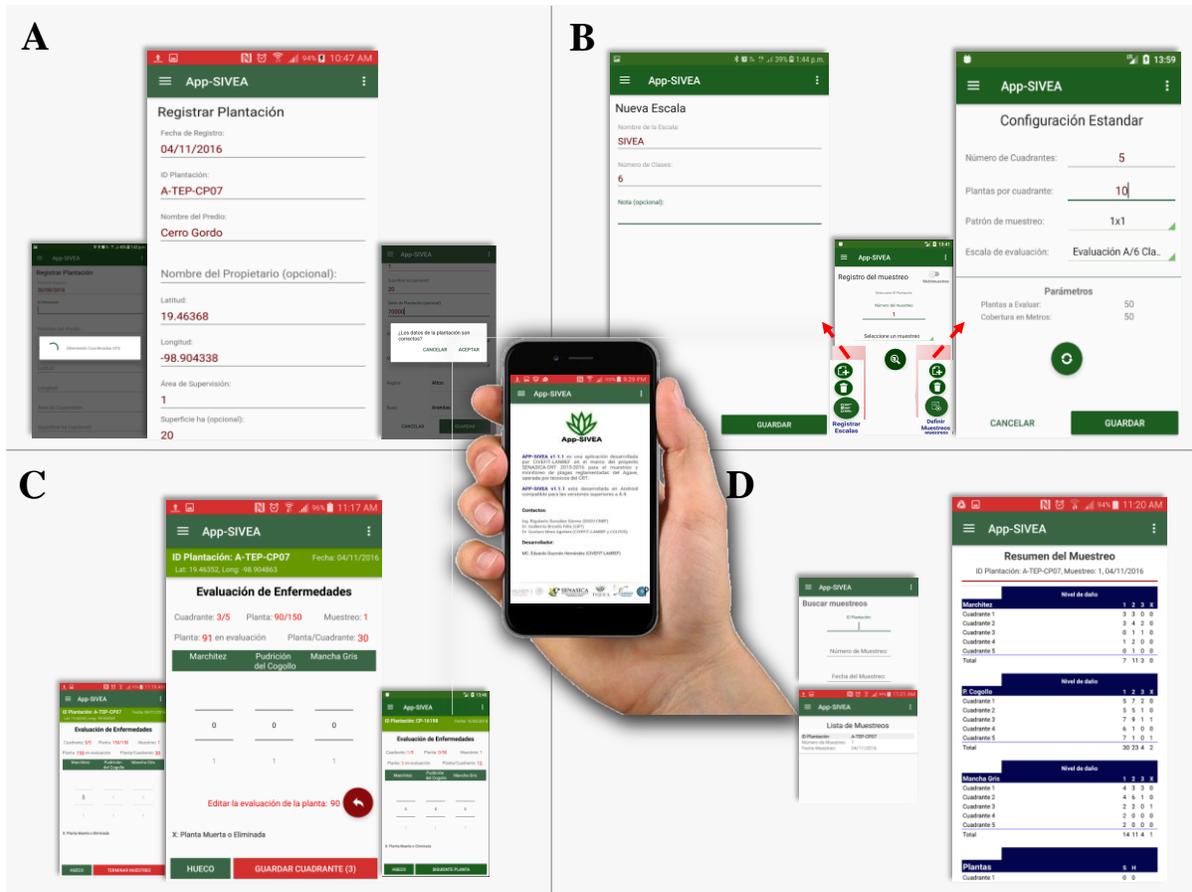


Figura 2. Componentes básicos de la App-SIVEA 1.1.1. A) Caracterización del predio. B) Configuración del sistema de muestreo y la escala que se usará para la evaluación de severidad. C) Área de evaluación multiplaga, planta por planta de enfermedades del agave. D) Área de búsqueda de parcelas evaluadas para la observación del resumen por cuadrante y enfermedad.

2.2.5 Validación de App-SIVEA 1.1: Caso mancha gris del agave

Se estableció una red de monitoreo formada por 41 parcelas de agave en las regiones Los Altos (20), Valles (11) y Sur (10) de Jalisco. Los criterios de selección fueron establecidos a través de la inductividad epidémica dada por la metodología del Reg-N que está basado en la ponderación de un conjunto de variables como condiciones climáticas, historial de incidencias de plagas o enfermedades, manejo fitosanitario y agronómico, tipos de suelo, superficie cultivada, entre otras (Acevedo-Sánchez *et al.*, 2017; Acevedo-Sánchez y Mora-Aguilera, 2016). Los sitios de monitoreo fueron

evaluados durante el periodo octubre 2016 a diciembre 2017 a intervalos de un mes, estas evaluaciones fueron realizadas con la App-SIVEA 1.1.1. Fue programada para su uso con el mejor diseño de muestreo sistemático seleccionado y las clases de la mejor escala logarítmica diagramática de mancha gris desarrollada y validada. Durante la evaluación el evaluador se guio con la escala plastificada para evitar su deterioro por la humedad.

Se evaluó el gasto de energía durante el uso de la aplicación con diferentes dispositivos móviles con fines de definir, el número de evaluaciones posibles en un día y se comparó la precisión de los sistemas de geoposicionamiento entre distintas marcas de dispositivos móviles con respecto a un dispositivo Garmin *etrex* 30.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Elaboración de la escala: Caso mancha gris

A partir de los recorridos de campo y la toma de fotografías se determinó que el valor máximo de daño en planta fue de 100%, que representa una planta muerta con los síntomas característicos de *Cercospora agavicola* (Ayala-Escobar *et al.*, 2005). Este valor se ingresó en el programa 2-Log al igual que el límite inferior que representa la condición de una planta aparentemente sana (0).

La escala logarítmica diagramática se estableció con siete clases que constan de un punto medio, límite inferior y límite superior, las cuales estuvieron definidas por: 0(Sana), 2(0.1 - 3), 6(3.1 - 13), 22(13.1 - 43), 65(43.1 - 77), 85(77.1 - 91) 100(Planta muerta). El nivel 0 correspondió a plantas que no tienen ninguna lesión atribuida a *C. agavicola*, mientras que los niveles mayores a 7% incluyeron la aparición del cogollo con ligera inclinación y lesiones en más de 6 hojas maduras de la planta enferma, que se incrementan conforme avanza el daño. En severidad de 76%, el cogollo se observa seco en un 80%, se nota una inclinación de hasta 45° y coloración amarillenta generalizada. Las imágenes empleadas para representar la escala fueron tomadas de plantas de 3 años de edad debido a que los síntomas representaron mejor los incrementos por clase de la escala. Adicionalmente, se colocaron los rangos de hojas enfermas y la inclinación que puede tener el cogollo en cada nivel de clase (Figura 3).

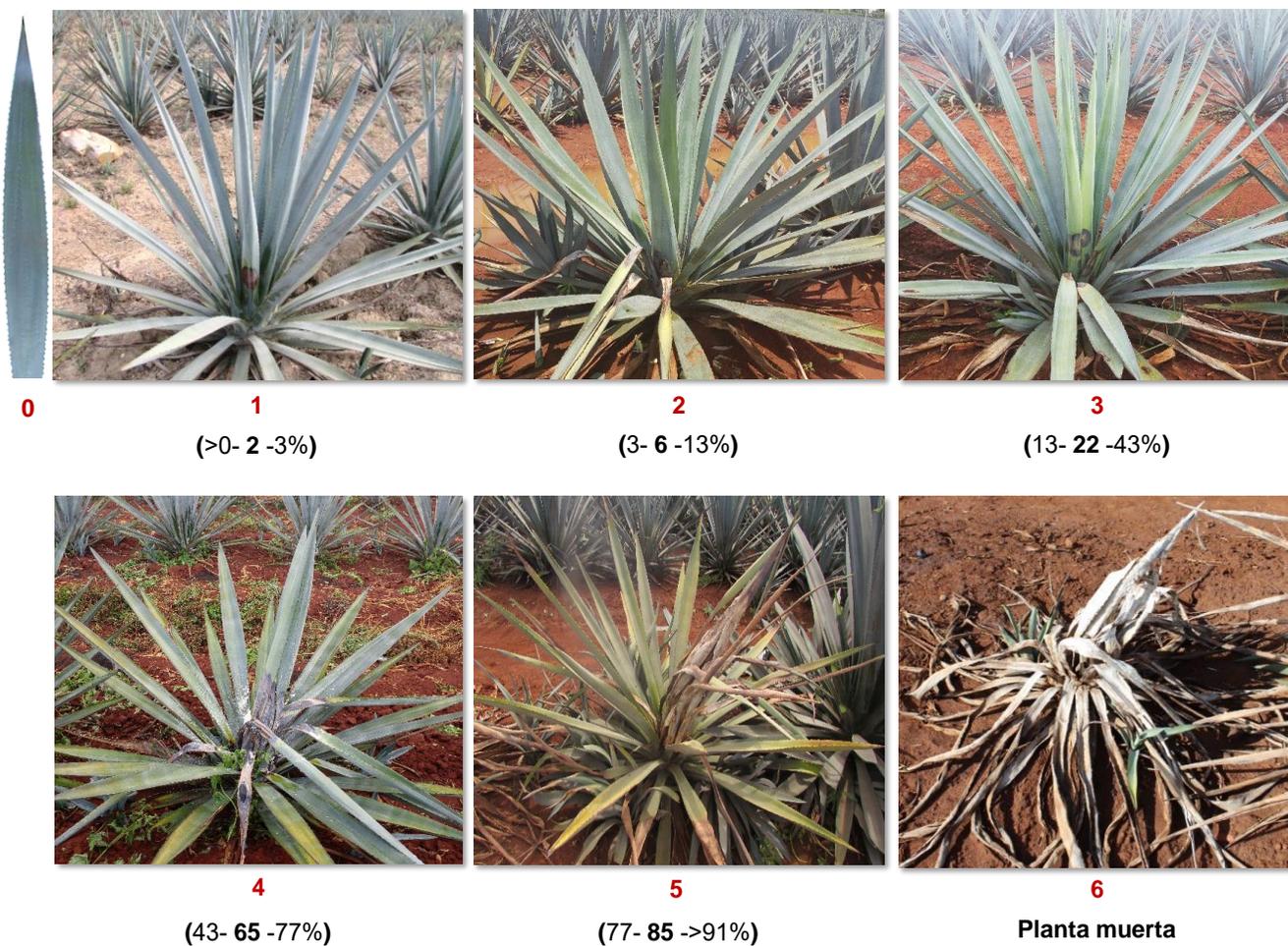


Figura 3. Escala logarítmica diagramática de 7 (0-6) clases donde el cero indica una planta sana y el 100% indica una planta muerta por *Cercospora agavicola*. La escala cuenta con el rango y punto medio en porcentaje de daño. Se complementa con una descripción cualitativa del daño número de hojas dañadas e inclinación y apariencia del cogollo por cada clase de severidad.

2.3.2 Validación de la Escala logarítmica diagramática

Se realizaron 4 evaluaciones de validación. Después de cada validación se cambiaron las fotos y descripción cualitativa de cada clase. La versión final obtenida en la cuarta validación, obtuvo mayor precisión, exactitud y reproducibilidad con rango de 0.98 - 0.99 y una desviación estándar entre 0.01 - 0.03 (Cuadro 1).

Para el análisis de reproducibilidad con la escala seleccionada, se desarrolló una matriz de correlación entre los resultados obtenidos de los 8 evaluadores los cuales tuvieron r en rango de 0.97–1.00. Las correlaciones de $r=1.00$ fue entre los evaluadores 1-4-8 y 5-6 (Cuadro 2). Así mismo se correlacionó las evaluaciones de cada evaluador con el valor real, que arrojó r^2 de 0.95-1.00 y el parámetro b como factor de exactitud en el rango de 0.91 a 0.99, donde 6/8 tuvieron valores mayores a 0.98, los restantes dos tuvieron 0.91 y 0.93 (Figura 4)

Cuadro 1. Comparativo de parámetros entre cuatro procesos de validación de una escala logarítmica diagramática con soporte cualitativo de siete clases para evaluar la severidad de planta de la mancha gris del agave.

Parámetros	1ra Validación	2da Validación	3ra Validación	4ta Validación
Precisión	0.68 ($\sigma=0.07$)	0.80 ($\sigma=0.09$)	0.99 ($\sigma=0.01$)	0.99 ($\sigma=0.01$)
Exactitud	0.79 ($\sigma=0.67$)	0.91($\sigma=0.09$)	1.10 ($\sigma=0.18$)	0.98 ($\sigma=0.03$)
Reproducibilidad	0.70 ($\sigma=0.11$)	0.79 ($\sigma=0.05$)	0.99 $\sigma=0.004$)	0.98 ($\sigma=0.01$)

Cuadro 2. Matriz de correlación de ocho evaluadores (E) de la severidad de mancha gris mediante una escala logarítmica diagramática y soporte cualitativo de siete clases.

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
E1	1							
E2	0.98	1						
E3	0.97	0.99	1					
E4	1.00	0.99	0.98	1				
E5	0.99	0.99	0.98	0.99	1			
E6	0.99	0.99	0.98	0.99	1.00	1		
E7	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	1	
E8	1.00	0.99	0.98	1.00	0.99	0.99	0.99	1

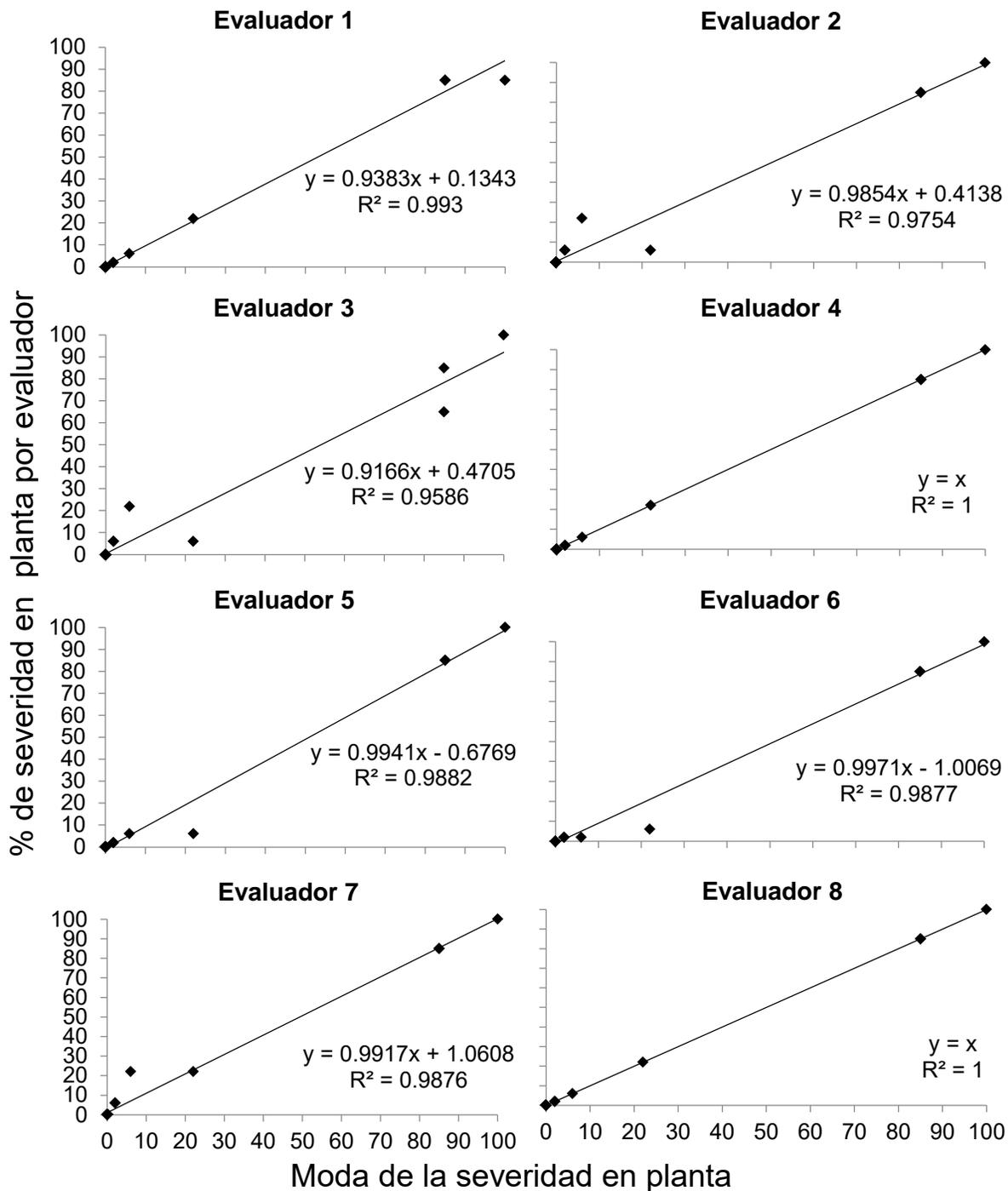


Figura 4. Análisis de correlación de la severidad estimada por cada evaluador contra la moda de la severidad en planta obtenida de ocho evaluadores empleando una escala logarítmica diagramática con soporte cualitativo de siete clases para evaluar severidad de la mancha gris.

Se comparó en 50 plantas evaluadas por 8 evaluadores la precisión, exactitud y reproducibilidad de la escala desarrollada con los valores de dos escalas nominales de SENASICA-CRT y de Subcomité Fitosanitario del CRT de 3 y 4 clases, respectivamente. La escala nominal CRT-SENASICA ha sido empleada en la Campaña Nacional contra Plagas y Enfermedades Reglamentadas del Agave (SENASICA 2017). El análisis mostró que los valores más cercanos a uno (0.98-0.99) y con la menor desviación estándar (0.1-0.3) fue la escala SIVEA por lo que se empleó en las evaluaciones de este trabajo. La escala SENASICA-CRT fue mejor que la del Subcomité en exactitud (0.85) y reproducibilidad (0.78), en precisión fue mejor la escala del Subcomité con un valor de 0.91, sin embargo, en los tres parámetros la desviación estándar fue mayor en esta última (Figura 5).

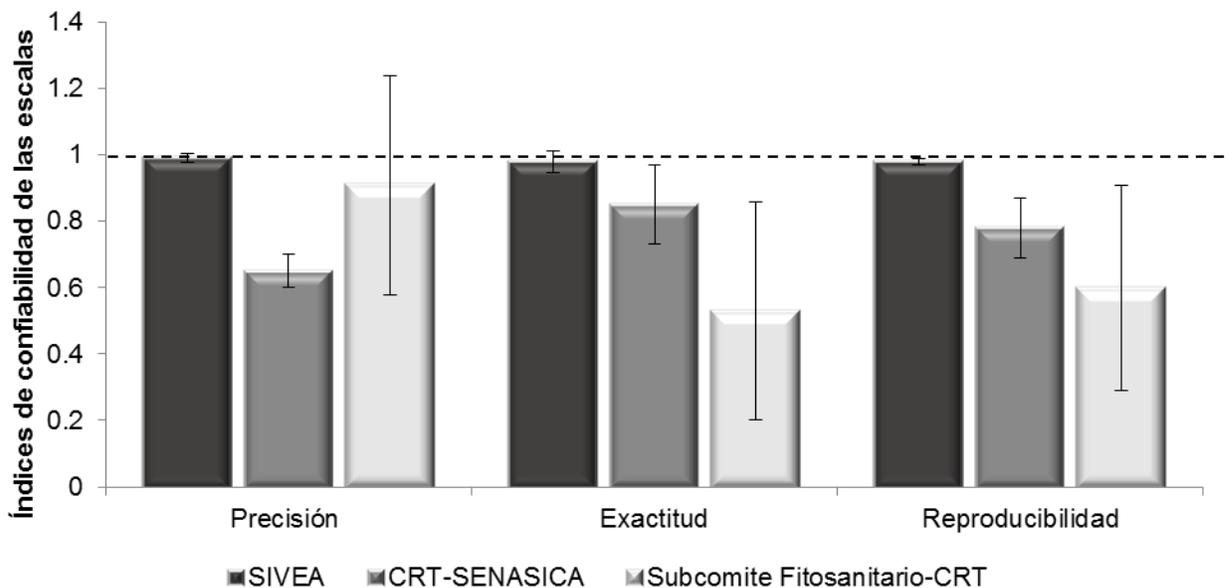


Figura 5. Análisis comparativo de la precisión, exactitud, y reproducibilidad de las escalas SIVEA, CRT-SENASICA y Subcomité Fitosanitario-CRT, se incluye la desviación estándar representada por la barra vertical.

2.3.3 Diseño de un sistema de muestreo parcelario

El área de contagio a partir de un foco simple puede ser hasta de 70x70 m (Capítulo III). Derivado de esto, los diseños de muestreo se probaron en condiciones de focos en predios de 1 ha. La media de daño del censo fue de 22.1% y los diseños estuvieron en el rango de 19.8-23.7% de severidad en planta, de los cuales la media más cercana al censo fue de los diseños 1×3 y 1×10×5 con 22.4 y 21.7% de severidad en planta con un error de 0.38 y 0.37%, respectivamente. Los análisis de prueba de medias de Tukey ($p < 0.01$) no indicaron diferencias significativas entre los diseños y el censo (Figura 6). Por lo anterior el diseño seleccionado fue 1×3 debido a su proximidad con la media del censo, la operatividad de evaluación y la distribución en la parcela de monitoreo.

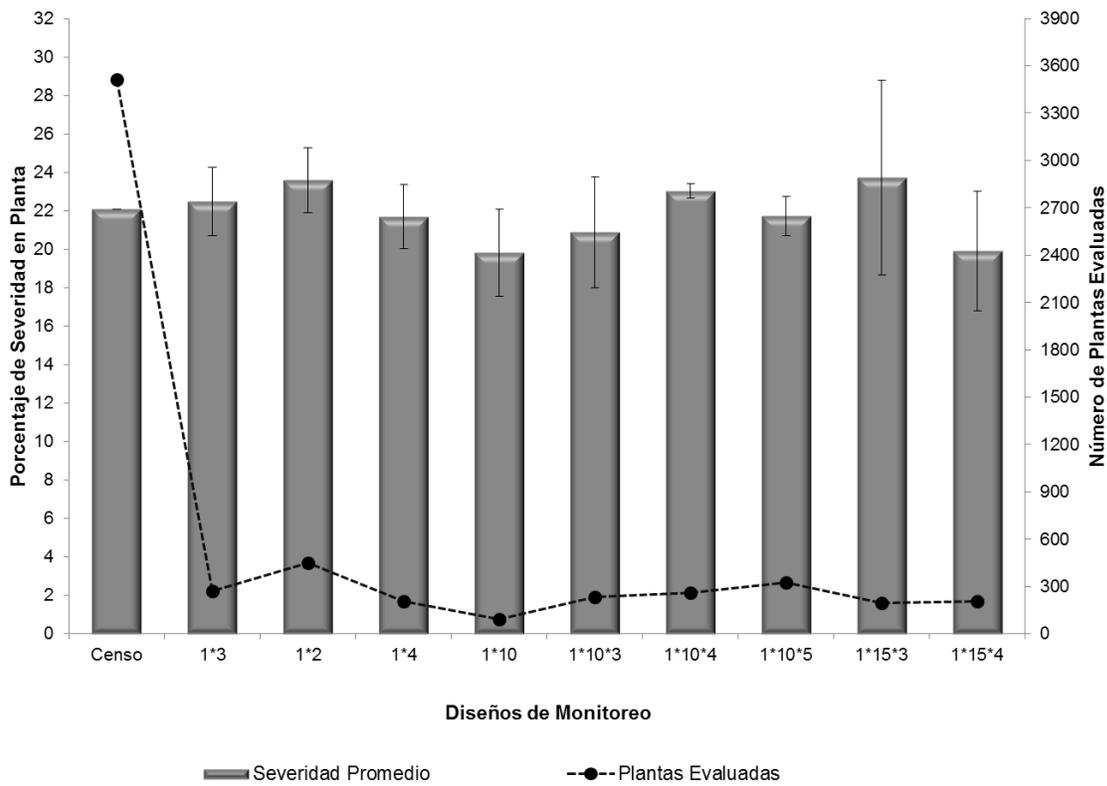


Figura 6. Análisis comparativo de nueve diseños de muestreo sistemático respecto al censo. Se indica el número de plantas que se evaluaron por cada modelo de monitoreo y el censo. Las barras de error indican la desviación estándar que hubo entre las repeticiones de la evaluación.

Con el fin de monitorear la mancha gris bajo el sistema SIVEA se propone el muestreo sistemático 1X3 en un área de 70X70 m. (Figura 7).

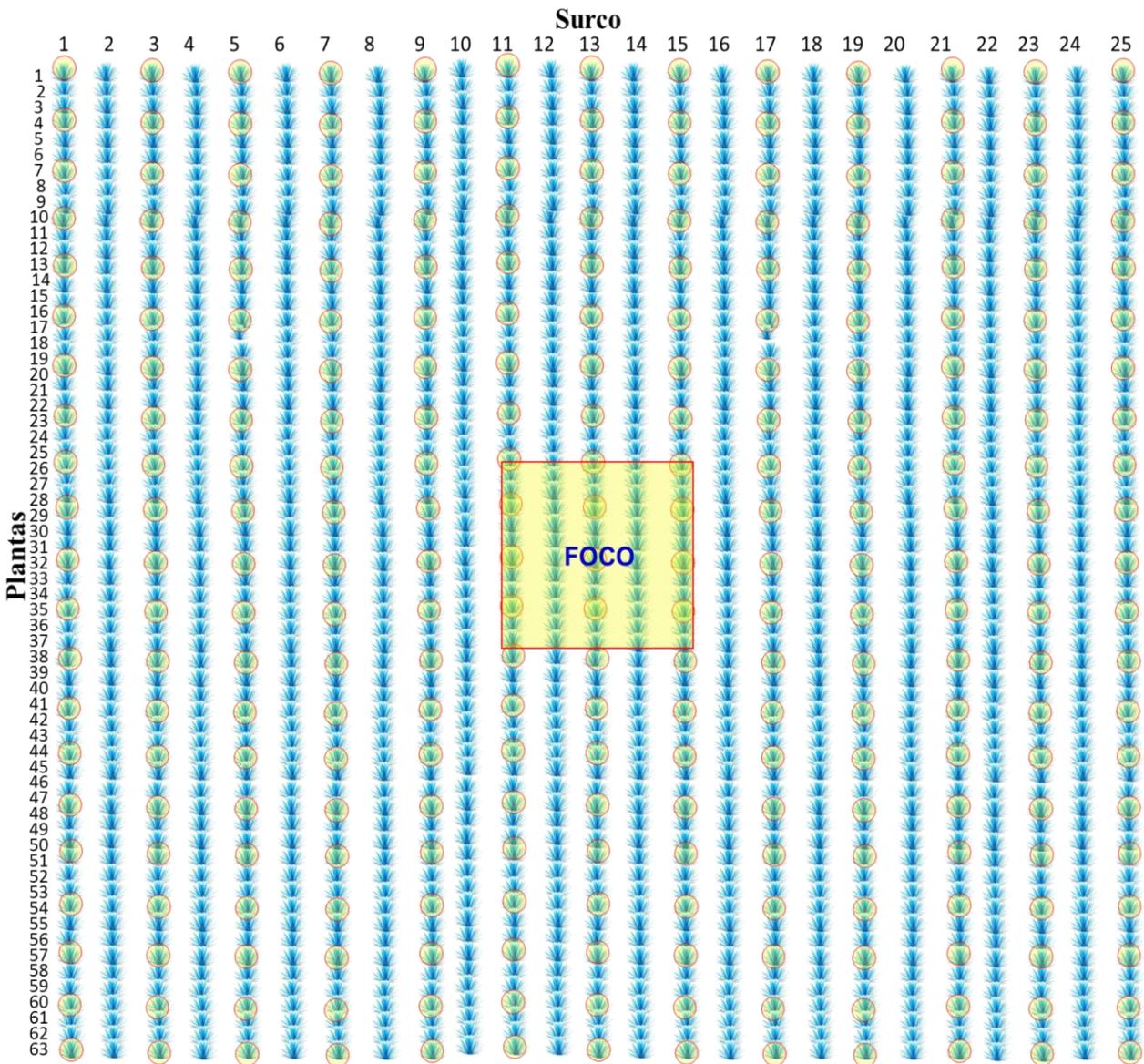


Figura 7. Representación de un sistema de muestreo sistemático 1X3 en un área de 70X70 m a partir de un foco central, con un arreglo de 1x2 entre surco (13 surcos) y 1x3 entre plantas (21 plantas/surco) con un total de 273 plantas a monitorear para aplicarse a la evaluación a la mancha gris en el modelo SIVEA.

2.3.4 Validación de App-SIVEA 1.1: Caso *C. agavicola*

Se realizó la instalación de la App-SIVEA v1.1 en un celular Samsung® J5, con sistema Android 6.0. Una vez instalada la App, se realizó el registro y caracterización de 41 parcelas de muestreo en la App (Figura 8A). Cuando han sido registradas automáticamente las coordenadas del predio se desplegó un formulario con los apartados de fecha de registro, ID de plantación, nombre del predio, nombre de propietario (opcional), latitud, longitud, área de supervisión, superficie ha (opcional), saldo de plantación, año de plantación, municipio, región y base (Figura 8B). Estos datos son empleados en la Campaña contra Plagas Reglamentadas del Agave. Una vez realizada la caracterización del predio se guardan los datos previa confirmación (Figura 8C). Este procedimiento fue realizado para 41 parcelas distribuidas en las regiones de Los Altos, Valles y Sur (Ver Capítulo II para más información).

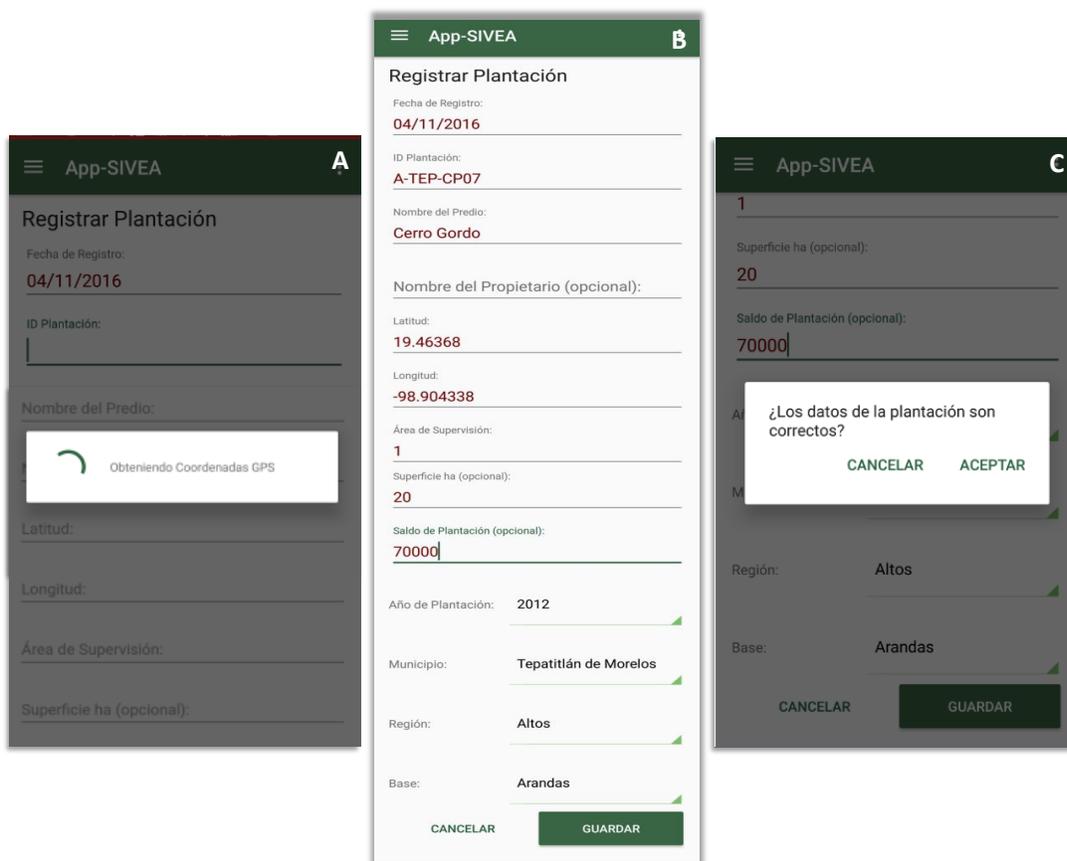


Figura 8. Procedimiento general para la caracterización y registro de una parcela de monitoreo. A) Obtención y registro automatizado de coordenadas a través del

sistema GPS del smartphone. B) Llenado del formulario de caracterización de predio. C) Verificación y guardado de la caracterización de la parcela.

En el menú principal de la App, se seleccionó la sección *Evaluar*, en la cual se encuentra el módulo de registro de escalas y definir muestreo (Figura 9A). Se ingresó el nombre de la escala SIVEA y el número siete que indica el número de clases de la escala logarítmica diagramática (Figura 9B). Se registró el patrón de muestreo 1×3 y se ingresó el número de cuadrantes o surcos a evaluar y el número de plantas por cuadrante. Al dar clic en el logo de *Refresh*, se observó el número de plantas totales a evaluar por parcela de monitoreo (273) y la cobertura que el sistema de muestreo (819 m²) tiene en la parcela (Figura 9C). Adicionalmente, el sistema cuenta con un apartado *multimuestreo* (Figura 9A), que permite evaluar una parcela entre dos o más usuarios, a través de la división de cuadrantes lo cual, eficientiza el tiempo de evaluación de una parcela de monitoreo.

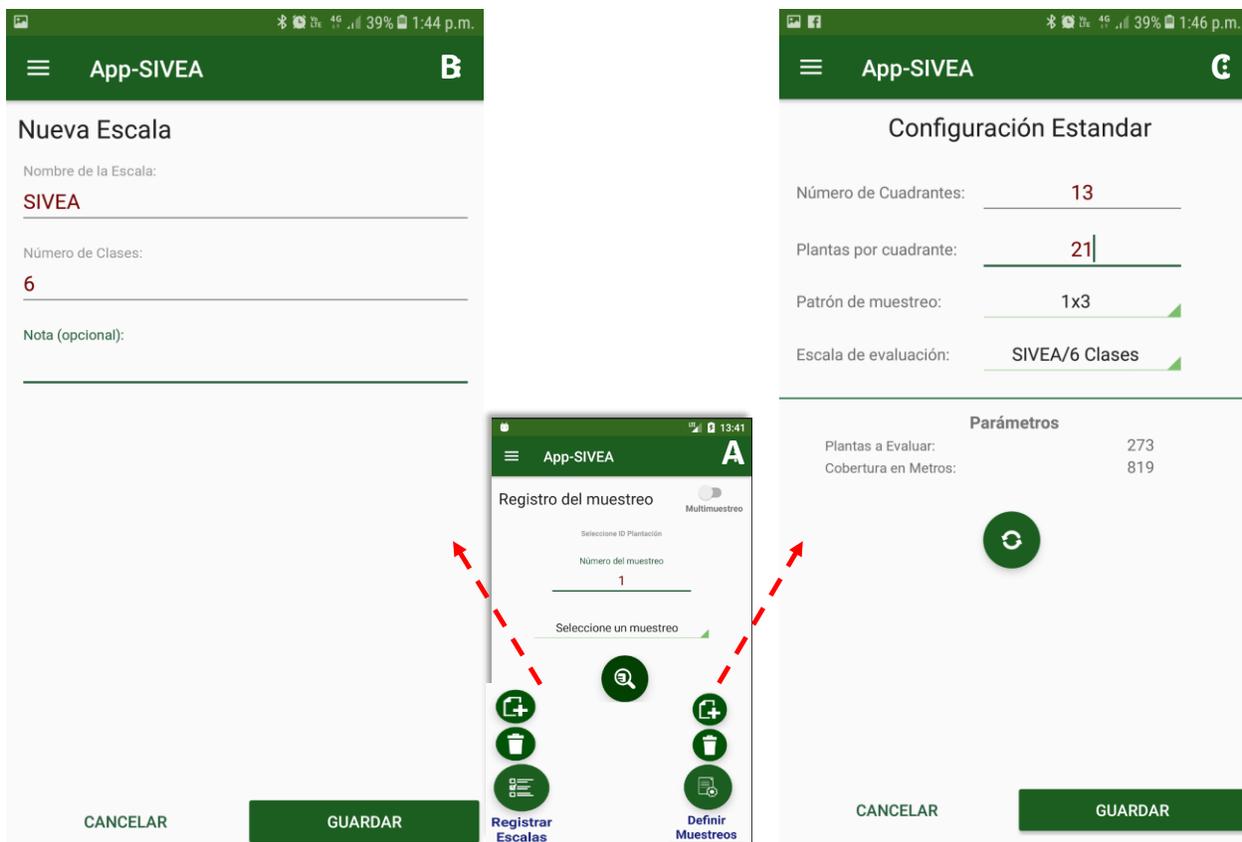


Figura 9. Procedimiento general para definir el patrón de muestreo y el número de clases que se va emplear. A) Ventana inicial de la sección Evaluar, cuenta con el apartado de registro de escalas, definir muestreos y un apartado para la selección de la parcela de monitoreo a evaluar. B) Ventana de registro de una nueva escala. C) Ventana de registro de un nuevo sistema o patrón de muestreo.

Con cuatro evaluadores capacitados se realizaron 500 evaluaciones correspondientes a 41 parcelas de monitoreo con 273 unidades de evaluación por parcela totalizando 136,500 evaluaciones de severidad en planta. Se emplearon cuatro Smartphones Samsung® J5. El almacenamiento temporal de las evaluaciones realizadas en Smartphone, permitió realizar la evaluación de n parcelas para su envío posterior a la plataforma web SIVEA (Figura 10). El tiempo promedio de evaluación por parcela, fue de 41 minutos (rango=26-52), lo cual dependió de las condiciones de la parcela de monitoreo (malezas, cerramiento entre surcos, tipo de suelo, etc.).



Figura 10. Vista principal de la plataforma SIVEA para la gestión de datos de evaluaciones enviadas desde la App-SIVEA v1.1 (www.sivea.org.mx).

2.4 DISCUSIÓN

La generación de App-SIVEA v1.1 (Guzmán-Hernández *et al.*, 2017) como herramienta para la captura-envío y pre-análisis de datos evaluados en campo, fue de gran utilidad para la evaluación promedio de y organización de información de 11,375 plantas evaluadas mensualmente en 41 parcelas de monitoreo, con un total general en 12 meses de 136,500 evaluaciones en planta.

Derivado de la necesidad de explorar herramientas que mejoren y optimicen la toma de decisiones para el manejo de enfermedades, App-SIVEA v1.1 se validó con la realización de 136,500 evaluaciones en campo y sin necesidad de conexión a internet inalámbrico o datos de telefonía móvil. En promedio el tiempo de evaluación de

parcelas de monitoreo fue de 30 minutos en cultivo de agave. Las evaluaciones se realizaron con apoyo de una escala logarítmica diagramática para niveles de severidad en planta desarrollada específicamente para esta enfermedad. Estos métodos de evaluación se consideran en la actualidad limitados considerando el potencial tecnológico actual (Del Ponte *et al.*, 2018). Por lo que se ha optado por tecnologías de reconocimiento de imágenes para estimar el porcentaje de área afectada respecto al área sana principalmente a nivel de hojas (Nelson *et al.*, 2017; Pethybridge and Nelson 2015, 2018). Sin embargo, a nivel de planta y considerando la estructura del agave azul (García-Mendoza 2007), sumado a la localización del síntoma inicial causado por *C. agavicola* (Rubio 2007), hacen poco viable el reconocimiento de imágenes para el monitoreo de esta enfermedad, además, de ser costosa y requieren de especialización para el procesamiento de la información ('Leaf-Doctor', Pethybridge and Nelson, 2015; 'Cluster', Nelson *et al.*, 2017). Un enfoque híbrido, con uso de escalas visuales pero un registro digital y envío de evaluaciones en tiempo real resultó efectivo para un estudio epidemiológico regional (ver Capítulo II).

El registro de la severidad en planta con App-SIVEA v1.1 en campo con apoyo de una escala logarítmica diagramática validada estadísticamente, facilita y optimiza la evaluación, así como su uso por personas con poco conocimiento en el campo de la Fitosanidad dio resultados de exactitud de entre 91-99%. La practicidad y facilidad para el uso de herramientas tecnológicas puede hacer viable la adopción del sistema por grupos organizados de productores, empresas, u organizaciones interesadas en una óptima y eficiente toma de decisiones para el manejo preventivo o curativo contra plagas y enfermedades.

2.5 CONCLUSIÓN

El uso de escalas logarítmicas diagramáticas combinado con herramientas tecnológicas como App-SIVEA v1.1 son herramientas que coadyuvaron y eficientizaron la evaluación del comportamiento epidémico de *C. agavicola*. La rápida obtención y procesamiento de datos permite una oportuna toma de decisiones de manejo en caso de emergencias. Derivado de la validación de estas metodologías, a partir de 2019, serán empleadas en la Campaña Nacional

de Vigilancia contra Plagas y Enfermedades Reglamentadas del Agave impulsada por el área de campañas del SAGARPA-SENASICA para su implementación en SIVEA. Sin embargo, no se descarta el uso de reconocimiento de imágenes en un futuro, donde la apreciación visual del técnico sea reemplazado por análisis automatizado mediante dispositivos móviles con un menor grado de error. El registro y envío de datos en tiempo real debe complementar el reconocimiento de imágenes para garantizarla gestión efectiva de datos.

2.6 LITERATURA CITADA

1. Acevedo-Sánchez G, Santana-Peñaloza B, López-Bautista V, Martínez-Bustamante V, Coria-Contreras J, Mendoza-Ramos C, Jiménez-González L y Mora-Aguilera G. 2017. Criterios epidemiológicos para implementar una red de monitoreo de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. en regiones agaveras de Jalisco. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 176-177.
2. Acevedo-Sánchez G y Mora-Aguilera G. 2016. Desarrollo de REG-NCafé v1.0 para determinar n-sitios de monitoreo-muestreo regional de roya del cafeto en México usando criterios epidemiológicos ponderados. 49º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Maceio, Brasil 26-30 agosto de 2016.
3. Casacuberta D. 2013. Innovación, Big Data y Epidemiología. *Revista Iberoamericana de Argumentación*. 7:1-12. <http://revistas.uned.es/index.php/RIA/article/view/10725>
4. Coria-Contreras J, Acevedo-Sánchez G, Mendoza-Ramos C, Jiménez-González L, Santana-Peñaloza B, Delgado-Mora F, García-Martínez C y Mora-Aguilera G. 2017. Epidemiología regional de la mancha gris del agave (*Cercospora agavicola*) en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 176.
5. Dias Porto- Chiavegatto Filho A. 2016. Uso de big data em saúde no Brasil: perspectivas para um futuro próximo. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 24(2):325-332. doi.org/10.5123/S1679-49742015000200015
6. Guzmán-Hernández E, Flores-Colorado OE, Acevedo-Sánchez G, Mora-Aguilera G, López-Javier MA y González-Gómez R. 2017. Apps como herramientas de soporte epidemiológico aplicado a sistemas regionales de vigilancia epidemiológica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 178-179.
7. Del Ponte EM, Pethybridge SJ, Bock CH, Michereff SJ, Machado FJ and Spolti P. 2017. Standard area diagrams for aiding severity estimation: Scientometrics, pathosystems, and methodological trends in the last 25 years. *Phytopathology* 107(10):1161-1174.

8. García-Mendoza AJ. 2007. Los agaves de México. *Ciencias* 87: 14-23. <http://www.revistaciencias.unam.mx/es/48-revistas/revista-ciencias-87/285-los-agaves-de-mexico.html>
9. Guzmán-Hernández E, Flores-Colorado OE, Acevedo-Sánchez G, Mora-Aguilera G, López-Javier MA y González-Gómez R. 2017. Apps como herramientas de soporte epidemiológico aplicado a sistemas regionales de vigilancia epidemiológica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35: 178-179.
10. Jiménez-González LR, Mendoza-Ramos C, Santana-Peñaloza B, Coria-Contreras J, Delgado-Mora F, Acevedo-Sánchez G, Guzmán-Hernández E y Mora-Aguilera G. 2017. Escala logarítmica diagramática de severidad para medición de pudrición seca del cogollo, marchitez y mancha gris del agave azul. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 177. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento352017.html>
11. Madden LV, Hughes G and Bosch F van den. 2007. Introduction. Pp. 1-10. *In*: Madden LV, Hughes G and Bosch F van den (eds.). *The Study of Plant Disease Epidemics*. American Phytopathological Society. St. Paul MN, EEUU. 421p.
12. Mora-Aguilera G, Rivas-Valencia P, Góngora-Canul C, Tovar-Soto A, Cristóbal-Alejo J, Loeza-Kuk E, Michereff S, Marinelli A y Osada-Velázquez K. 2000. Sistemas computarizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola 15-17 Oct. 2000, Puerto Vallarta, México.
13. Nelson SC, Corcoja I and Pethybridge SJ. 2017. Cluster: A new application for spatial analysis of pixelated data for epiphytotics. *Phytopathology* 107:1-11. doi.org/10.1094/PHYTO-07-17-0223-R.
14. Nutter FW, Esker PD and Netto RAC. 2006. Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. *European Journal of Plant Pathology*. 115:95-103 doi.org/10.1007/s10658-005-1230-z
15. Pethybridge SJ y Nelson SC. 2018. Estimate a new ipad application for assessment of plant disease severity using photographic standard area diagrams. *Plant Disease* 102:2, 276-281.

16. Pethybridge SJ and Nelson SC. 2015. Leaf Doctor: A new portable application for quantifying plant disease severity. *Plant Disease*. 99:1310-1316.
17. Robles SN, Gutiérrez VC, Serwatowski HR, Saldaña RA, Flores OA, Quiroz RC, Cabrera SJM, García BS y Juárez GA. 2012. Propuesta de una cosechadora-desmenuzadora de *Agave tequilana* Weber para la producción de bioetanol y revisión de los procedimientos existentes. *Acta Universitaria* 22(2): 9–18.
18. Rubio CR. 2007. Enfermedades del Cultivo de Agave. Pp. 170-195. Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de *Agave tequilana* Weber en la zona de denominación de origen del tequila. Rulfo-Vilchis FO, Pérez-Domínguez JF, Del Real-Laborde JI y Byerly-Myrphy KF. (eds.). Libro Técnico 4. INIFAP. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. 198p.
19. SENASICA-LANREF. 2014. Guía dinámica de plagas y enfermedades asociadas al *Agave tequilana* Weber var. azul. SENASICA-LANREF, México, D.F. 27p. <http://www.sivea.org.mx/web/files/tecnico/guiasdesintomas/Guia%20dinamica%20de%20sintomas%20v13feb16%20FINAL.pdf>.
20. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2017. Manual Operativo de la Campaña Contra Plagas Reglamentadas del Agave. Dirección de protección fitosanitaria. Clave: MOP-DPF-PRAV. <http://www.sivea.org.mx>

CAPITULO II. EPIDEMIOLOGÍA REGIONAL APLICADA A LA CARACTERIZACIÓN INDUCTIVA Y PRONÓSTICO DE LA MANCHA GRIS DEL AGAVE AZUL (*Cercospora agavicola*) EN JALISCO, MÉXICO

RESUMEN

Cercospora agavicola, agente causal de la mancha gris del agave azul (*Agave tequilana*), es un hongo reglamentado bajo control oficial en estados bajo Denominación de Origen del Tequila (DOT). Este trabajo se desarrolló en Jalisco, México, principal región DOT, para determinar la inductividad epidémica espacio-temporal del hongo y desarrollar modelos estocásticos de pronóstico de la mancha gris con el fin de sustentar acciones preventivas regionales. De octubre 2016 a diciembre 2017 se evaluó mensualmente la severidad, incidencia y número de plantas enfermas en 41 parcelas establecidas en plantaciones comerciales de agave de 3-4 años de edad seleccionadas con criterios ponderados de riesgo en Los Altos (20), Valles (11) y Sur (10). La inductividad epidémica regional de *C. agavicola* fue heterogénea con mayor riesgo para al menos nueve municipios de Los Altos. Sin embargo, bajas tasas epidémicas (0.0008-0.006 unidades semana⁻¹), fuerte restricción de contagio (1-4 plantas), reducido incremento anual de incidencia (0-32 plantas/0.5 ha) y nula captura de esporas evidenciaron la baja aptitud parasítica y epidémica del hongo. Consecuentemente, se encontró limitada capacidad predictiva aun con los mejores modelos generados (R^2_{adj} 0.51-0.60). Las horas favorables (HFav) de enero-abril, respecto a la infección, fue consistente entre modelos por lo que puede integrarse como algoritmo preventivo en SIVEA (www.sivea.org.mx). Las pérdidas regionales, bajo los parámetros epidémicos establecidos, se estimaron entre 98.01 MDD y 237 mil dólares americanos. La cercosporina, toxina asociada al género *Cercospora*, puede estar implicada en el progreso temporal lineal atípico y debe integrarse en futuras investigaciones.

Palabras clave: Pérdidas, dron, Weibull, NCBI, ABCPE, SIVEA

ABSTRACT

Cercospora agavicola, causal agent of the gray spot of blue agave (*Agave tequilana*), is a regulated fungus under official control in states under the Tequila Denomination of Origin (TDO). This work was carried out in Jalisco, Mexico, the main TDO region, to determine the spatial-temporal epidemic inductivity of the fungus and to develop stochastic models to forecast the gray spot in order to support regional preventive programs. Monthly, from October 2016 to December 2017 the severity, incidence and number of diseased plants were evaluated in 41 plots established in commercial agave plantations of 3-4 years of age selected with weighted risk criteria in Los Altos (20), Valleys (11) and South (10). The regional epidemic inductivity of *C. agavicola* was heterogeneous with a greater risk for at least nine counties of Los Altos. However, low epidemic rates (0.0008-0.006 units week⁻¹), strong restriction spread (1-4 plants), reduced annual increment of incidence (0-32 plants / 0.5 ha) and no spore capture evidenced the low parasitic fitness and reduced fungus epidemic capacity. Consequently, limited predictive capacity was found even with the best goodness of fit models (R^2_{adj} 0.51-0.60). The favorable hours (HFav) of January-April, with respect to infection, was consistent among models, so it can be used as preventive algorithm in SIVEA (www.sivea.org.mx). The regional losses, under the established epidemic parameters, were estimated between 98.01 MDD and 237 thousand US dollars. Cercosporin, a toxin associated with *Cercospora* genus, may be involved in atypical linear temporal progress and should be integrated in future research.

Key words: Losses, drone, Weibull, NCBI, AUDPC, SIVEA

2.1 INTRODUCCIÓN

México ostenta la Denominación de Origen del Tequila (DOT) conformada por 181 municipios de los estados de Guanajuato (7), Michoacán (30), Nayarit (8), Tamaulipas (11) y la totalidad de Jalisco (125). El DOT representa el 73.4% (81,053 ha) del agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) cultivado a nivel nacional, siendo Jalisco el más representativo con 64,499 ha (SIAP 2018). La DOT, a través de la industria tequilera, genera de forma directa una derrama económica regional estimada en 1,600 millones de pesos anuales y representa el sustento de 70,000 familias (SIAP 2015). Las implicaciones de mantener la región DOT agavera, legalmente definida en el tiempo y espacio, es multidimensional pero se fundamenta en el reto de garantizar la sustentabilidad productiva y rentabilidad bajo un modelo resiliente a largo plazo.

A partir de la década de los 90's, los inventarios productivos del agave en Jalisco han sido fuertemente afectados por factores fitosanitarios entre los que destacan el picudo (*Scyphophorus acupunctatus*), la marchitez por *Fusarium* spp, y la mancha gris causada por *Cercospora agavicola*. Ante los recurrentes desabastos de planta de siembra y la tendencia creciente del precio de la piña (tallo del agave) se ha incrementado el volumen de hijuelos movilizados dentro y entre estados acrecentando los riesgos fitosanitarios por lo que es importante fortalecer el monitoreo y muestreo en el marco de la Campaña Contra Plagas Reglamentadas del Agave (SENASICA, 2017). Así mismo, es importante desarrollar algoritmos de prevención y control para su integración en SIVEA (Sistema Integral de Vigilancia Epidemiológica del Agave), un sistema fitosanitario web operado por el SENASICA-DGSV (www.sivea.org.mx). Actualmente, una de las preocupaciones de productores es la dificultad del control de *C. agavicola*, por lo que este trabajo se enfocó a estudiar la mancha gris en Jalisco, estado en el cual históricamente se han reportado daños en Los Altos (Acatic, San Juan de los Lagos, Tepatitlán y Yahualica), Valles (Amatitán, Ahualulco, Arenal, Magdalena, San Juanito de Escobedo y Tequila), Sur (Autlán, El Grullo, El Limón y Unión de Tula) y Sierra Occidental (Atenguillo, Mascota y Mixtlán) (Rubio, 2007). La mancha gris se reportó en 2003 en Pénjamo, Guanajuato y en 2005 se identificó al agente causal como *C. agavicola* (Ayala-Escobar *et al.*, 2005). La infección del hongo

aparentemente ocurre en los periodos de octubre a marzo en condiciones favorables de humedad relativa $\geq 80\%$ y temperatura media entre 15 y 22 °C (Ángeles-Espino *et al.*, 2016; Valencia, 2011; Rubio, 2007). La infección primaria causa lesiones negras, ovaladas de hasta 1-3 cm, generalmente en el tercio medio a superior de hojas no expandidas del cogollo. La enfermedad desarrolla rápidamente produciendo manchas coalescentes, deprimidas grisáceas y termina con colapso del cogollo y muerte de planta.

Aunque se ha comprobado la implicación de cercosporina en el síntoma, toxina no específica producida por *Cercospora* spp, activada por luz y temperatura (Daub y Ehrenshaft, 2000; Jens *et al.*, 1989), este estudio se planteó bajo la premisa de que es posible pronosticar el proceso infeccioso primario, independiente del efecto de dicha toxina; así mismo, se propuso caracterizar atributos espacio-temporales a nivel parcelario-región con el fin de comprender procesos de dispersión, prevalencia e intensidad epidémica aplicables a la generación de alertas tempranas para fortalecer el manejo preventivo de la mancha gris del agave.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Red de monitoreo e inductividad epidémica regional.

De octubre 2016 a diciembre 2017, se estableció y evaluó una red de monitoreo de 41 parcelas distribuidas en predios comerciales de agave de 2-3 años en Los Altos (20), Valles (11) y Sur (10) del estado de Jalisco. Las parcelas se seleccionaron con base a un análisis de inductividad epidémica regional, para lo cual se emplearon datos de ocurrencia de focos de infestación generados durante 2012-2015 por la Campaña de Plagas Reglamentadas del Agave (www.sivea.org.mx), superficie cultivada (SIAP, 2015), clima (CONAGUA 2015) y factores edáficos (INEGI, 2015). Se empleó la metodología Reg-N a la matriz integrada de datos para generar un indicador epidémico multivariado de inductividad y para seleccionar parcelas que maximicen la variabilidad epidémica regional de la enfermedad (Cuadro 1, Anexo 1) (Acevedo-Sánchez *et al.*, 2017; Mora-Aguilera y Acevedo-Sánchez, 2016).

Cuadro 1. Localización de 41 parcelas de monitoreo en plantaciones comerciales de agave azul de 3-4 años de edad seleccionadas por criterio de inductividad epidémica para el estudio regional de la mancha gris, y condición inicial (Y_0) de ocurrencia de la enfermedad representado por número de plantas sintomáticas (P.enf) y severidad promedio de planta enferma (SProm) por parcela. Jalisco, México. 2016-2017.

Región	Municipio	Latitud	Longitud	ID Plantación	P.enf (Y_0) ^x	SProm(Y_0) ^y
Altos	Arandas	20.6973	-102.2572	A-ARA-CP01	94	32.8
		20.8508	-102.1592	A-ARA-CP04	1	100
		20.7618	-102.2936	A-ARA-CP05	3	63.6
		20.7624	-102.3470	A-ARA-CP06	7	31.4
		20.6954	-102.3241	A-ARA-CP20	22	22.5
	Jesús María	20.6161	-102.1381	A-JM-CP02	12	58.5
		20.6698	-102.0802	A-JM-CP03	0	0.0
		20.5931	-102.1582	A-JM-CP19	4	57.2
	Tepatitlán M.	20.7891	-102.5530	A-TEP-CP08	0	0.0
		20.8581	-102.6558	A-TEP-CP09	1	6.0
		20.6605	-102.6456	A-TEP-CP14	0	0.0
	Zapotlanejo	20.5797	-102.8915	A-ZAP-CP10	1	85.0
	Cerro Gordo	20.6842	-102.5042	A-SICG-CP15	10	43.5
		20.7505	-102.4838	A-SICG-CP07	18	61.1
	Ocotlán	20.4247	-102.7568	A-OCO-CP11	0	0.0
	Atotonilco A.	20.5151	-102.6127	A-ATO-CP12	2	85.0
	Mexican	21.2626	-102.7186	A-MEX-CP16	1	22.0
	Yahualica G. G.	21.1117	-102.8675	A-YAH-CP17	0	0.0
		21.1674	-102.8727	A-YAH-CP18	2	2.0
	Ayotlán	20.5357	-102.3696	A-AYO-CP13	1	65.0
Valles	Hostotipaquillo	21.0404	-104.1994	V-HOS-CP01	3	42.6
	Magdalena	20.9298	-104.1078	V-MAG-CP02	0	0.0
		20.8982	-103.9450	V-MAG-CP03	1	85

	20.9674	-104.0410	V-AMA-CP11	0	0.0
Tequila	20.9362	-103.8726	V-TEQ-CP04	0	0.0
Amatitán	20.8589	-103.7688	V-AMA-CP05	0	0.0
	20.8344	-103.6795	V-AMA-CP06	1	6.0
San Juanito E.	20.7724	-103.9958	V-SJE-CP07	0	0.0
Ahualulco M.	20.7388	-103.9321	V-AHU-CP08	0	0.0
Ameca	20.5029	-103.9862	V-AME-CP09	1	2.0
Cocula	20.3672	-103.8636	V-COC-CP10	0	0.0
Tecolotlán	20.1896	-104.0236	S-TEC-CP01	0	0.0
Juchitlán	20.0756	-104.1008	S-JUC-CP02	0	0.0
Autlán de N.	19.8322	-104.3041	S-AUT-CP03	0	0.0
Tuscacuesco	19.7397	-103.8802	S-TUS-CP04	0	0.0
San Gabriel	19.6659	-103.8135	S-SGA-CP05	4	56.0
San Andrés I.	19.8257	-103.5072	S-GF-CP06	3	64
Teocuitatlán C.	20.0920	-103.4223	S-TEO-CP07	5	39
	20.1270	-103.3524	S-TEO-CP08	1	6
Zacoalco de T.	20.2014	-103.5321	S-ZAC-CP09	14	35.2
Acatlán de J.	20.4808	-103.6357	S-ACA-CP10	1	85

^x Penf=Número de plantas enfermas con mancha gris al seleccionar el sitio localizadas al centroide de parcela.

^y SPromY₀= Severidad promedio en planta enferma al seleccionar el sitio.

El indicador epidémico se usó para generar un mapa de inductividad regional mediante ArcMap de ArcGis v10.3. Por predio comercial se seleccionó una parcela con una población de plantas de aproximadamente 0.5 ha; 25 parcelas tuvieron un foco central de 1-94 plantas enfermas con una severidad de macha gris entre 6-65%. Este foco constituyó el Yo o intensidad inicial de epidemia. En 16 parcelas se tuvieron únicamente poblaciones de plantas aparentemente sanas. Al centro de la parcela se colocó una trampa TIDE modificada (Anexo 2) con un dispositivo pasivo de impacto y deposición (Mora-Aguilera *et al.*, 2014b). En cada trampa se colocaron tres

portaobjetos con cinta adhesiva doble cara, dos el dispositivo de deposición y una en la de impacto. En el mismo soporte de la trampa se instaló un *data logger* Hobo® Pro V2 configurado a intervalos de 30 minutos con el propósito de relacionar cambios de intensidad de enfermedad con variables de temperatura y humedad relativa ambiental. Quincenalmente se colectaron los portaobjetos de trampas y se realizó la extracción *in situ* de datos climáticos.

2.2.2 Diagnóstico molecular de *C. agavicola*.

Con el objetivo de confirmar la asociación del agente causal con la mancha gris se colectó en 13 parcelas de monitoreo muestras vegetales con lesiones típicas de la enfermedad. En laboratorio, el tejido se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1.5% durante dos minutos, se enjuagó 3 veces con agua estéril y se incubó en cámara húmeda a 24-28 °C alternando 12:12 h luz:oscuridad durante 3 días. A partir del crecimiento micelial se aisló al hongo en medio PDA-Agave (Ayala-Escobar *et al.*, 2005) (Anexo 3). La extracción de DNA se realizó por el método AP modificado (Anexo 4) (Sambrook y Russel, 2001) y se amplificó por PCR la región ITS 1-4 (White *et al.*, 1990). El producto de PCR fue enviado a Macrogen (Seoul Corea) para su secuenciación. La identidad de las secuencias se realizó por medio del programa web Blast® *blastn suite* en NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

2.2.3 Variables de evaluación.

En cada parcela se evaluó mensualmente la incidencia de plantas enfermas y la severidad en planta mediante una escala diagramática de 7 clases (0=sana, 1=2%, 2=6%, 3=22%, 4=65%, 5=85% y 6=100%) (Jiménez-González *et al.*, 2017). La evaluación se realizó siempre en las mismas plantas para lo cual se seleccionaron y marcaron en un patrón sistemático discontinuo de 1x2 surcos y 1x3 plantas/surco, totalizando 273 plantas. El registro de las evaluaciones y su localización espacial se realizó directamente en App-SIVEA v1.1, una aplicación Android para telefonía móvil generada por COLPOS-LANREF (Guzmán-Hernández *et al.*, 2017). Los datos se

enviaron por vía satelital a la plataforma SIVEA (www.sivea.org.mx) para la integración automática de la matriz de datos regional. Para el monitoreo aerobiológico contabilizó el número de esporas en 7 cm² de cada portaobjeto de la trampa.

2.2.4 Caracterización de epidemias, análisis espacial y temporal.

Se caracterizó temporal y espacialmente un total de 41 epidemias inducidas por *C. agavicola* (Anexo 5). Con base en un análisis gráfico exploratorio de parámetros epidémicos (Mora-Aguilera *et al.*, 1993) se seleccionaron 14 epidemias, ocho en Los Altos, tres en Valles y tres en Sur para la estimación de tasas epidémicas representativas regionalmente. Para este fin se empleó el modelo flexible Weibull, el cual describe y ajusta curvas epidémicas de forma diversa (Mora-Aguilera *et al.*, 1996). Para el ajuste del modelo se realizó la transformación de los datos de severidad en planta y número de plantas enfermas acumuladas a proporción dividido entre su respectivo valor máximo acumulado por cada región con el propósito de estandarizar las diferentes epidemias. El modelo Weibull, con dos parámetros fue ajustado con el procedimiento NLIN de SAS® v9.4 mediante la ecuación $y = 1 - \exp(-t/b)^c$ donde: y = severidad o número de plantas enfermas en proporción, t = tiempo, b = parámetro estimador de tasa y c = parámetro de forma de la curva. Adicionalmente, se estimó el Área Bajo la Curva de Progreso de Enfermedad (ABCPE) con datos de severidad de planta enferma y con el número de plantas enfermas (Anexo 6). La combinación aditiva se empleó como un estimador de índice de daño (ID). Para el análisis espacial se seleccionó la epidemia con mayor intensidad por cada región para analizar el comportamiento de contagio intraparcilario. Con las evaluaciones en Y_0 (Nov-2016) y Y_{max} (pico de incremento absoluto máximo) (Dic-2017) se generaron mapas interpolados y se analizaron los semivariogramas geostadísticos con el programa Surfer® v10.6 (Golden software, EUA). Adicionalmente, a través del programa MorLloyd versión 1.0 desarrollado en MS Excel (Rivas-Valencia y Mora-Aguilera 2010. No publicado) se calculó el índice de Morisita y Loyd para estimar el patrón de dispersión espacial parcelario de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990).

2.2.5 Detección de focos con dron.

Para analizar la capacidad de detección temprana de focos asistido con vehículos no tripulados, se empleó el dron Phantom4 de DJI® con cámara RGB 14mpx. Se eligieron predios de 3-5 años con incidencia-severidad variable de mancha gris. Para optimizar tiempo, recursos energéticos, almacenamiento digital y analíticos, necesarios en enfoques regionales, los vuelos se realizaron en trayectoria vertical partiendo del centroide/predio para captura de imágenes a alturas entre 10-200m. Las capturas se realizaron entre 8:00am y 18:00pm para evaluar efecto de luz reflejada. El análisis de imágenes mediante método de clasificación por máxima probabilidad y mejora de resolución se realizó con ArcMap® v10.1 y QGIS® v2.18.2.

2.2.6 Desarrollo de modelos de pronóstico.

La generación de modelos estocásticos de pronóstico para estimar cambios en la intensidad de enfermedad se desarrolló en dos etapas: 1) Selección de epidemias representativas para cada región, y 2) Generación de modelos de regresión lineal múltiple entre cinco variables dependientes Y_i con respecto a ocho variables independientes X_i con desfases (LAG) de 2-20 semanas para incluir el efecto del periodo de incubación. Los modelos se generaron para dos ventanas de inductividad epidémica (VI_i) correspondientes a los periodos enero-abril 2017 (VI_1) y junio-octubre 2017 (VI_2), los cuales se definieron por exploración grafica entre horas favorables y Y_i . La bondad de ajuste de los modelos se evaluó con *CP-Mallow*, factor de inflación de la varianza (VIF en inglés) y el coeficiente de regresión ajustado R^2_{Adj} (Mora-Aguilera *et al.*, 1993). La generación de modelos se realizó en los procedimientos REG y GLM del programa estadístico SAS v9.4 (Anexo 6).

2.2.7 Selección de variables independientes.

Debido a las características parasíticas de *C. agavicola* se eligieron variables climáticas para correlacionar con variables dependientes. Se usó el promedio, máximo y mínimo acumulado semanal de temperatura y humedad relativa. Una infección exitosa del

hongo requiere humedad relativa mayor a 80% y entre 15-22 °C (Ángeles-Espino *et al.*, 2016). Con esta base, se calculó el número acumulado semanalmente de horas favorables que cumplieran los dos requerimientos para la germinación de conidios de *C. agavicola*. El cálculo se realizó con el programa MS CalculaHF (Santana-Peñaloza, *et al.*, 2015). En total, ocho variables independientes X_i se emplearon para generar modelos de pronóstico (Cuadro 2).

2.2.8 Selección de variables dependientes.

Las variables dependientes analizadas incluyeron el número de plantas enfermas (Y_1), sumatoria del número de plantas enfermas (Y_2), severidad de planta (Y_3), severidad de planta en proporción (Y_4) y número de plantas enfermas en proporción (Y_5). Todas las variables representaron incrementos absolutos por cada intervalo de tiempo $t_i - t_{i-1}$, por parcela ($Y_1, Y_3 - Y_5$) o por las n -parcelas de cada región (Y_2) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Variables dependientes e independientes para generar modelos estocásticos de pronóstico de cambios de intensidad de la enfermedad mancha gris del agave azul en Jalisco, México.

Variables	Símbolo
Independientes (X_i) ^x	
Temperatura promedio semanal	Tprom(2-20 semanas)
Temperatura mínima semanal	Tmin(2-20 semanas)
Temperatura máxima semanal	Tmax(2-20 semanas)
Humedad relativa promedio semanal	HRprom(2-20 semanas)
Humedad relativa mínima semanal	HRmin(2-20 semanas)
Humedad relativa promedio semanal	HRmax(2-20 semanas)
Número de horas favorables con desfase (lag) de n semanas	HFav(2-20 semanas)
Número de horas supresivas con desfase (lag) de n semanas	HSup(2-20 semanas)
Dependientes en incrementos absolutos (Y_i) ^y	
Número de plantas enfermas	Y_1

Sumatoria de plantas enfermas ^z	Y_2
Severidad en planta enferma (%)	Y_3
Proporción de severidad en planta	Y_4
Proporción del número de plantas enfermas	Y_5

^xEl cálculo de variables se realizó por parcela de monitoreo

^yIncremento absoluto: $Y_i - Y_{i-1}$

^zLa sumatoria se realizó para las n -parcelas de monitoreo de cada región (Los Altos, Valles y Sur) por cada tiempo- i de evaluación.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Caracterización del hongo.

Las características culturales, morfológicas y moleculares de 13 aislados fungosos correspondieron a *C. agavicola*. Las secuencias de ADN de los aislados se analizaron con el programa Blast® *blastn suit* resultando 99% de homología con respecto a la secuencia con número de accesoión AY647237 correspondiente a *C. agavicola* (Ayala-Escobar *et al.*, 2005) agrupandose en el mismo cluster. Las ramas mostraron la misma distancia genética y no se observaron cambios en la secuencia de nucleótidos de las muestras colectadas a diferencia de otras especies del mismo género que se agruparon en clusters diferenciados (Figura 1). Las muestras secuenciadas fueron registradas en el *GenBank* con números de accesoión MH458575- MH458587.

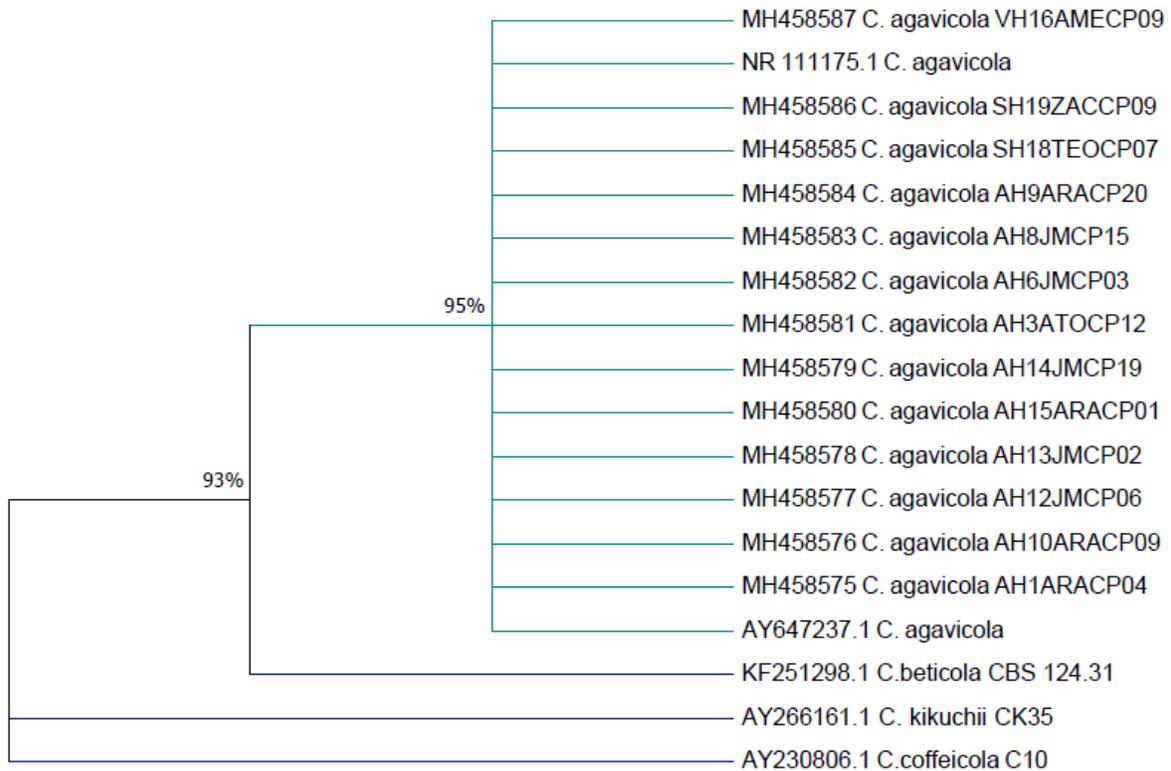


Figura 1. Árbol filogenético de muestras colectadas en 13 sitios de monitoreo en las regiones Los Altos (10), Sur (2) y Valles (1).

2.3.2 Inductividad epidémica regional.

El mapa de inductividad epidémica a nivel del estado de Jalisco mostró el potencial de *C. agavicola* para inducir epidemias con intensidad espacialmente heterogénea. El mayor potencial se estimó para Los Altos con niveles de moderado a muy alto resaltando municipios de Jesús María, Atotonilco, Ayotlán, Degollado, San Ignacio, Cerro Gordo, Arandas, Tepatitlán y Cuquío (Figura 2). En Valles, el potencial se categorizó de bajo a moderado sobresaliendo Ahualulco, San Juan y Magdalena. La región Sur exhibió condiciones homogéneas de baja inductividad (Figura 2).

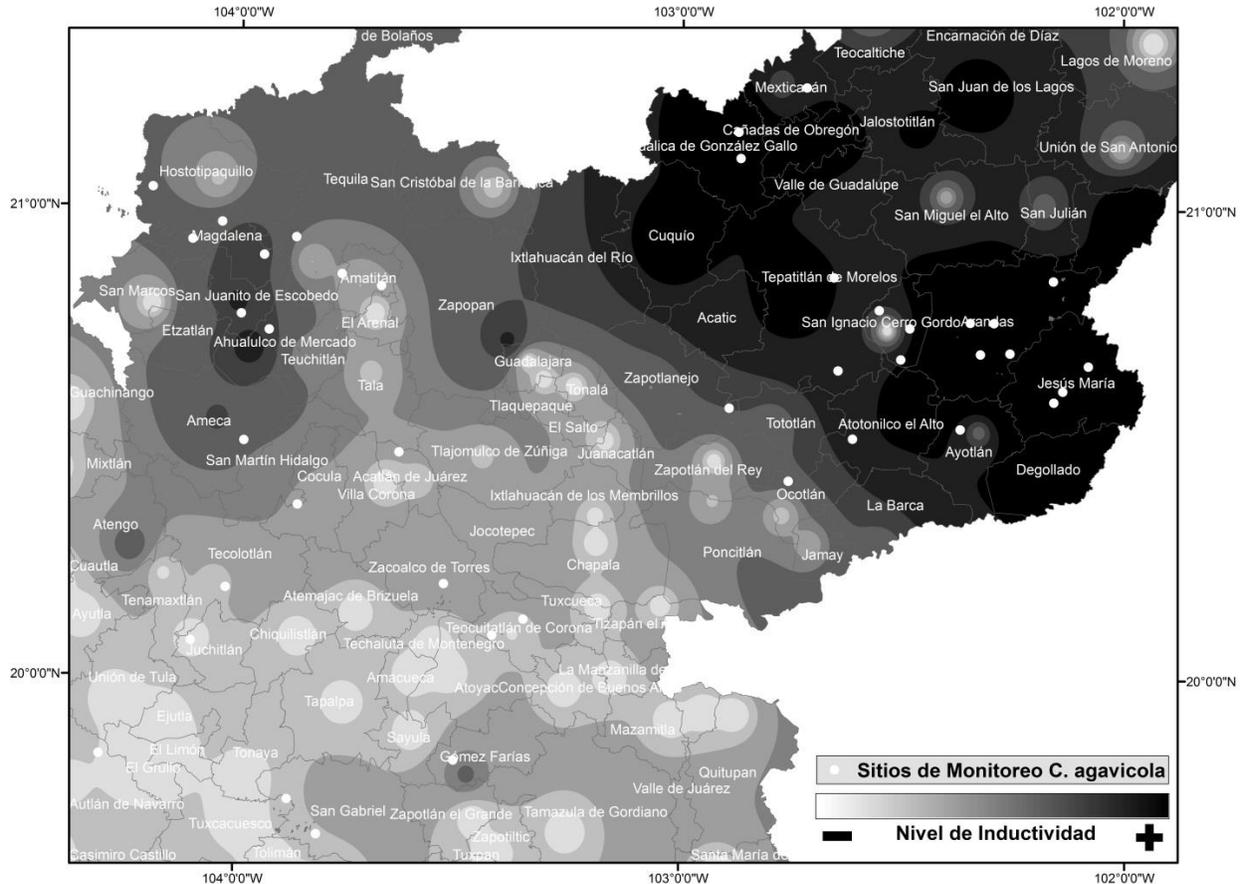


Figura 2. Mapa de inductividad epidémica de *Cercospora agavicola* estimado con un indicador multivariado de ocurrencia de enfermedad (2012-2015), clima, tipología de suelo y superficie municipal de agave azul (*Agave tequilana*). Parcelas de monitoreo epidémico (puntos blancos) en plantaciones de agave comerciales de 3-4 años de edad. Jalisco, México.

2.3.3 Caracterización de epidemias.

En un total de 12 evaluaciones mensuales de incidencia y severidad, la mancha gris del agave se presentó con baja intensidad en 33 de las 41 parcelas de monitoreo. En los ocho restantes la ocurrencia de la enfermedad fue nula. En Y_0 , la incidencia regional promedio en Los Altos fue 3.6%, Valles 0.33% y Sur 0.51%. En la fase final del estudio epidémico (Y_f) se observó poca variación con 2.0, 0.9 y 0.1% con incrementos absolutos máximos en el periodo de marzo a mayo 2017 de 4.4, 1.3 y 0.2%,

respectivamente. En general, la severidad de plantas enfermas estuvo en el rango de 2-100%, con severidad promedio a entre 0.01-12.8%. La incidencia total absoluta anual regional estuvo en el rango de 0-11%. Por parcela, el mayor incremento absoluto del número de plantas enfermas de Y_o a Y_{max} fue de 94 a 125 plantas en Los Altos, 1 a 6 en Valles y 14 a 17 en Sur. De estas plantas, la mortalidad fue de 9, 1 y 9 en Y_f , respectivamente. La severidad absoluta incrementó de 11.3-28.1% en Altos, 1.8-5.7% en Sur y 0.02-0.7% en Valles. A partir de epidemias de 14 parcelas seleccionadas para modelaje temporal, la región Los Altos que tuvo el mayor índice de daño (ID) con 74.1-329.9 %núm.día⁻¹ seguido de Sur con 108-144.5 y Valles 0-51.2 (Cuadro 3).

2.3.4 Análisis Espacial.

El análisis de patrones espaciales a nivel parcela demostró un limitado incremento de Y_o a Y_{max} en el número y expansión de focos en un periodo de 5-8 meses. El mayor incremento, incluyendo coalescencia de focos, se observó en una parcela de Los Altos, una condición extrema no observada en otros predios estudiados (Figura 3). En parcelas de Sur y Valles, el incremento fue principalmente en número e intensidad de foco estimado con la severidad de enfermedad. Los focos mantuvieron prácticamente su tamaño original en Y_o y se incrementaron de 5 a 9 y de 0 a 2, respectivamente (Figura 3). El índice de agregación de Morisita estuvo en el rango de 2.4-10.9, indicando agregación moderada a fuerte (focos). Sin embargo, los variogramas de autocorrelación mostraron una dependencia espacial limitada de 2 y 4 plantas para Sur y Los Altos, respectivamente. En la región Valles se observó la menor dependencia espacial con valor de uno, indicativo de una fuerte restricción de contagio.

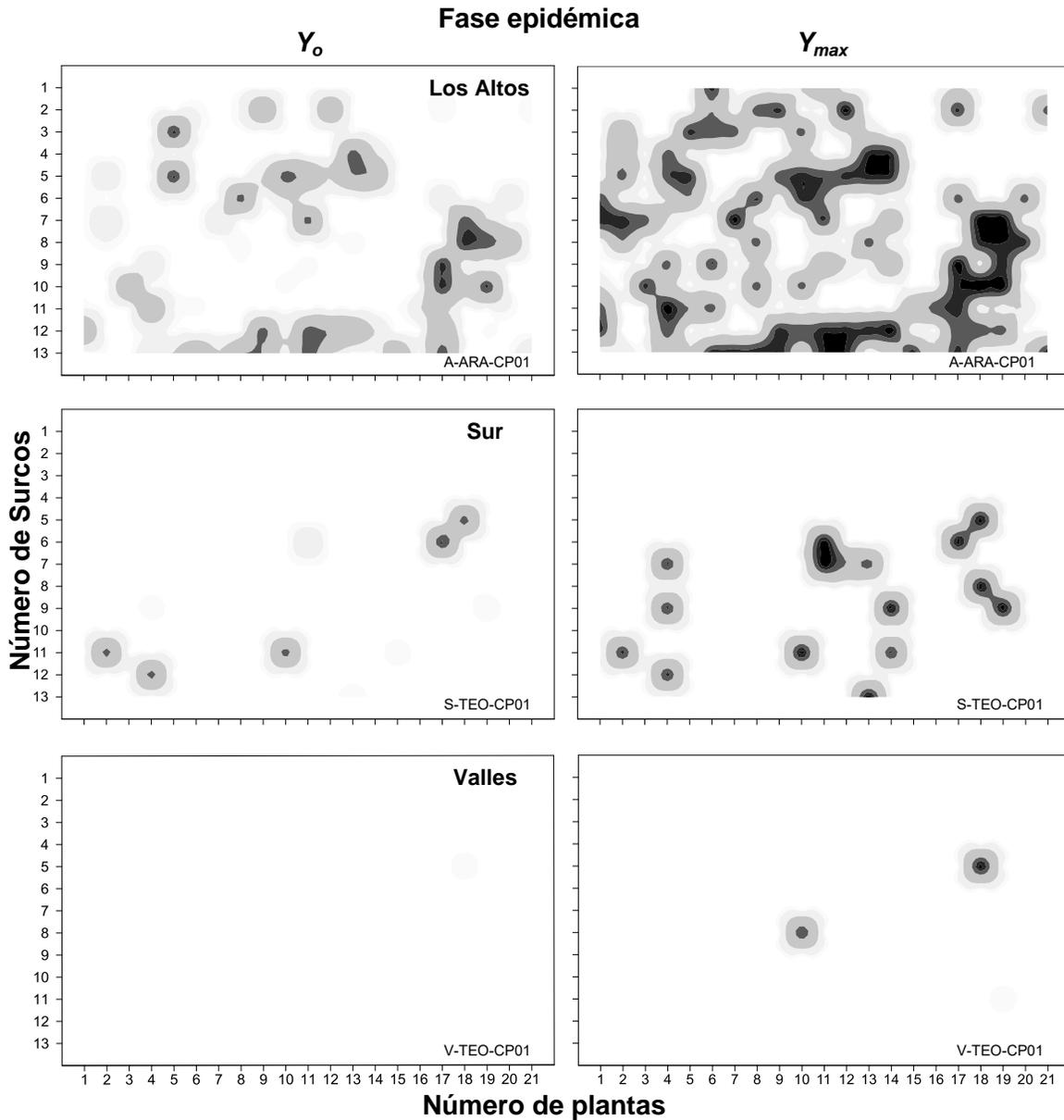


Figura 3. Patrón espacial en las fases epidémicas Y_0 y Y_{max} en tres parcelas comerciales seleccionadas por el mayor número de plantas enfermas en tres regiones agaveras de Jalisco, México. Y_0 para Altos y Sur fue octubre 2016; Y_0 en Valles noviembre 2016. Y_{max} en Altos y Sur Junio y Julio 2017, respectivamente; Valles septiembre 2017.

La detección de focos tempranos de mancha gris fue posible en vuelos verticales a alturas 50-100m. La eficiencia detección-delimitación focos fue >85%. La

caracterización de daño más preciso fue la variable de incidencia con error $\pm 7\%$. La precisión estuvo en función al desarrollo de enfermedad, edad, maleza y hora/vuelo (Figura 4).

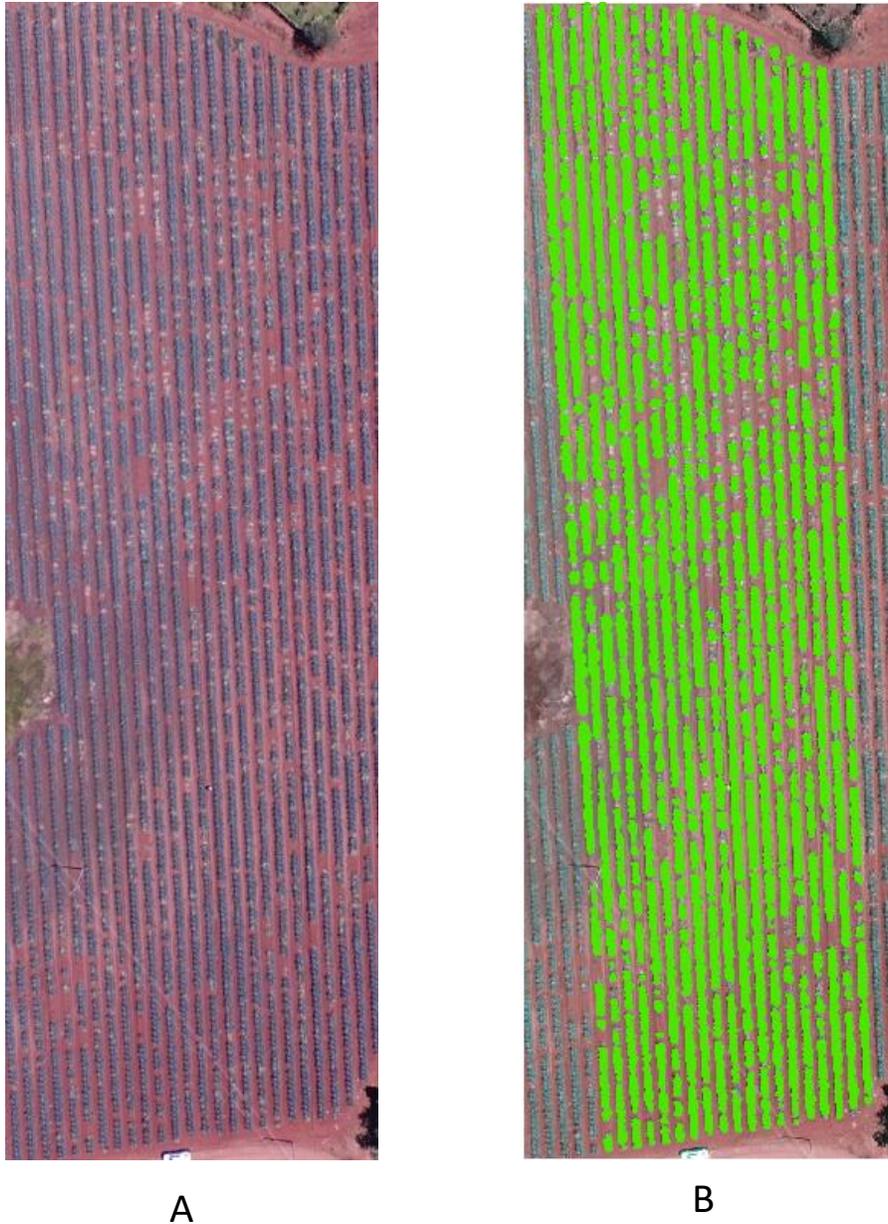


Figura 4. A. Imagen RGB capturada las 13 horas a 220 m de altura en vuelo centroide-vertical sobre una hectárea de agave azul de 3 años con incidencia de mancha gris en Arandas, Jalisco. B. Imagen procesada en ArcGis para estimación del número de plantas e incidencia de plantas enfermas. Censo terrestre: 3600 plantas vs Censo estimado por análisis de imagen: 3717. Incidencia censada vs

estimada: 40.5 y 38.3%, respectivamente. Notar la discontinuidad dentro de surcos (ausencia de color verde o pérdida del bandeo) representando focos simples o coalescentes de enfermedad.

2.3.5 Análisis Temporal.

El comportamiento epidémico estimado con la proporción de severidad de planta estandarizada y acumulada (Y_4) fue la más adecuada para estimar tasas epidémicas en las 14 epidemias seleccionadas. El modelo Weibull con dos parámetros tuvo una moderada bondad de ajuste en 8/13 epidemias con un rango de R^2 de 0.62-0.87 ($p \leq 0.001$). En 4/13 el coeficiente de regresión (R^2) estuvo en el rango de 0.96-0.99 ($p < 0.0001$). Una parcela de Valles tuvo una sola planta enferma en el periodo de 12 meses por lo que no se requirió el ajuste del modelo (Figura 5, Cuadro 3). Las tasas epidémicas estimadas (b^{-1}) estuvieron en el rango de 0.0008-0.006 unidades semana⁻¹, correspondiendo con epidemias de muy baja intensidad. Las tasas epidémicas relativamente superiores se observaron en Los Altos seguido de Sur. La forma de las curvas epidémicas (c) estuvieron en el rango de 0.58-5.15 y representaron un progreso de tipo lineal, atípico para un proceso infeccioso multiplicativo (Campbell y Madden, 1990).

Cuadro 3. Parámetros de ajuste del modelo Weibull e Índice de Daño (ID) de curvas de proporción estandarizada de severidad (Y_4) de 14 epidemias seleccionadas regionalmente para estimar la tasa de epidémica ($1/b$) e intensidad epidémica (ID) inducida por *C. agavicola* en Jalisco, México. 2016-2017.

Reg	Parcela	Latitud	Longitud	Modelo	1/b	ID ^x	R ²	Pr > F
	A1	20.69727	-102.25716	$Y_4=1- \text{EXP} (t/112.7)^{1.24}$	0.003	329.9	0.98	<.0001
	A4	20.85077	-102.15921	$Y_4=1- \text{EXP} (t/65149.7)^{0.74}$	0.005	168.0	0.71	0.001
	A7	20.75053	-102.48384	$Y_4=1- \text{EXP} (t/1197.1)^{0.86}$	0.003	161.4	0.96	<.0001
Altos	A10	20.57965	-102.89150	$Y_4=1- \text{EXP} (t/28742.1)^{0.85}$	0.004	149.9	0.62	0.004
	A13	20.53568	-102.36955	$Y_4=1- \text{EXP} (t/1716.4)^{2.76}$	0.0008	74.1	0.77	0.0003
	A15	20.68421	-102.50424	$Y_4=1- \text{EXP} (t/116.3)^{1.14}$	0.003	120.0	0.96	<.0001
	A17	21.11167	-102.86754	$Y_4=1- \text{EXP} (t/3311)^{1.90}$	0.003	93.0	0.75	0.0005
	A20	20.69541	-102.32411	$Y_4=1- \text{EXP} (t/472)^{1.60}$	0.003	130.4	0.99	<.0001
	S5	19.66587	-103.81346	$Y_4=1- \text{EXP} (t/113353)^{0.58}$	0.004	131.1	0.86	<.0001
Sur	S7	20.09198	-103.42234	$Y_4=1- \text{EXP} (t/25831.5)^{0.83}$	0.003	102.8	0.85	<.0001
	S9	20.20140	-103.53209	$Y_4=1- \text{EXP} (t/3629.6)^{0.86}$	0.004	144.5	0.99	<.0001
	V9	20.50290	-103.98623	$Y_4=1- \text{EXP} (t/5740.9)^{5.15}$	0.0002	0.0	0	-
Valles	V10	20.36717	-103.86355	$Y_4=1- \text{EXP} (t/6490.9)^{1.26}$	0.004	30.6	0.87	<.0001
	V11	20.96739	-104.04096	$Y_4=1- \text{EXP} (t/28742.1)^{0.85}$	0.006	51.2	0.63	0.004

^xÍndice de daño=ABCPE del número de plantas enfermas + ABCPE de la severidad de plantas enfermas.

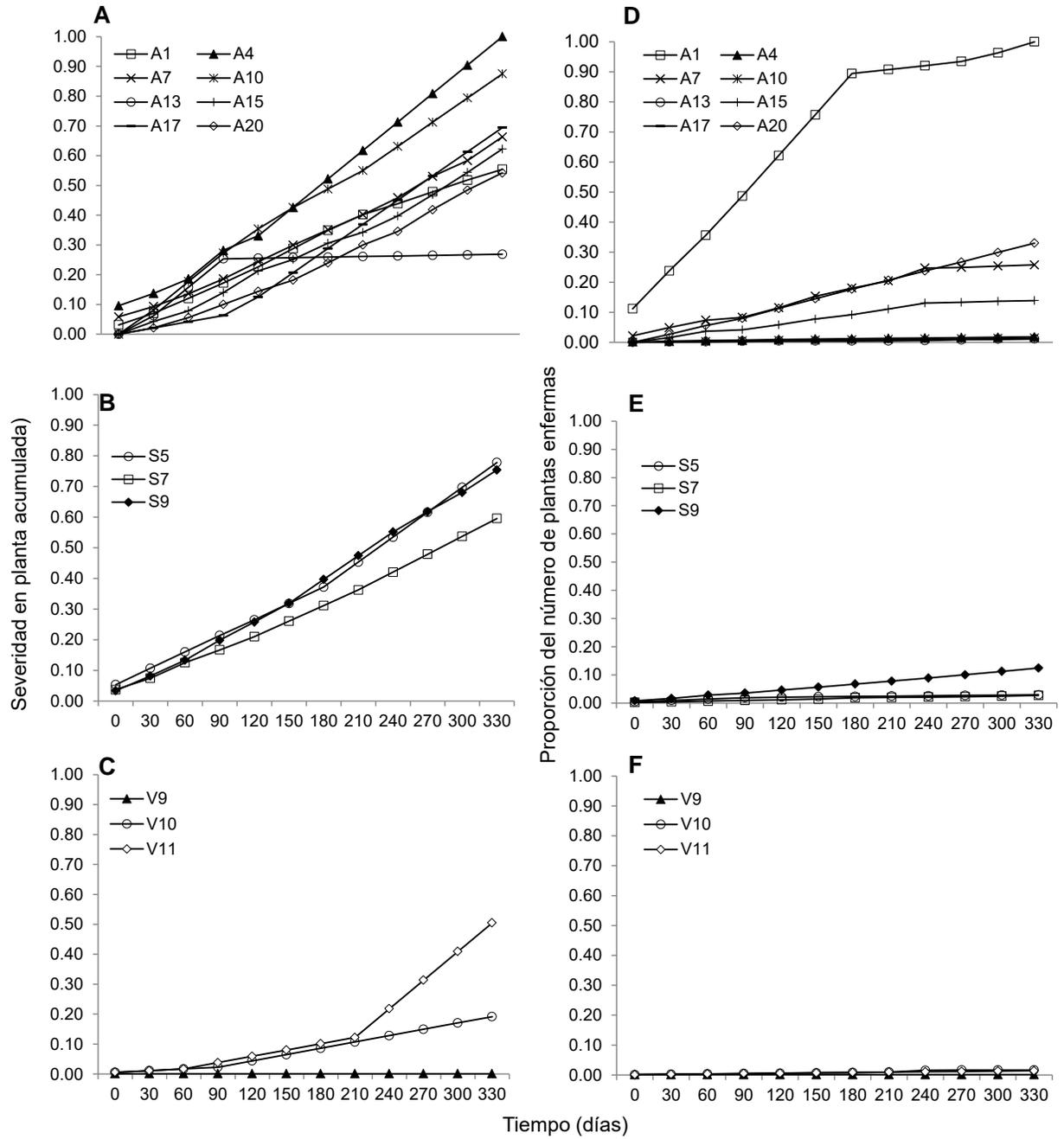


Figura 5. Progreso epidémico en 14 parcelas comerciales de agave en Jalisco, México. Proporción estandarizada acumulada de severidad en planta para A) Altos, B) Sur y C) Valles. Proporción estandarizada acumulada del número de plantas enfermas para D) Altos, E) Sur y F) Valles.

2.3.6 Modelos de Pronóstico.

Se seleccionaron 14 epidemias por tipología de forma e intensidad contrastante en el tiempo para el desarrollo de modelos regionales de pronóstico. Se generaron y analizaron un total de 82 modelos a partir del número de epidemias mencionadas y las variables dependientes Y_i , los cuales resultaron con R^2_{adj} de 0.15-0.60. Aunque con baja capacidad de pronóstico, los mejores modelos se obtuvieron con Y_2 , la sumatoria del número de plantas enfermas por unidad de tiempo y por región, y con las variables HFav y HRprom, con un LAG de 2 y 12 semanas como variables independientes. Estos modelos tuvieron R^2_{adj} en rango de 0.29-0.60, C(p) de 0.03-8.8, VIF de 1-5.9 y $p < 0.003$. Los mejores modelos de pronóstico fueron para la VI_1 (enero-abril 2017) para Los Altos y Sur (Cuadro 4, Figura 6).

Cuadro 4. Modelos estocásticos seleccionados para el pronóstico en dos ventanas de inductividad, VI_1 (enero-abril) y VI_2 (junio-octubre), del incremento absoluto de la sumatoria de plantas enfermas (Y_2) de mancha gris del agave azul en tres regiones agaveras de Jalisco. 2016-2017.

Region	Modelos ^x	F	C(p) ^y	VIF	R ² Adj ^z
Altos / VI_1	$Y_2 = 1.31(HFav_{12})$	<.0001	8.84	2.04	0.47
Altos / VI_1	$Y_2 = 0.8(HFav_2)$	<.0001	0.03	1.00	0.51
Altos / VI_1	$Y_2 = 0.95(HFav_{12}) + 0.25(HRprom_{12})$	<.0001	2.00	2.04	0.50
Altos / VI_2	$Y_2 = 0.0.005(HFav_{12}) + 0.17(HRprom_{12})$	<.0001	2.00	2.54	0.23
Sur / VI_1	$Y_2 = -0.04(HFav_{12}) + 0.25(HRprom_{12})$	<.0001	2.00	4.75	0.60
Sur / VI_1	$Y_2 = 0.04(HRprom_2)$	<.0001	6.46	4.00	0.57
Sur / VI_2	$Y_2 = 0.002(HFav_{12}) + 0.02(HRprom_{12})$	<.0001	2.00	3.67	0.31
Sur / VI_2	$Y_2 = 0.004(HFav_2)$	<.0001	1.04	1.00	0.32
Valles/ VI_1	$Y_2 = -0.006(HFav_{12}) + 0.01(HRprom_{12})$	0.0003	2.00	3.67	0.32
Valles/ VI_1	$Y_2 = -0.003(HFav_2) + 0.008(HRprom_2)$	<.0001	2.00	3.25	0.31
Valles/ VI_2	$Y_2 = -0.001(HFav_{12}) + 0.02(Hprom_{12})$	<.0001	2.00	4.15	0.32

Valles/VI2 $Y_2 = -0.001(HFav_2) + 0.014(Hprom_2)$ <.0001 2.00 5.93 0.29

^xHRprom_{2,12}=porcentaje de humedad relativa promedio semanal, HFav_{2,12}= horas favorables acumuladas por una semana y desfasadas 2 o 12 semanas a partir de la evaluación de Y_2 .

^yEstadísticos de bondad de ajuste: Cp-Mallow. VIF=Factor de inflación de la varianza.
 R^2_{adj} =Coeficiente de regresión ajustado.

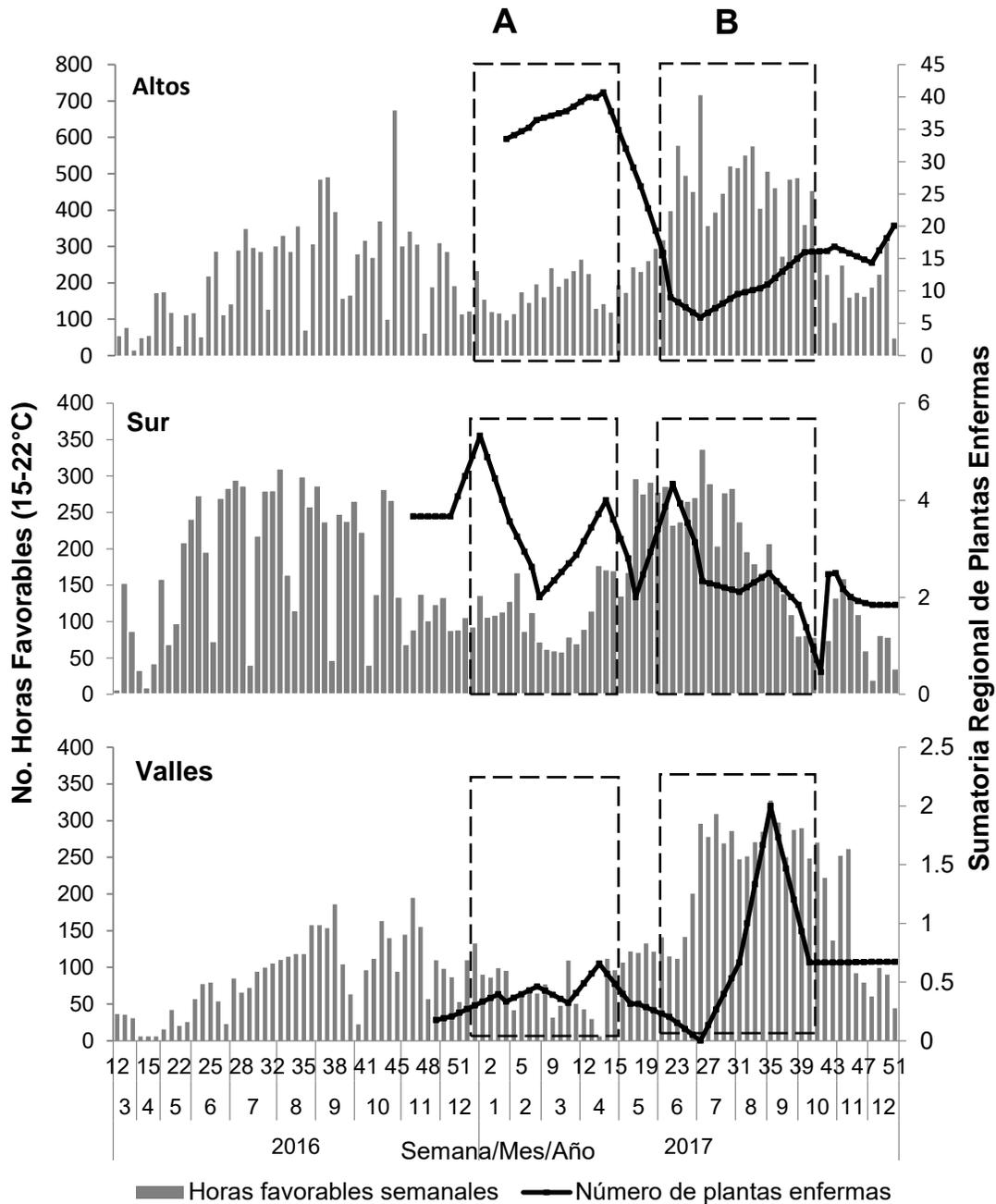


Figura 6. Curvas epidémicas de la sumatoria del número de plantas enfermas de agave azul con mancha gris en 8, 3 y 3 parcelas de monitoreo para Los Altos, Sur y Valles, respectivamente (líneas). Número acumulado por semana de horas favorables para la infección *C. agavicola* obtenidas de marzo 2016 a dic 2017 (barras). A) Ventana de inductividad epidémica correspondiente al periodo enero-abril 2017 (VI_1). B) Ventana de inductividad epidémica correspondiente al periodo jun-oct 2017 (VI_2).

2.4 DISCUSIÓN

El agente causal de la mancha gris del agave azul, causado por *C. agavicola*, tiene un potencial epidémico regional heterogéneo con mayor riesgo para Los Altos (Figura 2). Este resultado se confirmó con datos exhaustivos de 12 meses obtenidos a partir de una red de monitoreo de 41 parcelas en condición productiva comercial de Jalisco. Sin embargo, todos los parámetros, indicadores y variables estimados demostraron consistentemente la baja capacidad epidémica de *C. agavicola*. Debido al enfoque regional aplicado, el cual permite optimizar el sistema epidemiológico, para captar la variabilidad epidémica regional, estos resultados son inherentemente robustos. Así, tasas epidémicas muy bajas (0.0008-0.006 unidades semana⁻¹), contagio fuertemente restringido (1-4 plantas), reducido incremento anual de plantas enfermas (0-32 plantas) y nula captura de esporas en 41 trampas muestran la baja aptitud parasítica del hongo (Cuadro 2-3, Figura 3).

Los modelos estocásticos de pronóstico son recurrentes en la epidemiología por la facilidad analítica de incluir un conjunto de variables en un proceso estadístico automática de selección de variables y modelos (Mora-Aguilera *et al.*, 1993; Chuang y Jeger, 1987; Coakley *et al.*, 1985). Sin embargo, la aplicación práctica de estos modelos puede ser limitada por la captación restringida de la variabilidad implícita en estudios parcelarios en contraposición con enfoques regionales (Mora-aguilera *et al.*, 2015; Carmona *et al.*, 2010). Por otra parte, una condición obligada para la viabilidad del pronóstico es la ocurrencia de epidemias con picos de variable intensidad para garantizar la identificación de variables independientes con una significativa capacidad descriptiva (Mora-Aguilera *et al.*, 1993). En este trabajo, aunque exhaustivo en la caracterización de la varianza epidémica regional con el estudio de 41 epidemias, la baja intensidad de la enfermedad no permitió la generación de modelos con aceptable capacidad predictiva (*i.e.* $R^2 > 0.70$). Esta restricción, más que temporal puede ser inherente a la limitada aptitud parasítica del *C. agavicola* y al rol de la toxina en el cuadro de daño (Apoga *et al.*, 2002; Franco-Navarro y Zavaleta-Mejía, 2001; Daub y Ehrenshaft, 2000; Jens *et al.*, 1989; Kurppa, 1985), el cual puede ser importante debido a la ausencia de una curva típica de procesos infecciosos con tendencias temporales

lineales (Figura 5). En consecuencia, la premisa de esta investigación de pronosticar el proceso infeccioso primario con éxito, independiente del efecto de la toxina, podría descartarse y en el futuro serían necesarios modelos mixtos que incluyan el proceso infeccioso y el tóxico. Sobre todo, considerando la adaptación del agave a climas secos con alta radiación solar posiblemente óptimos para la activación de la cercosporina (Daub y Ehrenshaft, 2000). Las implicaciones de toxinas fungosas y otros factores abióticos en procesos epidémicos y de patogénesis atípicos han sido reconocidos desde los trabajos de Vanderplank (1984) y otros (Apoga *et al.*, 2002; Liljeroth, 1994, Kurppa, 1985; Ludwig, 1957). Sin embargo, a pesar de la limitada capacidad predictiva, aun de los mejores modelos generados, correspondientes a Los Altos y Sur (R^2_{adj} 0.51-0.60), se observaron tendencias analíticas consistentes: 1). Identificación de dos ventanas de inductividad de enfermedad siendo más importante la de enero-abril, posiblemente por las condiciones más ideales para el desarrollo de la infección primaria con limitado efecto de toxina (Ángeles-Espino *et al.*, 2016). 2). Selección de un periodo LAG de 2 y 12 semanas que podrían estimar el periodo de incubación y latencia del hongo, respectivamente. En *Pseudocercospora opuntiae*, un hongo con similar comportamiento epidémico (Hernández-Sánchez *et al.*, 2014), se reporta un periodo de latencia de 14 semanas (Quezada-Salinas *et al.*, 2013). 3). La inclusión de horas favorables acumuladas (HFav) respecto a la infección del hongo, lo cual sugiere que este indicador puede integrarse a SIVEA (www.sivea.org.mx) mediante un algoritmo que automatice su cálculo para representar un indicador de riesgo o inductividad. Este indicador, podría activar el monitoreo de plantas enfermas a nivel de predio y región para su temprana eliminación. Una práctica que los productores de agave ya realizan sobre la base observacional. La eliminación de plantas dañadas, asistida por HFav con énfasis en ventanas de inductividad (Vl_i), puede ser exitosa considerando que la enfermedad tiene una fuerte restricción de contagio, idea reforzada por la ausencia de captura de esporas en los dispositivos de impacto y deposición, limitándose a un máximo de 1-4 plantas en focos iniciales a avanzados. En este contexto el empleo de drones pueden ser una estrategia promisoría para la vigilancia de focos tempranos a nivel de predio (Figura 4), tanto por productores líderes y empresas, como por personal

del programa de la Campaña contra Plagas Reglamentadas del Agave (www.sivea.org.mx).

Finalmente, a pesar el baja aptitud parasítica y epidémica del *C. agavicola*, la estimación en el impacto productivo, a jima comercial (6 años), puede ser significativo a nivel regional bajo un escenario de las tasas epidémica encontradas en este trabajo, 84% de predios afectados a partir de los 3 años y ausencia de Jimas sanitarias que reduzcan la carga de inóculo. Así, a precio/kilo promedio 2018 de 24 pesos MXN y piñas/50 kg, las pérdidas regionales pueden ser de 2,058, 187,075 MXN (98.01 MDD) a 4,985,330 MXN (237 mil USD). A nivel de una hectárea, bajo los mismos supuestos, las pérdidas pueden oscilar entre 915,448 MXN a 124,500 MXN, respectivamente. Para una industria que depende de inventarios productivos planeados a mediano plazo; una creciente exportación de tequila, ubicándose en 2018 en cuarto lugar en captación de divisas agrícolas; competencia con la industria de inulina de agave, y la reconversión de predios al cultivo de berries, hace imperativo la eficiencia sanitaria y productiva.

2.5 CONCLUSIONES

Este trabajo constituye el primer estudio epidemiológico regional en Jalisco de *Cercospora agavicola*, agente causal de la mancha gris del agave azul (*Agave tequilana*). La inductividad epidémica regional de *C. agavicola* fue heterogénea con mayor riesgo para al menos nueve municipios de Los Altos. Sin embargo, todos los parámetros, indicadores y variables estimadas demostraron consistentemente la baja capacidad epidémica de *C. agavicola*. Las tasas epidémicas muy bajas (0.0008-0.006 unidades semana⁻¹), contagio fuertemente restringido (1-4 plantas), incremento anual de plantas enfermas (0-32 plantas/0.5 ha) y nula captura de esporas en 41 trampas muestran la baja aptitud parasítica del hongo. Por lo anterior, se encontró una limitada capacidad predictiva aun con los mejores modelos generados (R^2_{adj} 0.51-0.60). La variable horas favorables acumuladas (HFav) respecto a la infección del hongo fue consistente entre los mejores modelos lo cual sugiere que este indicador puede integrarse a SIVEA (www.sivea.org.mx) con fines preventivos y de control. Es necesario fortalecer la comprensión de la biología del hongo con énfasis en la

patogénesis, dispersión y carga de inóculo, y efecto de la cercosporina para explicar el progreso temporal lineal que no corresponde a un proceso típico de infección multiplicativa. A pesar de la baja aptitud parasítica de *C. agavicola*, las pérdidas regionales bajo los parámetros epidémicos de este trabajo pueden oscilar entre 98.01 MDD y 237 mil dólares americanos.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece a COLPOS y CONACYT por la beca para estudios de maestría. Al LANREF por su apoyo incondicional en el desarrollo del proyecto. A Miranda Mora Gutiérrez por la traducción al inglés.

2.6 LITERATURA CITADA

1. Apoga D, Åkesson H, Jansson HB y Odham G. 2002. Relationship between production of the phytotoxin prehelminthosporol and virulence in isolates of the plant pathogenic fungus *Bipolaris sorokiniana*. *European Journal of Plant Pathology* 108: 519-526. <https://doi.org/10.1023/A:1019976403391>
2. Acevedo-Sánchez G, Santana-Peñaloza B, López-Bautista V, Martínez-Bustamante V, Coria-Contreras J, Mendoza-Ramos C, Jiménez-González L y Mora-Aguilera G. 2017. Criterios epidemiológicos para implementar una red de monitoreo de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. en regiones agaveras de Jalisco. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 176-177. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento352017.html>
3. Ángeles-Espino A, Virgen-Calleros G, Valencia-Botín J, Ramírez-Serrano C, Paredes-Gutiérrez L y Hurtado de la Peña S. 2016. Evaluación no destructiva de la patogenicidad de *Cercospora agavicola* en vitroplántulas de agave azul tequilero irradiadas con rayos gamma Co⁶⁰. *Acta Universitaria* 26(6): 3-10. doi: 10.15174/au.2016.1121
4. Ayala-Escobar V, Yañez-Morales M, Braun U, Groenewald JZ and Crous PW. 2005. *Cercospora agavicola* a new foliar pathogen of *Agave tequilana* var. azul from Mexico. *Mycotaxon* 93:115-121. <https://www.researchgate.net/publication/25481243>
5. Carmona M, Moschini RC, Cazenave G y Sautua F. 2010. Relación entre la precipitación registrada en estados reproductivos de la soja y la severidad de *Septoria glycines* y *Cercospora kikuchii*. *Tropical Plant Pathology* 35:71-78. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1982-56762010000200001&script=sci_abstract&lng=es
6. Campbell CL and Madden LV. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons. New York, USA. 532 p.
7. Chuang TY. and Jeger MJ. 1987. Predicting the rate of development of black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*) disease in southern Taiwan. *Phytopathology* 77: 1542-1547.

8. Coakley SM, McDaniel LR and Shaner G. 1985. Model for predicting severity of *Septoria tritici* blotch on winter wheat. *Phytopathology* 75: 1245-1251.
9. Daud ME and Ehrenshaft M. 2000. The photoactivated *Cercospora* toxin cercosporin: Contributions to plant disease and fundamental biology. *Annual Review of Phytopathology* 38: 461-490. doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.461.
10. Franco-Navarro F y Zavaleta-Mejía E. 2001. Estado actual del conocimiento acerca del modo de acción de las toxinas no selectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19(2): 237-244
11. Guzmán-Hernández E, Flores-Colorado OE, Acevedo-Sánchez G, Mora-Aguilera G, López-Javier MA y González-Gómez R. 2017. APPS como herramientas de soporte epidemiológico aplicado a sistemas regionales de vigilancia epidemiológica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 178-179. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento352017.html>
12. Hernández-Sánchez E, Mora-Aguilera G, Tlalpal-Bolaños B, Rodríguez-Leyva E y Alvarado-Rosales D. 2014. Effect of initial disease intensity of cactus black spot (*Opuntia ficus-indica*) in temporal and spatial characterization. *Mexican Journal of Phytopathology* 32(2): 132-146. http://rmf.smf.org.mx/Vol3222014/AR/32-2_05.pdf
13. Jens AE, Daub ME and Upchurch RG. 1989. Regulation of cercosporin accumulation in culture by medium and temperature manipulation. *Phytopathology* 79: 213-219. DOI: 10.1094/Phyto-79-213.
14. Jiménez-González LR, Mendoza-Ramos C, Santana-Peñaloza B, Coria-Contreras J, Delgado-Mora F, Acevedo-Sánchez G, Guzmán-Hernández E y Mora-Aguilera G. 2017. Escala logarítmica diagramática de severidad para medición de pudrición seca del cogollo, marchitez y mancha gris del agave azul. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(S): 177. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento352017.html>
15. Kurppa A. 1985. Reaction of spring barley cultivars grown in Finland to soil-borne infection by *Bipolaris sorokiniana* and to its toxic metabolites. *Journal of Agricultural Science in Finland* 57: 85-96.

<file:///C:/Users/Editor%20en%20Jefe%20-%20RMF/Downloads/72189-Article%20Text-96272-1-10-20180618.pdf>

16. Liljeroth E, Franzon-Almgren I, and Gustafsson M. 1994. Effect of prehelminthosporol, a phytotoxin produced by *Bipolaris sorokiniana*, on barley roots. Canadian Journal of Botany 72: 558–563. <https://doi.org/10.1139/b94-074>
17. Ludwig RA. 1957. Toxin production by *Helminthosporium sativum* and its significance in disease development. Canadian Journal of Botany 35: 291–304. <https://doi.org/10.1139/b57-026>
18. Mora-Aguilera G y Acevedo-Sánchez G. 2016. Desarrollo de REG-NCafé v1.0 para determinar n-sitios de monitoreo-muestreo regional de roya del cafeto en México usando criterios epidemiológicos ponderados. Acta del 49° Congresso Brasileiro de Fitopatologia; 29 ago - 01 sep; Alagoas, Maceio, Brasil.
19. Mora-Aguilera G, Acevedo-Sánchez G, Coria-Contreras J, González-Gómez R, López-Buenfíl A y Javier-López MA. 2015. Alertas tempranas regionales para manejo de focos de roya del cafeto en México. Revista Mexicana de Fitopatología 33(S): 62. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento332015.html>
20. Mora-Aguilera G, Coria-Contreras J, Flores-Sánchez J, Domínguez-Monje S, Acevedo-Sánchez G, Aguilar-Pérez L, Martínez-Bolaños M y Guzmán-Deheza A. 2014. Desarrollo y validación de una trampa pasiva para monitoreo de esporas de *Hemileia vastatrix*. Revista Mexicana de Fitopatología 32(S): 83. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento322014.html>
21. Mora-Aguilera G, Nieto AD, Campbell CL, Téliz D, and García E. 1996. Multivariate comparison of papaya ringspot epidemics. Phytopathology 86:70-78. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1996Articles/Phyto86n01_70.pdf
22. Mora-Aguilera G, Téliz D, Nieto D, and Campbell CL. 1993. Development and validation of a prediction model for papaya ringspot in Veracruz, México. Plant Disease 77:1205-1211. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1996Articles/Phyto86n01_70.pdf

23. Quezada-Salinas A, Sandoval-Islas JS, Alvarado-Rosales D y Moreno-Velázquez, M. 2013. Histopatología y patogénesis de *Pseudocercospora opuntiae* en nopal. Rev. Mex. Micología 38: 9-18. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802013000200003&lng=es&tlng=es.
24. Rubio CR. 2007. Enfermedades del Cultivo de Agave. In: Rulfo VFO (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 (INIFAP). Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. Libro Técnico 4. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. pp: 170-195.
25. SIAP. 2015 y 2018. Servicio de Información Agrícola y Pesquera. SAGARPA. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (consultado enero 2015 y abril 2018).
26. Sambrook JF and Russell DW (Eds). 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3^a Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press 2100p. <https://www.cshlpress.com/pdf/sample/2013/MC4/MC4FM.pdf>
27. Santana-Peñaloza B, Acevedo-Sánchez G, Coria-Contreras J, Mora-Aguilera G, González-Gómez R y López-Buenfil A. 2015. CALCULA-HF V.1.0: Estimación de horas favorables de inductividad epidémica debido a la germinación de uredosporas de *Hemileia vastatrix*. Revista Mexicana de Fitopatología 33(S): 117. <http://rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento332015.html>
28. SENASICA. 2017. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Manual operativo de la campaña contra plagas reglamentadas del agave. Dirección de Protección Fitosanitaria. Clave: MOP-DPF-PRAV. <http://www.sivea.org.mx/>
29. Vanderplank JE. 1984. Disease Resistance in Plants. 2ed. Academic Press Inc. London. 208p.
30. Valencia BA. 2011. Evolución histórica y situación actual de la mancha gris en el cultivo del Agave azul tequilero. In: 1er Foro de discusión fitosanitaria en el

cultivo del agave azul tequilero integrando esfuerzos para impulsar bienestar en el sector. 31 de may-01 jun Guadalajara, Jalisco, México.
<https://www.crt.org.mx/images/documentos/MEMORIA1erFORODEDISCUSIONFITOSANITARIA%28FINAL%29.pdf>

31. White TJ, Brüns T, Lee S, Taylor J, Innis A, Gelfand HD and Sninsky J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 *In*: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, and White TJ. (Eds). Academic Press, Inc. New York.

CONCLUSIONES GENERALES

Esta investigación se desarrolló en regiones con Denominación de Origen del Tequila (DOT) productoras de agave azul (*Agave tequilana*) en Jalisco, México, para desarrollar un sistema de muestreo-monitoreo a través de metodologías y herramientas tecnológicas aplicables a nivel regional para determinar la inductividad epidémica espacio-temporal de *Cercospora agavicola* y generar modelos probabilísticos de pronóstico con fines de manejo preventivo de la mancha gris en el marco de la Campaña oficial de Plagas Reglamentadas del Agave.

1. Se desarrolló y validó una escala logarítmica diagramática con descripción cualitativa y cuantitativa de siete clases para evaluar la severidad a nivel de planta con precisión, exactitud y reproducibilidad con valores de $r^2=0.99$ ($\sigma=0.01$), $b=0.98$ ($\sigma=0.03$) y $r=0.98$ ($\sigma=0.01$), respectivamente. A partir de una evaluación censal de severidad de 3600 plantas se analizaron nueve esquemas de muestreo de los cuales se seleccionó un muestreo sistemático 1X3 en surcos discontinuos con $n=273$, media de 22.4% y error de 0.3% respecto a la media poblacional ($\mu=22.1\%$). La escala y el muestreo se programó en la aplicación Android ≥ 4.0 App-SIVEA v1.1 con la cual se evaluaron 136,500 plantas en el periodo octubre 2016 a diciembre 2018 en un total de 41 parcelas de monitoreo de agave comercial distribuidas por inductividad epidémica en las regiones Los Altos, Valles y Sur. Las evaluaciones se integraron en tiempo real al sistema Integral de Protección y Vigilancia Epidemiológica del Agave (www.sivea.org.mx), un programa impulsado por el gobierno federal como parte de la Campaña contra Plagas Reglamentadas del Agave, a partir de las cuales se generaron las matrices de datos para los análisis epidémicos. Este modelo científico-tecnológico demostró su viabilidad en un estudio epidemiológico regional en agave azul.
2. La caracterización de la inductividad de riesgo, en escala de 0-1, fue heterogénea en Jalisco. La región de Los Altos tuvo la mayor inductividad (0.04-1) resaltando los municipios de Arandas, Jesús María, San Ignacio Cerro Gordo, Atotonilco, Tepatitlán de Morelos, Degollado, Cuquio, Ayotlán y

Yahualica de Gonzáles Gallo. En Valles se estimó inductividad moderada (0.008-0.04) principalmente en Ahualulco de Mercado, San Juanito de Escobedo, Magdalena y Ameca. La región Sur tuvo inductividad baja a muy baja (<0.008).

3. Se evaluaron 41 parcelas de agave comercial distribuidas en las regiones Los Altos (20), Valles (11) y Sur (10). Con App-SIVEA v1.1 se hicieron evaluaciones mensuales durante el periodo Octubre 2016 a Diciembre 2017 totalizando 500 evaluaciones parcelarias. Se caracterizaron 41 epidemias, 33 tuvieron baja intensidad y en 8 nula de las cuales se seleccionaron 14 epidemias que tuvieron la mejor conformación para emplearse en la modelación. La incidencia regional final (Y_f) mostró poca variación en Los Altos, Valles y Sur respecto a Y_0 de 2.0, 0.9 y 0.1%, con incrementos absolutos máximos en el periodo marzo-mayo 2017 de 4.4, 1.3 y 0.2%, respectivamente. , En general, la severidad de plantas enfermas estuvo en el rango de 2-100%, con severidad promedio a entre 0.01-12.8%. La severidad absoluta incrementó de 11.3-28.1% en Altos, 1.8-5.7% en Sur y 0.02-0.7% en Valles.
4. Para el análisis espacial se seleccionó la epidemia con mayor intensidad de daño por región con la finalidad de analizar el comportamiento de contagio intraparculario. Con las evaluaciones de Y_0 (Nov-2016) y Y_{max} (Dic-2017) se generaron mapas interpolados y se analizaron los semivariogramas geoestadísticos con el programa Surfer® v10.6 (Golden Software, EUA). El análisis espacial mostró un limitado incremento del número y expansión de focos de Y_0 a Y_{max} en un periodo de 5-8 meses. En un predio de Los Altos con un comportamiento atípico al de los demás predios, se observó coalescencia de focos por alta inductividad, mientras Valles y Sur se observó incremento de 0-2 y 5-9 focos respectivamente. El patrón de dispersión se estimó con MorLloyd v1.0 desarrollado en MS Excel (Rivas-Valencia y Mora-Aguilera 2010. No publicado), el índice de Morisita indicó agregación moderada a fuerte en rango de 2.4-10.9 (focos). Sin embargo, los varigramas de autocorrelación mostraron una dependencia espacial limitada de 2-4 plantas en Sur y Altos, respectivamente.

Esta fuerte restricción se explicó por la nula o baja actividad de dispersión de esporas.

5. Se colocó una Trampa Pasiva de Impactación y Deposición (TID) por cada parcela de monitoreo para la captura de conidios de *C. agavicola*. En cada trampa se colocaron tres laminillas de vidrio con cinta adhesiva doble vista. Las colectas de laminillas se realizaron cada 15 días. El análisis de laminillas mostró nula captura de esporas, incluso, en el periodo de mayor captura de esporas reportado por Rubio en 2007 (Datos no publicados). Esto puede atribuirse a la exhaustiva eliminación de inóculo primario mediante las jimas fitosanitarias que se realizan de 2015 a la fecha. Así mismo, que las condiciones ambientales no fueron propicias para la esporulación o dispersión de conidios. Rubio (comunicación personal) menciona que no le ha sido posible encontrar lesiones esporulantes en campo en trabajos que ha realizado durante 2015-2016, lo que explica la poca incidencia de plantas enfermas y baja expansión de focos.
6. Con base en un análisis gráfico exploratorio de parámetros epidémicos se seleccionaron 14 epidemias, ocho en Los Altos, tres en Valles y tres en Sur para la estimación de tasas epidémicas representativas regionalmente. Con el propósito de estandarizar las diferentes epidemias se realizó la transformación de los datos de severidad en planta y número de plantas enfermas acumuladas a proporción dividido entre su respectivo valor máximo acumulado. El modelo Weibull con dos parámetros fue ajustado con el procedimiento NLIN de SAS® v9.4 mediante la ecuación $y = 1 - \exp(-t/b)^c$ donde y fue representada por la variable transformada de severidad en planta. Se ajustaron 13 modelos temporales Weibull a nivel parcelario con moderada bondad de ajuste (0.62-0.99) y bajas tasas epidémicas (0.0008-0.006 unidades semana⁻¹).
7. A través de la caracterización regional epidémica y las horas favorables (HFav) semanales se identificaron dos ventanas inductivas a la enfermedad de enero-abril y julio-octubre siendo la primera la más importante por las condiciones presentadas para el desarrollo de la infección primaria. Las ventanas inductivas coincidieron con LAG de 2-20 semanas entre los mayores incrementos

constantes de HFav y el incremento del número de plantas enfermas. Estos parámetros se emplearon en el desarrollo de modelos en SAS con las 14 epidemias seleccionadas previamente a través de PROC REG; BY Región y Ventana inductiva. Se encontró un periodo LAG de 2 y 12 semanas entre horas favorables para la germinación del conidio de *C. agavicola* y la observación de síntomas, el cual, podría estimar el periodo de incubación y latencia de la infección. Con estos parámetros se generaron 12 modelos de pronóstico a nivel de ventana inductiva con R^2_{adj} 0.23-0.60. Los mejores modelos de pronóstico generados (R^2_{adj} 0.50-0.60) pueden ser empleados en SIVEA con fines de prevención. Adicionalmente, se pueden apoyar con vuelos de dron dirigidos a las zonas de riesgo, o imágenes satelitales en las áreas de riesgo indicadas en el modelo para identificar la zona de foco.

8. Los análisis de datos exhaustivos de 12 meses en la una red de 41 parcelas de monitoreo con 273 plantas de evaluación por parcela y el componente de monitoreo de inóculo ambiental, a través de TIDs, demostraron tasas epidémicas muy bajas (0.0008-0.006 unidades semana⁻¹) fuerte restricción de contagio (1-4 plantas) a través de métodos estadísticos, reducido incremento anual de incidencia (0-32 plantas/0.5 ha) y nula captura de conidios, lo que evidenció baja aptitud parasítica y epidémica del hongo sugiriendo la implicación de la toxina cercosporina asociada al género *Cercospora* en el comportamiento epidémico lineal atípico del proceso de infección. Por lo cual es necesario fortalecer la comprensión de la biología del hongo con énfasis en la patogénesis, dispersión y carga de inóculo, y el efecto de la cercosporina en el progreso temporal de la epidemia.
9. A pesar de la baja aptitud parasítica, se estima que el impacto en la producción comercial (6 años de plantación) puede ser significativo bajo las tasas epidémicas encontradas, el 84% de predios afectados a partir de 3 años de plantación y ausencia de jimas fitosanitarias para la reducción de inóculo, las pérdidas regionales pueden oscilar entre \$1,870,123.00 y \$4,522,598.00 MXN. A

nivel de hectárea las pérdidas pueden variar de \$915,448 MXN en predios de alta inductividad a \$124,500 MXN en baja inductividad epidémica.

RECOMENDACIONES

1. La generación, con métodos estadísticos convencionales, de alertas tempranas de riesgo para organismos de baja aptitud parasítica sugiere poca viabilidad para su aplicación regional. Es recomendable la exploración de métodos de pronóstico por ventanas inductivas, la identificación de focos regionales a partir de imágenes satelitales o vuelos verticales de drones a nivel parcelario para identificar focos iniciales de infección.
2. Las empresas productoras de agave y tequila, pueden adoptar estas tecnologías para su aplicación en la delimitación de focos de infección, censos de plantación con la finalidad de conocer su saldo de plantación, plantas muertas, etc. A nivel regional pueden apoyarse en los modelos generados y una vez programados en SIVEA para identificar zonas de riesgo y posteriormente, hacer vuelos verticales dirigidos a zonas inductivas para identificar focos iniciales en los predios de interés.
3. Esta investigación permitió la regionalización de zonas de alto, moderado y bajo riesgo, con 16, 13 y 13 municipios, respectivamente. Los cuales, deben ser considerados para la instalación de una red de Vigilancia de Plagas reglamentadas del agave. Las 41 parcelas de monitoreo instaladas permitieron la discriminación diferencial de áreas inductivas. Sin embargo, se recomienda al menos una parcela de monitoreo con sensor climático por municipio inductivo y el empleo de parcelas de muestreo, distribuidas, dos por municipio de alta inductividad y una en los municipios de baja inductividad totalizando 84 parcelas en la red de vigilancia. Con el uso de herramientas generadas y validadas, el total de parcelas de la red pueden ser atendidas en no más de dos semanas con 8 evaluadores capacitados, de acuerdo a los tiempos de evaluación de 30 minutos promedio, establecidos durante el periodo de este trabajo. Esta red de

Vigilancia debe ser implementada en los estados que conforman la DOT, lo cual, puede ser posible a través de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal que actualmente participan en la Campaña Nacional de Vigilancia contra Plagas Reglamentadas del Agave 2019, pero ahora con un enfoque epidemiológico y de prevención de enfermedades.

ANEXOS

ANEXO 1. MATRIZ REG-N PARA ANÁLISIS DE ÁREAS DE INDUCTIVIDAD REGIONAL.

El REG-N, es un desarrollo de MS Excel®2007-2010 para determinar n -sitios para monitoreo-muestreo regional por municipio mediante la ponderación de factores del sistema epidemiológico para el patosistema de estudio, lo que permite captar la máxima variabilidad epidémica con margen de confianza >90% y representatividad regional considerando limitación de recursos financieros y técnicos.

La matriz empleada para la caracterización de inductividad epidémica regional está comprendida por datos ponderados con criterios epidemiológicos que definen el nivel de influencia en el desarrollo de la epidemia. Se incluyeron datos históricos (2012-2015) de superficie (SIAP 2014), de focos de infestación de la Campaña de Plagas Reglamentadas del Agave operada por el Consejo Regulador del Tequila (CRT), datos climáticos (CONAGUA) y edáficos (INEGI), principalmente (Cuadro 1).

Municipio	Long	Lat	Alt	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	PT	P.Rel	P.Total2	P.Rel2	P.Total3	P.Rel3
Acatiac	-102.9099	20.7797	1680	3	2	3	4.0	4.0	3.0	4.0	1.0	3.0	2.0	0.3	4.0	4.0	4.0	4.0	3538944.0	0.0	3538944.0	0.0	55296.0	0.0
Acatlán De Juárez	-103.5916	20.4211	1370	2	1	3	2.0	3.0	3.0	2.0	2.0	3.0	2.0	0.0	3.0	3.0	3.0	1.0	69984.0	0.0	23328.0	0.0	2592.0	0.0
Ahualulco De M.	-103.9766	20.7008	1340	2	4	2	4.0	3.0	3.0	4.0	2.0	3.0	3.0	0.1	4.0	4.0	4.0	4.0	10616832.0	0.0	3538944.0	0.0	55296.0	0.0
Amacueca	-103.6004	20.0109	1430	2	1	3	2.0	1.0	3.0	1.0	3.0	2.0	2.0	0.0	2.0	2.0	2.0	3.0	5184.0	0.0	1728.0	0.0	144.0	0.0
Amatitán	-103.7279	20.8339	1260	2	1	3	4.0	4.0	1.0	4.0	1.0	1.0	1.0	0.2	4.0	4.0	4.0	4.0	147456.0	0.0	294912.0	0.0	4608.0	0.0
Ameca	-104.0477	20.5484	1230	1	4	3	4.0	4.0	2.0	4.0	2.0	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	4.0	4.0	7077888.0	0.0	1769472.0	0.0	27648.0	0.0
Arandas	-102.3443	20.7056	2060	4	4	3	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	0.6	4.0	4.0	4.0	4.0	150994944.0	0.4	37748736.0	0.3	589824.0	0.2
Atemajac De Briz.	-103.7279	20.1395	2320	4	1	3	0.0	0.0	4.0	2.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Atengo	-104.2380	20.2753	1400	2	4	2	3.0	2.0	4.0	3.0	4.0	3.0	4.0	0.0	2.0	2.0	3.0	1.0	663552.0	0.0	110592.0	0.0	18432.0	0.0
Atenguillo	-104.4935	20.4167	1300	2	1	1	1.0	1.0	4.0	1.0	3.0	4.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	432.0	0.0	72.0	0.0	24.0	0.0
Atotonilco El Alto	-102.5087	20.5506	1600	3	2	2	4.0	4.0	3.0	4.0	2.0	3.0	3.0	0.1	4.0	4.0	4.0	4.0	10616832.0	0.0	5308416.0	0.0	82944.0	0.0
Atoyac	-103.5157	20.0103	1350	2	1	3	1.0	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	0.0	2.0	1.0	2.0	2.0	768.0	0.0	384.0	0.0	96.0	0.0
Autlán De Navarro	-104.3699	19.7714	900	1	1	3	4.0	4.0	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	0.0	3.0	3.0	3.0	4.0	124416.0	0.0	62208.0	0.0	1728.0	0.0
Ayotlán	-102.3274	20.5292	1610	3	2	2	4.0	4.0	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.2	4.0	4.0	4.0	3.0	1179648.0	0.0	884736.0	0.0	18432.0	0.0
Ayutla	-104.3449	20.1295	1370	2	0	3	2.0	1.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Bolaños	-103.7802	21.8319	880	1	4	3	0.0	0.0	1.0	3.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cañadas Obregón	-102.6893	21.1489	1850	4	3	3	3.0	4.0	3.0	4.0	2.0	3.0	3.0	0.1	4.0	3.0	3.0	3.0	5038848.0	0.0	3359232.0	0.0	124416.0	0.0
Cabo Corrientes	-105.3266	20.3203	600	1	1	3	3.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	2.0	3.0	1.0	3.0	324.0	0.0	324.0	0.0	36.0	0.0
Casimiro Castillo	-104.4357	19.6028	360	1	1	3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	9.0	0.0	9.0	0.0	3.0	0.0
Chapala	-103.1896	20.2906	1530	3	3	2	1.0	1.0	2.0	1.0	4.0	1.0	2.0	0.0	2.0	1.0	1.0	2.0	384.0	0.0	288.0	0.0	144.0	0.0
Chimaltitán	-103.7807	21.7819	860	1	0	3	0.0	0.0	4.0	3.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Chiquilistlán	-103.8621	20.0889	1700	3	0	2	0.0	0.0	4.0	2.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cihuatlán	-104.5624	19.2381	20	1	1	3	0.0	0.0	1.0	3.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cocula	-103.8227	20.3659	1340	2	3	2	3.0	2.0	3.0	2.0	3.0	2.0	3.0	0.0	2.0	3.0	3.0	4.0	559872.0	0.0	186624.0	0.0	5184.0	0.0
Colotlán	-103.2668	22.1147	1660	3	2	3	1.0	2.0	4.0	2.0	3.0	4.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	20736.0	0.0	5184.0	0.0	1728.0	0.0
C. De Buenos Aires	-103.2610	19.9789	2060	4	0	3	0.0	0.0	4.0	1.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
C. De G. Barragán	-104.3596	19.4512	600	1	1	3	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cuautla	-104.4063	20.2034	1720	3	1	3	0.0	0.0	4.0	3.0	4.0	3.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cuquío	-103.0238	20.9283	1790	4	4	3	4.0	3.0	4.0	3.0	4.0	3.0	4.0	0.0	3.0	4.0	4.0	1.0	7962624.0	0.0	2654208.0	0.0	165888.0	0.1

Municipio	Long	Lat	Alt	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	PT	P.Rel	P.Total2	P.Rel2	P.Total3	P.Rel3
Degollado	-102.1396	20.4475	1780	4	4	3	3.0	3.0	3.0	4.0	3.0	2.0	3.0	0.0	3.0	3.0	3.0	2.0	2519424.0	0.0	1679616.0	0.0	93312.0	0.0
Ejutla	-104.1630	19.9062	1140	1	0	0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
El Arenal	-103.6938	20.7761	1380	2	0	2	4.0	3.0	2.0	4.0	2.0	2.0	2.0	0.3	4.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
El Grullo	-104.2174	19.8059	880	1	1	3	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	0.0	3.0	2.0	2.0	4.0	3456.0	0.0	3456.0	0.0	216.0	0.0
El Limón	-104.1566	19.8245	880	1	0	0	2.0	1.0	1.0	3.0	1.0	1.0	1.0	0.0	3.0	2.0	2.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
El Salto	-103.1788	20.5195	1530	3	1	1	2.0	2.0	3.0	4.0	3.0	3.0	3.0	0.1	3.0	2.0	2.0	1.0	31104.0	0.0	10368.0	0.0	2592.0	0.0
Encarnación De Díaz	-102.2373	21.5247	1810	4	3	3	1.0	2.0	4.0	1.0	4.0	4.0	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	9216.0	0.0	2304.0	0.0	1152.0	0.0
Etzatlán	-104.0810	20.7653	1400	2	4	3	2.0	2.0	3.0	4.0	3.0	2.0	3.0	0.0	3.0	2.0	2.0	4.0	995328.0	0.0	331776.0	0.0	20736.0	0.0
Gómez Farías	-103.4777	19.7948	1510	3	1	3	3.0	3.0	4.0	2.0	4.0	4.0	4.0	0.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2239488.0	0.0	419904.0	0.0	15552.0	0.0
Guachinango	-104.3810	20.5767	1440	2	0	3	1.0	2.0	3.0	1.0	3.0	3.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Guadalajara	-103.3465	20.6770	1550	3	1	3	0.0	0.0	2.0	4.0	3.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Hostotipaquillo	-104.0518	21.0586	1300	2	1	3	3.0	3.0	2.0	4.0	2.0	2.0	1.0	0.0	3.0	3.0	3.0	4.0	279936.0	0.0	139968.0	0.0	3888.0	0.0
Huejúcar	-103.2104	22.3580	1830	4	4	3	0.0	0.0	4.0	3.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Huejuquilla El Alto	-103.8980	22.6283	1740	4	0	3	0.0	0.0	4.0	3.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
I. De Los Membrillos	-103.1921	20.3489	1590	3	3	2	2.0	1.0	3.0	1.0	2.0	3.0	3.0	0.0	2.0	2.0	2.0	1.0	10368.0	0.0	5184.0	0.0	1296.0	0.0
Ixtlahuacán Del Río	-103.2388	20.8647	1640	3	4	3	3.0	3.0	4.0	2.0	4.0	3.0	4.0	0.0	2.0	3.0	3.0	1.0	1492992.0	0.0	373248.0	0.0	41472.0	0.0
Jalostotitlán	-102.4657	21.1689	1750	4	3	3	2.0	3.0	4.0	4.0	3.0	4.0	4.0	0.0	2.0	2.0	2.0	3.0	2985984.0	0.0	995328.0	0.0	82944.0	0.0
Jamay	-102.7099	20.2906	1530	3	3	2	3.0	1.0	3.0	2.0	3.0	3.0	3.0	0.0	3.0	3.0	3.0	2.0	314928.0	0.0	104976.0	0.0	5832.0	0.0
Jesús María	-102.2248	20.6078	2100	4	3	2	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	0.5	4.0	4.0	4.0	4.0	75497472.0	0.2	18874368.0	0.2	294912.0	0.1
Jilotlán De Dolores	-103.0199	19.3712	740	1	0	3	0.0	0.0	2.0	3.0	3.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Jocotepec	-103.4299	20.2842	1540	3	4	3	3.0	1.0	2.0	3.0	3.0	1.0	2.0	0.0	3.0	3.0	3.0	2.0	139968.0	0.0	139968.0	0.0	7776.0	0.0
Juanacatlán	-103.1710	20.5095	1520	3	4	3	2.0	1.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.1	3.0	2.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Juchitlán	-104.0980	20.0839	1230	1	4	3	3.0	3.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	3.0	3.0	3.0	1.0	2916.0	0.0	2916.0	0.0	324.0	0.0
La Barca	-102.5501	20.2778	1520	3	3	2	3.0	3.0	3.0	4.0	2.0	3.0	2.0	0.0	2.0	4.0	4.0	2.0	995328.0	0.0	497664.0	0.0	15552.0	0.0
La Huerta	-104.6396	19.4817	280	1	1	1	0.0	0.0	1.0	3.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
La Manzanilla La Paz	-103.1546	20.0048	2050	4	3	2	0.0	0.0	4.0	1.0	4.0	3.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Lagos De Moreno	-101.9337	21.3564	1900	4	0	3	2.0	2.0	4.0	3.0	3.0	4.0	4.0	0.0	1.0	2.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Magdalena	-103.9802	20.9069	1380	2	3	3	4.0	4.0	2.0	4.0	2.0	2.0	2.0	0.2	4.0	4.0	4.0	4.0	4718592.0	0.0	2359296.0	0.0	36864.0	0.0
Mascota	-104.7869	20.5258	1230	1	0	2	1.0	1.0	3.0	1.0	3.0	3.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Municipio	Long	Lat	Alt	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	PT	P.Rel	P.Total2	P.Rel2	P.Total3	P.Rel3
Mazamitla	-103.0199	19.9162	2240	4	0	3	0.0	0.0	4.0	1.0	4.0	3.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Mexicacán	-102.7774	21.2658	1750	4	3	3	2.0	3.0	4.0	3.0	3.0	4.0	3.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	746496.0	0.0	248832.0	0.0	31104.0	0.0
Mezquitic	-103.7293	22.3888	1360	2	2	3	1.0	1.0	3.0	1.0	1.0	3.0	2.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	216.0	0.0	144.0	0.0	72.0	0.0
Mixtlán	-104.4094	20.4386	1540	3	0	2	1.0	2.0	4.0	1.0	3.0	3.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Ocotlán	-102.7721	20.3514	1530	3	3	2	2.0	1.0	3.0	3.0	3.0	2.0	2.0	0.0	2.0	3.0	3.0	2.0	93312.0	0.0	46656.0	0.0	2592.0	0.0
Ojuelos De Jalisco	-101.5935	21.8666	2220	4	0	3	1.0	2.0	4.0	3.0	4.0	4.0	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Pihuamo	-103.3790	19.2526	720	1	0	3	4.0	1.0	3.0	3.0	3.0	1.0	2.0	0.1	4.0	4.0	4.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Poncitlán	-102.9282	20.3817	1520	3	3	2	2.0	1.0	3.0	3.0	4.0	2.0	3.0	0.0	2.0	2.0	2.0	1.0	41472.0	0.0	15552.0	0.0	3888.0	0.0
Puerto Vallarta	-105.2316	20.6139	10	1	4	3	0.0	0.0	1.0	2.0	2.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Quitupan	-102.8763	19.9273	1660	3	4	3	0.0	0.0	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. C. De La Barranca	-103.4288	21.0444	820	1	4	3	3.0	4.0	1.0	3.0	1.0	1.0	1.0	0.1	3.0	3.0	3.0	1.0	23328.0	0.0	23328.0	0.0	2592.0	0.0
San D. De Alejandría	-101.9904	20.9922	1940	4	3	3	3.0	4.0	3.0	4.0	4.0	2.0	3.0	0.1	4.0	3.0	4.0	3.0	8957952.0	0.0	4478976.0	0.0	124416.0	0.0
San Gabriel	-103.7691	19.7473	1260	2	1	3	4.0	3.0	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.1	4.0	4.0	4.0	4.0	884736.0	0.0	442368.0	0.0	6912.0	0.0
San I. Cerro Gordo	-102.5350	20.7456	2000	4	4	3	0.0	0.0	1.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Juan De Los Lagos	-102.3312	21.2464	1750	4	3	3	4.0	4.0	4.0	4.0	3.0	4.0	3.0	0.0	2.0	4.0	4.0	3.0	15925248.0	0.0	5308416.0	0.0	110592.0	0.0
San J. De Escobedo	-104.0046	20.7992	1360	2	4	3	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.0	3.0	0.1	4.0	3.0	3.0	4.0	5038848.0	0.0	1679616.0	0.0	46656.0	0.0
San Julián	-102.1798	21.0108	2060	4	3	2	2.0	2.0	4.0	4.0	3.0	4.0	3.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	442368.0	0.0	147456.0	0.0	18432.0	0.0
San Marcos	-104.1960	20.7919	1380	2	4	3	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
San Martín De B.	-103.8124	21.6833	800	1	4	3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	24.0	0.0	24.0	0.0	12.0	0.0
San Martín Hidalgo	-103.9310	20.4353	1300	2	4	3	4.0	4.0	2.0	1.0	1.0	3.0	2.0	0.1	4.0	4.0	4.0	4.0	1179648.0	0.0	786432.0	0.0	12288.0	0.0
San Miguel El Alto	-102.4026	21.0303	1850	4	3	2	1.0	2.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	24576.0	0.0	6144.0	0.0	6144.0	0.0
San S. Del Oeste	-104.8505	20.7622	840	1	1	1	1.0	2.0	3.0	1.0	4.0	2.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	576.0	0.0	72.0	0.0	36.0	0.0
Sta. Ma. Los Ángeles	-103.2240	22.1713	1700	3	2	3	0.0	0.0	4.0	3.0	3.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Santa Ma. Del Oro	-102.9093	19.5859	930	1	0	3	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Sayula	-103.6010	19.8834	1360	2	1	3	2.0	2.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	2.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tala	-103.7016	20.6489	1330	2	3	3	4.0	3.0	2.0	1.0	1.0	2.0	2.0	0.1	3.0	4.0	4.0	4.0	165888.0	0.0	165888.0	0.0	2592.0	0.0
Talpa De Allende	-104.8227	20.3811	1155	1	1	3	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	18.0	0.0	18.0	0.0	6.0	0.0
Tamazula Gordiano	-103.2540	19.6762	1120	1	0	3	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tapalpa	-103.7585	19.9456	2060	4	1	3	0.0	0.0	4.0	1.0	4.0	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Municipio	Long	Lat	Alt	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	PT	P.Rel	P.Total2	P.Rel2	P.Total3	P.Rel3
Tecalitlán	-103.3068	19.4698	1140	1	0	3	2.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	1.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Techaluta De M.	-103.5510	20.0745	1400	2	4	2	2.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.1	4.0	2.0	2.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tecolotlán	-104.0493	20.2034	1200	1	4	2	3.0	3.0	2.0	3.0	2.0	2.0	2.0	0.0	2.0	2.0	2.0	1.0	55296.0	0.0	13824.0	0.0	3456.0	0.0
Tenamaxtlán	-104.1646	20.2181	1470	2	1	3	2.0	2.0	3.0	3.0	2.0	2.0	2.0	0.0	2.0	2.0	2.0	1.0	13824.0	0.0	6912.0	0.0	1728.0	0.0
Teocaltiche	-102.5743	21.4341	1740	4	1	3	1.0	2.0	3.0	2.0	1.0	4.0	3.0	0.0	1.0	2.0	2.0	2.0	6912.0	0.0	6912.0	0.0	864.0	0.0
T. De Corona	-103.3768	20.0948	1370	2	4	2	2.0	4.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	32768.0	0.0	16384.0	0.0	2048.0	0.0
Tepatitlán De M.	-102.7615	20.8172	1800	4	4	3	4.0	4.0	4.0	2.0	4.0	3.0	3.0	0.2	4.0	4.0	4.0	4.0	28311552.0	0.1	9437184.0	0.1	147456.0	0.1
Tequila	-103.8371	20.8833	1180	1	1	3	4.0	4.0	2.0	4.0	1.0	1.0	1.0	0.2	4.0	4.0	4.0	4.0	294912.0	0.0	294912.0	0.0	4608.0	0.0
Teuchitlán	-103.8482	20.6839	1260	2	4	2	4.0	3.0	3.0	1.0	2.0	3.0	2.0	0.1	4.0	4.0	4.0	4.0	1769472.0	0.0	589824.0	0.0	9216.0	0.0
Tizapán El Alto	-103.0438	20.1589	1550	3	4	2	2.0	1.0	3.0	1.0	4.0	2.0	3.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	18432.0	0.0	6912.0	0.0	864.0	0.0
Tlajomulco De Z.	-103.4471	20.4734	1560	3	1	1	3.0	3.0	3.0	3.0	2.0	3.0	3.0	0.0	2.0	3.0	3.0	1.0	52488.0	0.0	26244.0	0.0	2916.0	0.0
Tlaquepaque	-103.3110	20.6389	1540	3	1	1	0.0	0.0	2.0	4.0	3.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tolimán	-103.9146	19.6023	740	1	1	3	4.0	4.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	0.1	3.0	4.0	4.0	3.0	27648.0	0.0	27648.0	0.0	576.0	0.0
Tomatlán	-105.2491	19.9414	50	1	0	0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tonalá	-103.2415	20.6242	1660	3	1	3	2.0	2.0	1.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.1	4.0	2.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tonaya	-103.9716	19.7864	800	1	1	3	4.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.1	3.0	4.0	3.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tonila	-103.5493	19.4087	1240	2	1	3	3.0	4.0	2.0	3.0	1.0	3.0	1.0	0.2	4.0	3.0	3.0	4.0	186624.0	0.0	124416.0	0.0	3456.0	0.0
Totatiche	-103.4435	21.9277	1760	4	4	3	1.0	1.0	4.0	2.0	3.0	4.0	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	18432.0	0.0	6144.0	0.0	3072.0	0.0
Tototlán	-102.7935	20.5431	1540	3	2	2	3.0	3.0	3.0	4.0	2.0	2.0	2.0	0.0	3.0	3.0	3.0	2.0	373248.0	0.0	279936.0	0.0	15552.0	0.0
Tuxcacuesco	-103.9832	19.6975	720	1	1	3	3.0	1.0	1.0	3.0	1.0	1.0	1.0	0.1	4.0	3.0	3.0	4.0	7776.0	0.0	7776.0	0.0	216.0	0.0
Tuxcueca	-103.1849	20.1542	1530	3	4	2	1.0	1.0	3.0	1.0	4.0	1.0	2.0	0.0	2.0	1.0	1.0	2.0	768.0	0.0	576.0	0.0	288.0	0.0
Tuxpan	-103.3760	19.5545	1140	1	4	1	4.0	4.0	2.0	3.0	2.0	2.0	1.0	0.1	4.0	4.0	4.0	4.0	786432.0	0.0	196608.0	0.0	3072.0	0.0
Unión De San Antonio	-102.0054	21.1289	1920	4	3	2	1.0	2.0	4.0	3.0	2.0	4.0	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	9216.0	0.0	4608.0	0.0	4608.0	0.0
Unión De Tula	-104.2682	19.9550	1340	2	4	3	1.0	1.0	2.0	2.0	1.0	3.0	2.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	1152.0	0.0	768.0	0.0	384.0	0.0
Valle De Guadalupe	-102.6168	21.0108	1840	4	3	2	2.0	4.0	4.0	3.0	4.0	4.0	4.0	0.1	3.0	2.0	2.0	1.0	884736.0	0.0	221184.0	0.0	55296.0	0.0
Valle De Juárez	-102.9449	19.9331	1960	4	0	3	0.0	0.0	4.0	2.0	4.0	3.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Villa Corona	-103.6657	20.4164	1355	2	1	3	3.0	3.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.1	4.0	3.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Villaguerrero	-103.5941	21.9836	1760	4	4	3	1.0	1.0	4.0	2.0	3.0	3.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	10368.0	0.0	4608.0	0.0	2304.0	0.0
Villa Hidalgo	-102.5893	21.6741	1930	4	1	3	1.0	2.0	4.0	2.0	2.0	4.0	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	3072.0	0.0	1536.0	0.0	1536.0	0.0

Municipio	Long	Lat	Alt	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	PT	P.Rel	P.Total2	P.Rel2	P.Total3	P.Rel3
Villa Purificación	-104.6024	19.7195	440	1	1	3	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	2.0	144.0	0.0	144.0	0.0	72.0	0.0
Yahualica	-102.8910	21.1822	1800	4	3	3	4.0	4.0	4.0	4.0	2.0	4.0	3.0	0.1	4.0	4.0	4.0	3.0	21233664.0	0.1	10616832.0	0.1	221184.0	0.1
Zacoalco De Torres	-103.5699	20.2284	1350	2	4	3	3.0	4.0	2.0	2.0	2.0	1.0	1.0	0.0	3.0	3.0	3.0	3.0	186624.0	0.0	186624.0	0.0	6912.0	0.0
Zapopan	-103.3924	20.7208	1560	3	4	3	3.0	3.0	3.0	4.0	3.0	2.0	2.0	0.0	2.0	3.0	3.0	1.0	839808.0	0.0	419904.0	0.0	46656.0	0.0
Zapotiltic	-103.4163	19.6253	1300	2	0	3	3.0	4.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.1	3.0	3.0	3.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Zapotitlán	-103.8135	19.5478	1140	1	1	1	3.0	3.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	3.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Zapotlanejo	-103.0688	20.6228	1515	3	1	3	4.0	4.0	4.0	1.0	3.0	4.0	4.0	0.1	3.0	4.0	4.0	1.0	884736.0	0.0	221184.0	0.0	13824.0	0.0
Zapotlán Del Rey	-102.9249	20.4667	1550	3	3	3	1.0	1.0	3.0	1.0	2.0	3.0	3.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	972.0	0.0	486.0	0.0	486.0	0.0
Zapotlán El Grande	-103.4629	19.7034	1520	3	1	3	1.0	3.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	2.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

P1= Ponderación por nivel de altitud (msnm), P2= Ponderación por tipo de suelo, P3=Ponderación por textura de suelo, P4=Ponderación por Superficie cultivada, P5=Ponderación por Producción, P6=Ponderación por nivel de daño, P7=Ponderación por nivel de tecnificación, P8=Ponderación por temperatura máxima, P9=Ponderación por temperatura mínima, P10=ponderación por temperatura promedio, P11=Índice de superficie agavícola, P12=Ponderación del Índice superficie agavícola, P13=Ponderación de superficie agavícola mecanizada, p14=Ponderación de superficie agavícola con fertilización, P15=Ponderación de superficie con acciones fitosanitarias, PT=Ponderación Total. P.Rel= Ponderación relativa al total.

ANEXO 2. DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE TRAMPA PARA UREDOSPORAS DE ROYA DEL CAFETO BAJO LOS PRINCIPIOS DE IMPACTACIÓN, DEPOSICIÓN Y ESCURRIMIENTO

2.1 INTRODUCCIÓN

A partir de 2013, como parte integral de la estrategia nacional contra la roya del cafeto, se realizan acciones de vigilancia epidemiológica fitosanitaria para estimar la condición epidemiológica de la roya del café en las principales zonas cafetaleras de México. Adicionalmente, el objetivo es desarrollar un sistema de manejo fitosanitario con énfasis en la prevención y las condiciones regionales del cultivo del café. Guatemala y Colombia fundamentan el manejo del hongo *Hemileia vastatrix* mediante criterios fenológicos y/o del comportamiento de la curva epidémica (Calderón, G. 2012. Comunicación personal; Cárdenas, J. 2013. Comunicación personal).

Recientemente, LANREF-CP y ANACAFE-Guatemala han iniciado estudios para el desarrollo de modelos de pronóstico de aplicación regional y subregional con el fin de establecer alertas oportunas para apoyar programas de control químico y fortalecer estrategias de manejo integrado de la enfermedad. Resultados preliminares muestran la viabilidad del empleo de variables asociados a la patogénesis, en particular la germinación y penetración del hongo en los tejidos vegetales. Esto implica estimar la carga de inóculo en planta y en el ambiente para el desarrollo de modelos de pronóstico con énfasis en la prevención. En este contexto, en colaboración con ANACAFÉ, Guatemala se ha empleado la fase de germinación e infección del proceso de patogénesis para el desarrollo de modelos regionales de pronóstico. La cuantificación de esporas podría contribuir a la confirmación y explicación del rol de estos eventos en la ocurrencia de la roya (Figura 1). La cuantificación dinámica del inóculo, sin embargo, debe asociarse a la dispersión, patogénesis (con énfasis en germinación y penetración) y sobrevivencia. Estos dos últimos procesos están íntimamente ligados a la planta y pueden ser estimados mediante número y edad de lesiones, número de hojas con roya defoliación e incidencia y severidad.

En lo que concierne a la dispersión, diversos reportes sugieren la implicación del viento y precipitación (Ávila *et. al.*, 2001; Noriega *et. al.*, 1999) aunque a escalas espaciales no claramente establecidas. La tipología de producción en México, basada en el uso de plantas-sombra, presupone un reducido efecto del viento en la movilización de altas cargas de inóculo con un efecto mayor a nivel local o parcelario. Por otro lado, se ha observado que la lluvia tiene un efecto en el lavado de esporas con la consecuente pérdida de inóculo. Un efecto similar puede ocurrir con la deposición. La pérdida de inóculo por deriva, lavado o deposición la cual puede ser importante considerando la relación alta de esporulación con respecto al número de lesiones observadas. La estimación de cantidad de inóculo efectivo en relación al clima y fenología de la planta es fundamental. En consecuencia, la cuantificación de inóculo debe evaluar el efecto de deriva, lavado y deposición con el fin de entender el rol del inóculo en los procesos de patogénesis (Reyes *et al.*, 2002; Mora-Aguilera, 2000). Este trabajo se enfoca al desarrollo de un prototipo de una trampa pasiva de esporas de *H. vastatrix* con base en los principios de impactación, deposición y escurrimiento y apta para su aplicación intensiva con un bajo costo, fácil operación y simplicidad en la colecta de las muestras y que permita apoyar el desarrollo de modelos de pronóstico en soporte a un sistema de control de la roya del café.

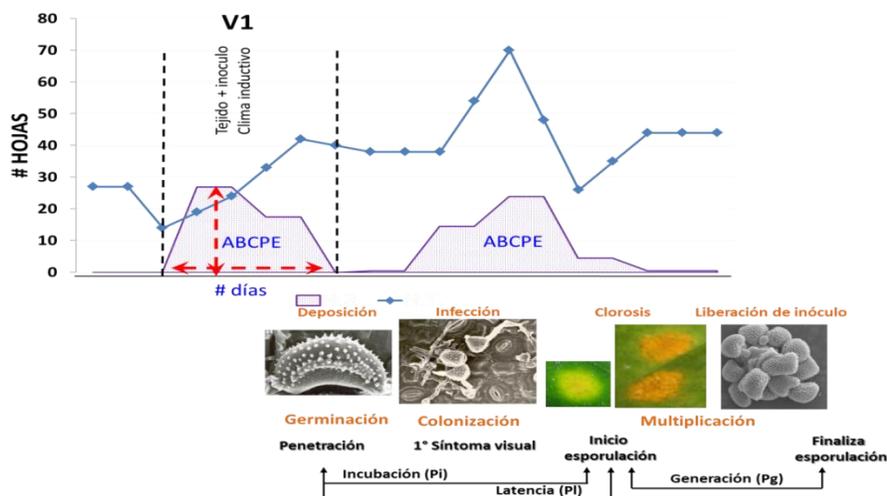


Figura 1. Variabilidad temporal del número de hojas de café con roya y el proceso de patogénesis en la producción de uredias. Datos: G. Calderón 2012.

2.2 CRITERIOS PARA EL DISEÑO DE LA TRAMPA

En epidemiología, el uso de trampas se ha usado en diferentes patosistemas. Se han desarrollado diversos tipos de trampas en función a la biología del organismo y al objetivo epidemiológico (Keressies, *et al.*, 1998; Fitt, 1983; Hunter, *et al.*, 1973; Edmonds, *et al.*, 1974; Sutton, *et al.*, 1975; van der Zwet y Lewis, 1963 y Hopkins, 1959). En el Colegio de Postgraduados se ha trabajado con la captura de esporas desde la década de los 90's (Noriega, *et al.*, 1999; Mora, *et al.*, 2000; Ávila *et al.*, 2001; Reyes *et al.*, 2002;). Inclusive se diseñó una trampa volumétrica con la cual inicio el proceso de patentado (Mora *et al.*, 2000). Esta trampa volumétrica se ha seguido perfeccionando empleándose recientemente en modelos de pronóstico para Sigatoka Negra del banáno (Bolaños, 2013. Datos no publicados). Esta experiencia permitió la transferencia metodológica aplicada al desarrollo de modelos de pronóstico a EMBRAPA en el nordeste de Brasil (D. López y G. Mora. Datos no publicados). Todo esto permite proponer trampas de esporas siempre y cuando se tenga un objetivo epidemiológico claro. En el caso de la Roya del Café, el propósito sería con fines de pronóstico y alerta temprana.

En general, las trampas pueden ser activas, las cuales generalmente aplican el concepto volumétrico de succión del aire, o pasivas, sí emplean el movimiento natural del inóculo. Por su economía y operatividad las trampas pasivas pueden ser implementadas en monitoreos intensivos con similares resultados a trampas activas. Por otro lado, ambas trampas producen estimaciones relativas, es decir, la cuantificación de inóculo está en relación a los atributos de la trampa y no en atributos estadísticos de muestreo. En Costa Rica, se han usado trampas horizontales para cuantificar la deposición de las uredosporas en el desarrollo de modelos de pronóstico (Rayner, *et al.*, 1972). Para el diseño de trampas de esporas por escurrimiento de lluvia se han empleado recipientes con forma de botella, las cuales tienen como principio la captación de gotas de lluvia con presencia de esporas (Roelfs, 1970). Finalmente, otro tipo de trampas se exponen a la dirección del viento para la captación de esporas por impactación en portaobjetos con vaselina u otras sustancias usadas como adherentes.

Este tipo de trampas se ha empleado para estudios epidemiológicos de la roya de la soya (Peterson, 1959) o malformación de mango (Noriega *et al.*, 1999).

Considerado la naturaleza de la Campaña Nacional contra la Roya del Café y la amplia participación de personal de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal (CESV) se planteó el diseño de un prototipo de bajo costo, practicidad operativa y fácil reproducción local con materiales accesibles. Adicionalmente, se buscó reducir los riesgos de pérdida de trampas o vandalismo mediante diseños poco atractivos por su valor o con materiales que reduzcan su uso alternativo. Este prototipo debe ser evaluado y adecuado en estudios paralelos a su uso a nivel nacional. Por esta razón, los dispositivos de captura incluidos en la trampa deben ser móviles para ajuste adecuado de altura en función al vigor de las variedades de café y a la actividad de dispersión del hongo. Datos de México sugieren que el nivel de daño como indicador de la variabilidad de la deposición de esporas es mayor en el estrato medio-alto (Figura 2).

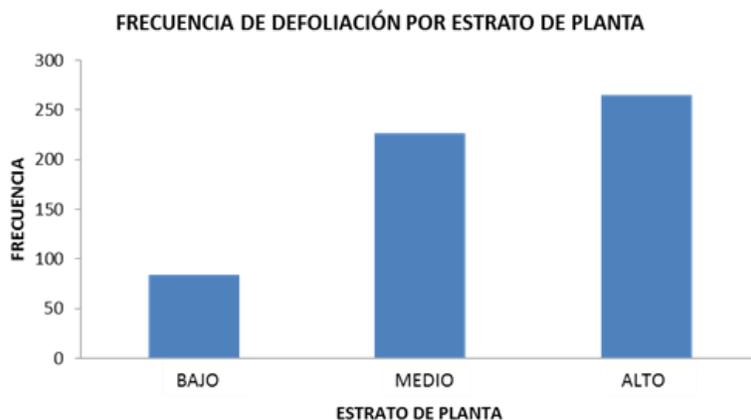


Figura 2. Variabilidad de alturas de deposición de esporas en estratos del dosel de plantas de café. Datos: DGSV, 2012.

2.3 DESARROLLO DEL PROTOTIPO

Para el diseño del prototipo se consideraron tres elementos importantes relacionados con la dispersión de las esporas de la roya del caféto:

1) Superficie horizontal para captura por deposición

2) Simulador de un mini-túnel de viento para colecta por impacto

Se desarrolló el prototipo integrando los tres principios de captura sobre un eje vertical o soporte. Este eje es rígido para soportar los elementos de captura y para fijarse por presión dentro de la tierra a una profundidad de 50cm (Figura 3).

2.3.1 Superficie horizontal para captura por deposición

La captura de esporas por deposición se realizará mediante el uso de placa metálica (solera) de 35cm x 2cm (Figura 3: #9). Esta solera se perforará para insertarse en el soporte, se posiciona a una altura de 50 cm del suelo y se fijará con un par de anillos en la parte inferior y superior ajustados por presión mediante tornillos.

Sobre la solera y en los extremos se colocará un portaobjetos con vaselina u otro adherente. El portaobjetos se fijará dentro de los márgenes de la solera para evitar daño mediante clips metálicos de presión previamente fijados a la solera con soldadura u otro método que cumpla la misma función. En la Figura 3, se emplea un sujetador de hojas utilizado frecuentemente en áreas administrativas, que permite fijar cada uno de los portaobjetos y dada su estructura facilita la colecta.

Se evaluará la altura adecuada sobre todo en lo que respecta a la contaminación de la muestra por salpiqueo de residuos sólidos como tierra y material orgánico que dificulten la observación de la muestra directamente sobre el microscopio para el conteo de esporas. La muestra consistirá de portaobjetos los cuales se identificarán al reverso con marcador indeleble con datos de lugar, fecha y colector. Los portaobjetos se reemplazarán al momento de la colecta con un nuevo portaobjetos preparado para ese fin.

2.3.2 Simulador de un mini-túnel de viento para colecta por impacto

El tubo mini-túnel de viento para colecta de esporas por impacto está elaborado básicamente con material PVC de uso doméstico. Consta de un tubo de 35 cm PVC de 5" cortado en forma trapezoidal con fines aerodinámicos (Figura 3: #2). En uno de los extremos del PVC, un trapecio rectángulo en forma de veleta de 12cm de alto, 17cm de

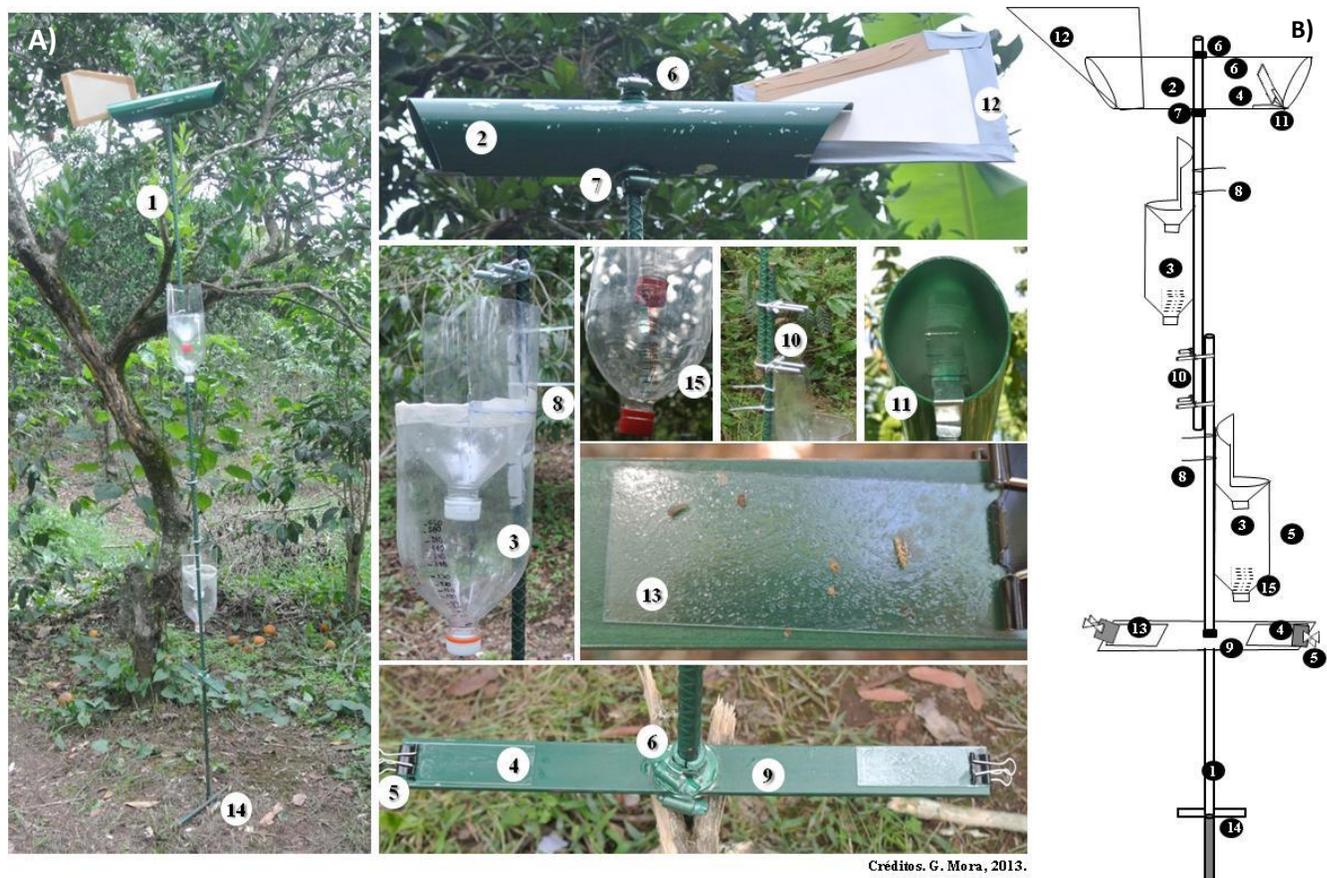
base mayor y 5cm de base menor, se encuentra incrustado al tubo PVC mediante una ranura transversal de 10 cm de profundidad y 1 mm de ancho (Figura 3: #12). La veleta cumple con una función aerodinámica para ubicar el simulador en dirección del viento, acción que permite la colecta aérea de esporas. Para esta función giratoria el tubo de PVC tendrá un orificio en la parte central para insertarse en el soporte de acero.

Al otro extremo del PVC una laminilla en forma de pinza sujetadora de 2 cm ancho y 4cm de alto se incrusta a presión en la parte inferior del PVC (Figura 3: #11). La posición de esta laminilla es reclinada (45° aproximadamente) en dirección del extremo opuesto ya que la funcionalidad de esta posición tiene un efecto mayor en la captura con respecto a la posición vertical. La muestra contenida en el portaobjetos se retirará para su traslado a laboratorio previa identificación con nombre de la parcela, nombre del colector, fecha, tipo de adherente, etc. Una vez colectada la muestra, se sustituye el portaobjetos para un nuevo proceso de succión.

El simulador se sitúa a una distancia adecuada en función a la altura de la planta y se fijará por presión en el soporte de acero mediante los anillos metálicos en la parte superior e inferior (Figura 3: #6-7).

2.3.3 Soporte de acero

Los tres dispositivos mencionados anteriormente se encuentran fijados y ajustados a una varilla de acero de ½" que cumple la función de soporte (Figura 3: #1). La varilla de soporte está dividida en dos tramos de 1.50 mts con la finalidad de ajustar el tamaño de acuerdo a las condiciones de la planta. Ambas varillas se unen mediante abrazaderas metálicas forma de 'U' ajustadas con tuercas tipo mariposa (Figura 3: #10). Esta estructura estará fijada por presión dentro de la tierra a una profundidad de 50 cm. Para este fin, el soporte posee una varilla transversal de 20 cm soldada a 50 cm con el fin de ser usado para introducir el soporte en el suelo por golpeo, delimitar la profundidad y dar estabilidad al soporte (Figura 3: #14). Considerando el traslape de varillas y la porción enterrada, la altura máxima de la trampa una vez instalada será de aproximadamente 2 m.



Créditos. G. Mora, 2013.

Figura 3. Prototipo de trampa de impacto-deposición-escurrimiento para colecta pasiva de esporas de roya del cafeto: A). Prototipo general de la trampa usado en práctica de campo en Coatepec, Veracruz; y B). Estructura integrada de la trampa caza-esporas: 1) Varilla de acero $\frac{1}{2}$ " 2 tramos de 1.50 mts, 2) Tuvo PVC 5", 3) Botellas plástica de 3 lts con taparroscas (4), 4) Portaobjetos (3), 5) Sujetador de hojas (2), 6) Abrazaderas metálicas de $\frac{3}{4}$ " (4), 7) Rondana de $\frac{3}{4}$ " (1) , 8) Cinchos sujetadores (4) o alambre requemado (1 m), 9) Solera de 35cm x 2 cm (1), 10) Abrazadera metálica en forma de 'U' (1) con tuercas tipo mariposa (2), 11) Soporte de lámina (1), 12) Veleta de plástico o cartón plastificado (1), 13) Adherente (vaselina o stick), 14) Varilla de 30 cm para soporte, 15) Pluviómetro.

2.4 LITERATURA CITADA

1. Ávila , Q. G. D., Téliz, O.D., Mora-Aguilera. G., Vaquera. H.H., and Tijerina. Ch. L. 2003. Spatial and temporal dynamic of scab on avocado (*Persea americana* Mill.) in Michoacán, Mexico. *Revista Mex. de Fitopatología*. 21(2). 152-160.
2. Edmonds, R. L. and Driver, C. H. 1974. Dispersion and deposition of spores of *Fomesannosus* and fluorescent particles. *Phytopathology* 64: 1313-1321.
3. Fitt, B. D. L. 1983. Evaluation of samplers for splash-dispersed fungus spores. *EPPO Buil* 13(2):57-61).
4. Hopkins, J. C. 1959. A spore trap of the vaseline slide type. *Can. J. Botany* 37:1277-1278.
5. Hunter, J. E. and Kunimoto, R. K. 1973. Dispersal of *Phytophthora palmivora* sporangia by wind-blown rain. *Phytopathology* 64: 202-206.
6. Keressies, A., Bosker-van Zessen. A. I. and Frinking, H. D. 1998. Impaction of conidia of *Botrytis cinerea* in glasshouses on different spore trap orientations. *Crop Protection* 17(2):181-183.
7. Mora-Aguilera, A., Noriega-Cantú, D. H., Téliz-Ortíz, D. y Mora-Aguilera, G. 2000. Diseño de una trampa volumétrica de esporas de cloruro de polivinilo (PVC) con tambor giratorio a 7 días. XXVII Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Puerto Vallarta, Jalisco. 9-13 Julio. L-65.
8. Mora-Aguilera, J. A. 2000. Patogénesis y epidemiología de la “escoba de bruja” (*Fusarium subglutinans* (Wollemewb & Reinking) y *F. oxysporum* (Schlecht)) del mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán, México. Tesis Doctorado CP Montecillo, Mexico.
9. Noriega, C. D. H., Mora-Aguilera, G., Rodríguez, A. J., Zavaleta, M.E., Otero, C. G., and Campbell, C. L. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, México, with traditional and Integrated Management. *Plant Dis.* 83: 223-228.
10. Peterson, A. 1959. *Entomological Techniques How to Work with Insects*. The Ohio State University, Columbus, Ohio. Ed. Edwards brothers Inc. Michigan, USA. 435 p.

11. Rayner, R. W. y Hons, B. A. 1972. Micología, historia y biología de la roya del café. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A. Centro Tropical de Enseñanza e Investigación. Turrialba, Costa Rica.
12. Reyes-González, B., Mora-Aguilera, G., Osada-Kawasoe, S. y Téliz-Ortiz, D. 2002. Etiología y epidemiología de caída prematura de frutos (*Colletotrichum acutatum*) en el norte de Veracruz, México. Memorias del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Monterrey, Nuevo León, México. F-144.
13. Roelfs, A. P., Rowell, J. B. and Roming, R. W. 1970. Sampler for monitoring cereal rust uredospores in rain. *Phytopathology* 60(1):187-188.
14. Sutton, T. B. and Jones, A. L. 1975. Evaluation of four sporetraps for monitoring discharge of ascospores of *Venturiainaequalis*. *Phytopathology* 66: 453-456.
15. Van der Zwet, T. and Lewis, W. A. 1963. Simple technique for studying dispersal pattern of ascospores of *Mycosphaella aleuriditidis*. *Phytopathology* 53:734-735.

ANEXO 3. PROTOCOLO: COLECTA TEJIDO VEGETAL PARA ANÁLISIS BIOLÓGICOS DE MANCHA GRIS (*CERCOSPORA AGAVICOLA*) EN EL CULTIVO DE *AGAVE TEQUILANA* WEBER DE LA REGIÓN DE JALISCO

3.1 INTRODUCCIÓN

Al enviar muestras de tejido vegetal a un laboratorio para análisis biológicos, se esperan diversos resultados analíticos para tomar decisiones. Sin embargo, dichas muestras contribuyen sólo si son representativas del área que se quiere estudiar. En el proceso de obtención de la muestra puede haber muchas fuentes de error. Por lo tanto, la representatividad y calidad de la muestra es decisiva para obtener la información adecuada (Trigiano, 2008).

La colecta tejido vegetal se considera como una de las etapas críticas del proceso de análisis, específicamente para estudios microbiológicos donde se busca una alta precisión y confiabilidad de los datos. (Narayanasamy, 2001).

Una buena metodología de muestreo garantiza un correcto diagnóstico fitosanitario. En cambio, un muestreo inadecuado puede conducir a interpretaciones equivocadas.

3.2 OBJETIVO

Obtener muestras representativas y de calidad de tejido vegetal de *Agave tequilana* Weber con síntomas de mancha gris (*Cercospora agavicola*) en la región de Jalisco, para generar indicadores biológicos que coadyuven al manejo integrado de la enfermedad.

3.3 CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA A MUESTREAR

Las plantas con mancha gris se colectarán en los sitios de monitoreo destinados para esta enfermedad. Se recomienda que las plantas colectadas se encuentren dentro de las clases 2 y 3 de severidad de acuerdo a la Escala (CIVEFIT-LANREF, 2016). Si no es posible encontrar dichas clases dentro del predio, se tomará la muestra del tejido enfermo disponible.

3.4 CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO A MUESTREAR

Las lesiones foliares se ubican en la base de las pencas centrales, avanzando hasta llegar al cogollo. Las lesiones iniciales son grises en el centro, con un halo más oscuro alrededor. Conforme se expande la lesión se pueden observar anillos concéntricos, rigidez del tejido afectado y amarillamiento de la o las pencas enfermas.

El tejido muestreado debe tomarse de la hoja dañada mas próxima al cogollo, se recomienda que las lesiones sean jóvenes (de 2-10cm de diámetro) y que se encuentre en etapa de esporulación, acérvulos de color grisáceo (estructuras reproductivas del hongo).



Figura 1 a) Lesiones jóvenes causadas por *Cercospora agavicola* b) Lesión joven esporulante de mancha gris.

3.5 ESPECIFICACIONES DEL PROCESO DE COLECTA

Seleccionar planta enferma

Elegir una planta con síntomas de mancha gris en el sitio de monitoreo designado para esta enfermedad. Se recomienda que la planta seleccionada tenga lesiones jóvenes.

Desinfectar herramienta con hipoclorito al 3% y alcohol al 70%

Antes de coleccionar tejido de cada planta desinfectar las herramientas con hipoclorito al 3% y alcohol al 70 % y secar con sanitas de papel para evitar contaminación entre una muestra y otra.

Cortar la penca a muestrear

Seleccionar la penca más cercana al cogollo, que presente lesiones con las características descritas anteriormente. Con una navaja cortar la penca 10 cm por debajo de la lesión para despegarla de la planta. Cortar el ápice de la hoja, para ello se cortará el tejido 10 cm por encima de la lesión.

Desinfectar el tejido coleccionado en campo

Con un atomizador aplicar alcohol al 70% sobre el tejido y limpiar con sanita seca, evitando frotar con fuerza el área de la lesión, para no dañar las esporulaciones.

Depositar el tejido coleccionado dentro de una bolsa de polipapel y llenar formato de campo.

Envolver el tejido en sanitas secas y depositar dentro de bolsa de polipapel. Con un marcador indeleble colocar el ID del sitio de monitoreo y número de muestra. Llenar formato de colecta con datos correspondientes.

Colocar las muestras en hielera y enviar a Laboratorio para análisis.

Una vez coleccionadas las muestras de tejido se mantendrán en una hielera con geles refrigerantes para su conservación hasta su traslado a laboratorio donde se conservarán en refrigeración a -4°C hasta el momento de realizar el aislamiento del patógeno (Periodo de llegada hasta procesamiento no mayor de 2 días). Se recomienda enviar el tejido de 1 a 2 días después de la colecta en campo.

Para el acceso a laboratorio cada muestra deberá ser registrada mediante el formato de ingreso donde se le asignará un folio de registro al lote de muestras. Así mismo

cada muestra conservara la clave de campo con fines de trazabilidad de procesos internos hasta el momento de emitir el resultado.

3.6 PROCESAMIENTO EN LABORATORIO

Registro de ingreso de muestras al laboratorio

Llenar formato de ingreso de muestras

Preparar solución antibiótica

Preparar gentamicina al 0.5% (5 g de Gentamicin sulfate por cada 100 ml de agua destilada estéril). Por cada litro de agua destilada estéril se agregaran 12 ml de esta solución antibiótica

Elaboración de cámara húmeda

Colocar 2 sanitas dentro de una bolsa de papel y rociar 5ml de agua destilada estéril con solución antibiótica, introducir la penca dentro de la bolsa y tapar con 1 sanita, la cual se humedecerá con 5 ml más de ADE + gentamicina, de tal manera que se cubra el tejido por ambos lados.

Incubación

Las cámaras húmedas se llevaran a incubación, Temperatura 24-28 °C, con luz 12 horas y oscuridad 12 horas, durante 3 días.

Revisión de esporulaciones

Transcurridos los 3 días, abrir cámaras húmedas y observar bajo el estereoscopio la presencia de estructuras fúngicas (acérvalos de color grisáceo). Si no se observan las esporulaciones se dejará 3 días más, para ello se cambiará el tejido a otra cámara húmeda recién elaborada.

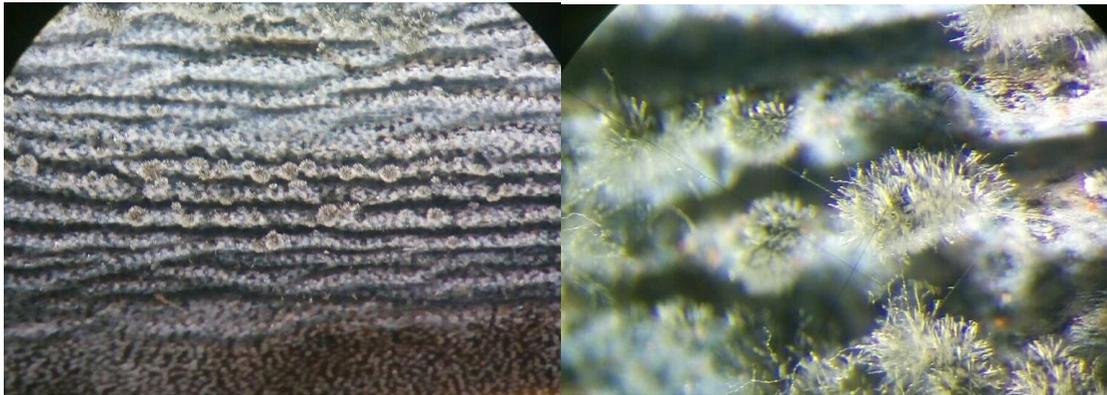


Figura 2. a) Revisión de esporulaciones de cercospora en áamara húmeda b y c) Acérvulos de Cercospora vistos en estereoscopio.

Realizar preparaciones con solución de lactofenol al 10%.

Tomar con aguja de disección uno o varios acérvulos y colocar sobre portaobjetos, añadir colorante y cubrir con laminilla de cristal, calentar a la flama y observar características de conidióforos y conidios de *Cercospora agavicola* al microscopio.



Figura 3. a) Acervulo de color café-olivo, conidioforos filiformes moderadamente largos, b) conidios alargados subcilindricos, hialinos, 3-8 septas.

Raspado de esporulaciones

Realizar un raspado de las esporulaciones con ayuda de una aguja de disección y sembrar por picado sobre la superficie de placas petri (4 picados por caja) con medio PDA+ gentamicin 0.5% ó en PDA-Agave + gentamicina 0.5%.

Incubación

Llevar a incubación: temperatura 25-28 °C, con luz 12 horas y oscuridad 12 horas, durante 3-5 días. Revisar crecimientos transcurrido este periodo.

Identificar colonias de Cercospora

La apariencia macroscópica de las colonias de *Cercospora agavicola* se observa con una coloración grisácea y aspecto algodónoso del micelio, en medio PDA-agave se observa un halo rojizo alrededor del micelio (enzima producida por el hongo).

Purificación de colonias

Una vez que se identificó el micelio de *Cercospora* trasladar a Agua -agar y dejar crecer por 3 días , observar micelio y cortar la hifa más aislada, colocarla sobre medio V8.

Traslado de colonias a medio Agave-Agar

Trasladar a medio de cultivo PDA-Agave para estimular la formación de conidios (estructuras reproductivas) e identificación morfológica.

Conservación de Cepas

Preparar medio de cultivo PDA y vaciar en tubos de ensayo, esterilizar a 121°C durante 20 minutos. Colocar tubos inclinados 45° y dejar solidificar. Cortar un trozo de medio con la cepa de interés y colocar dentro de tubo de ensayo con medio PDA. Incubar durante 7 días y agregar 5 ml de aceite mineral estéril. Conservar a 4°C.

3.7 FORMULACIÓN DE MEDIOS PARA EL AISLAMIENTO Y REPRODUCCIÓN DEL HONGO

Medio PDA

Papa Dextrosa Agar	39 g
Agua destilada	1 L
Gentamicina 0.5%	12 ml

Agregar 39 gr de PDA a 1 Litro de agua calentar y agitar hasta disolver, ajustar pH a 3-4, con ácido láctico esterilizar en autoclave a 120 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar, cuando el medio se encuentre a 50 °C agregar 12 ml de Gentamicina agitar suavemente para no formar burbujas y vaciar 20 ml de medio por cada caja Petri.

Medio PDA-Agave

Pencas de agave	300 g
Papa Dextrosa Agar	39 g
Agua destilada	aforar a 1 L
Gentamicina 0.5%	12 ml

Triturar 300 g de tejido de agave en extractor casero para obtener el jugo. Agregar a matraz y aforar a 1 L, agregar 39 g de PDA calentar y agitar hasta disolver. Ajustar pH

a 3-4, con ácido láctico, esterilizar en autoclave a 120 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar, cuando el medio se encuentre a 50 °C agregar 12 ml de Gentamicina agitar suavemente para no formar burbujas y vaciar 20 ml de medio por cada caja Petri.

Medio V8

Jugo V8 300 ml

Agar 20 g

Agua destilada estéril 1L

Colocar en centrifuga 300 ml de Jugo V8 a 3000 rpm durante 10 minutos. Colectar sobrenadante en un matraz Erlenmeyer y aforar a 1L, agregar 20 g de agar calentar y agitar hasta disolver. Ajustar pH a 3-4, con ácido láctico al 10%, esterilizar en autoclave a 120 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y vaciar 20 ml de medio por cada caja Petri.

Agua- Agar

Agar 19 g

Agua destilada estéril 1 L

Agregar 20 g de Agar calentar a 1 L de agua destilada estéril y agitar hasta disolver. Ajustar pH a 3-4, con ácido láctico al 10% , esterilizar en autoclave a 120 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y vaciar 20 ml de medio por cada caja Petri.

3.8 REFERENCIAS

Narayanasamy P. 2001. Plant pathogen detection and diseases diagnosis. Marcel Dekker Inc. 518 pp.

Trigiano R.N, Windham MT and Windham AS, 2008. Plant pathology, Concepts and Laboratory. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 413 pp.

ANEXO 4. PROTOCOLO AP PARA EXTRACCIÓN DE ADN (*Cercospora*) (Sambrook & Russell, 2001 modificado)

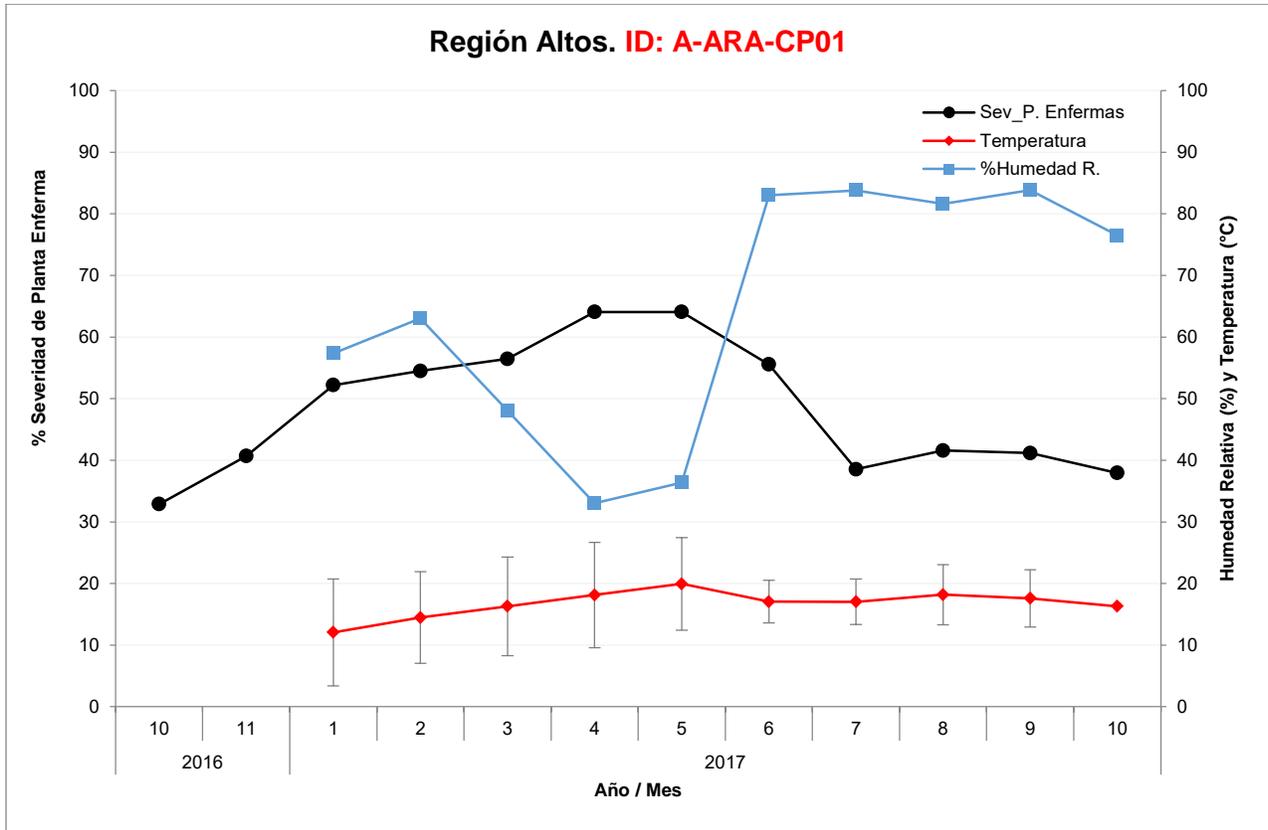
1. Colectar el micelio en un tubo de 1.5 ml.
2. Agregar 600µl de Buffer AP (urea 7M, NaCl 35M, Tris base 0.05M, EDTA 0.02M, SDS 1%), colocar dos balines de 1/8 y macerar en el disrruptor a 30 frecuencias/ 8 minutos.
3. Retirar los balines del tubo y desechar.
4. Agregar 1.5 µl de β-mercaptoetanol y dar vortex a la muestra.
5. Incubar por 40 minutos a una temperatura de 56°C
6. Agregar 500µl de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (relación 25:24:1), dar vortex a la muestra hasta homogenizar.
7. Centrifugar 10 minutos a 13, 500 RPM.
8. Recuperar la fase acuosa en un tubo de 1.5 ml
9. Precipitar el ADN con un volumen de 500 µl isopropanol y 500 µl de acetato de amonio, mezclar por inmersión y mantener a -20 °C por 5 hrs o hasta 24 hrs
10. Centrifugar a 13, 500 RPM por 15 minutos.
11. Desechar el sobrenadante sin deshacer la pastilla y lavarla con 500 µl de etanol al 70%, se centrifugo por 3 minutos y desechar el etanol.
12. Repetir el paso anterior 2 veces.
13. Resuspender la pastilla en 50 µl de agua libre de nucleasas.
14. Conservar el ADN a -20°C.

ANEXO 5. PROGRESO TEMPORAL DEL DAÑO CAUSADO POR LA MANCHA GRIS DEL AGAVE (*Cercospora agavicola*), RELACIONADO CON VARIABLES CLIMÁTICAS (HUMEDAD RELATIVA Y TEMPERATURA) POR REGIÓN/SITIO DE MONITOREO EN SIVEA DE OCTUBRE 2016 A DICIEMBRE, 2017.

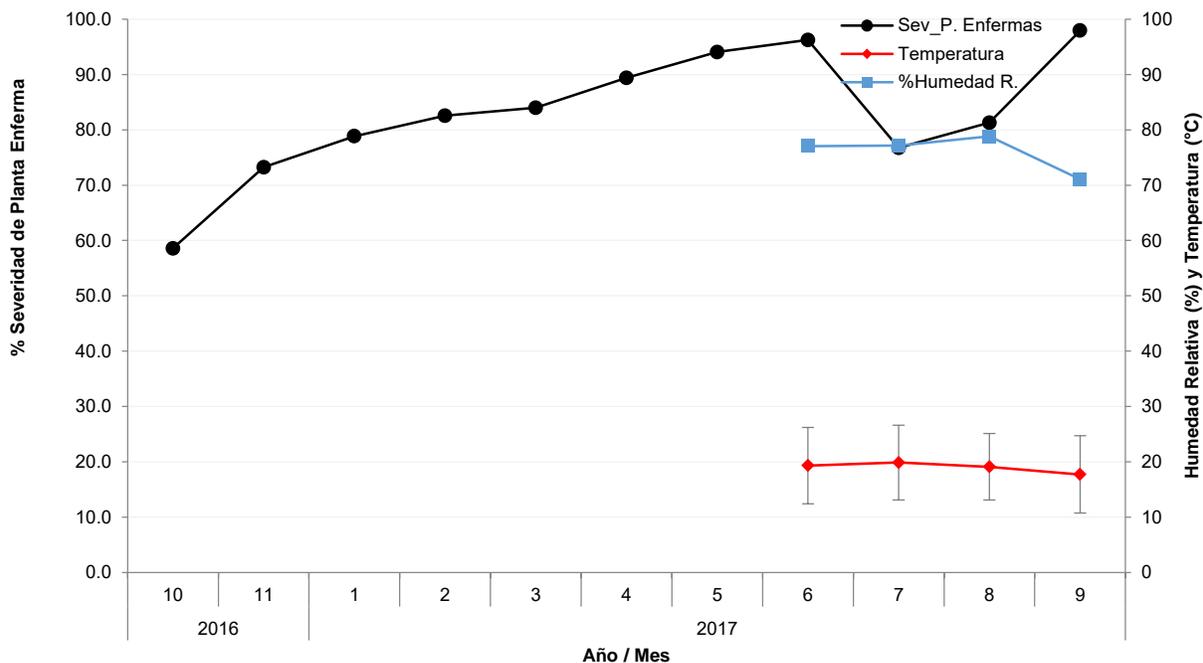
6.1 RESUMEN

Con el objetivo de generar alertas tempranas para Mancha gris se establecieron en conjunto con las trampas para monitoreo de picudo 41 unidades de vigilancia donde se evaluó mensualmente la severidad de Mancha gris en 273 plantas en diseño 3x2 (planta-surco) distribuidas en las regiones Altos(20), Valles(11) y Sur(10). En cada unidad de vigilancia se colocaron cintas adhesivas en trampas TIDE impacto-deposición para monitoreo quincenal de esporas. Se aisló y confirmó asociación de *C. agavicola* con Mancha gris. La incidencia promedio inicial (Yo) observada para Altos fue 3.6%, Valles=0.33% y Sur=0.51% con incremento acumulado de 0.13, 0.30, 0.44% respectivamente. La severidad promedio en octubre2016 y noviembre2017 (Anexo 3) para Altos fue 1.70 y 1.26% con rangos respectivos de 0-11.61 y 0-11.36; Valles 0.01 y 0.04% (rangos de 0-0.10 y 0-0.37); Sur 0.26 y 0.28% (rangos de 0-1.2 y 0-1.47%). La reducción de severidad promedio en la región Altos se debe principalmente a jimas fitosanitarias realizada por los productores. La revisión por microscopia del periodo oct-dic2016 ha resultado en 0 esporas de *C. agavicola*

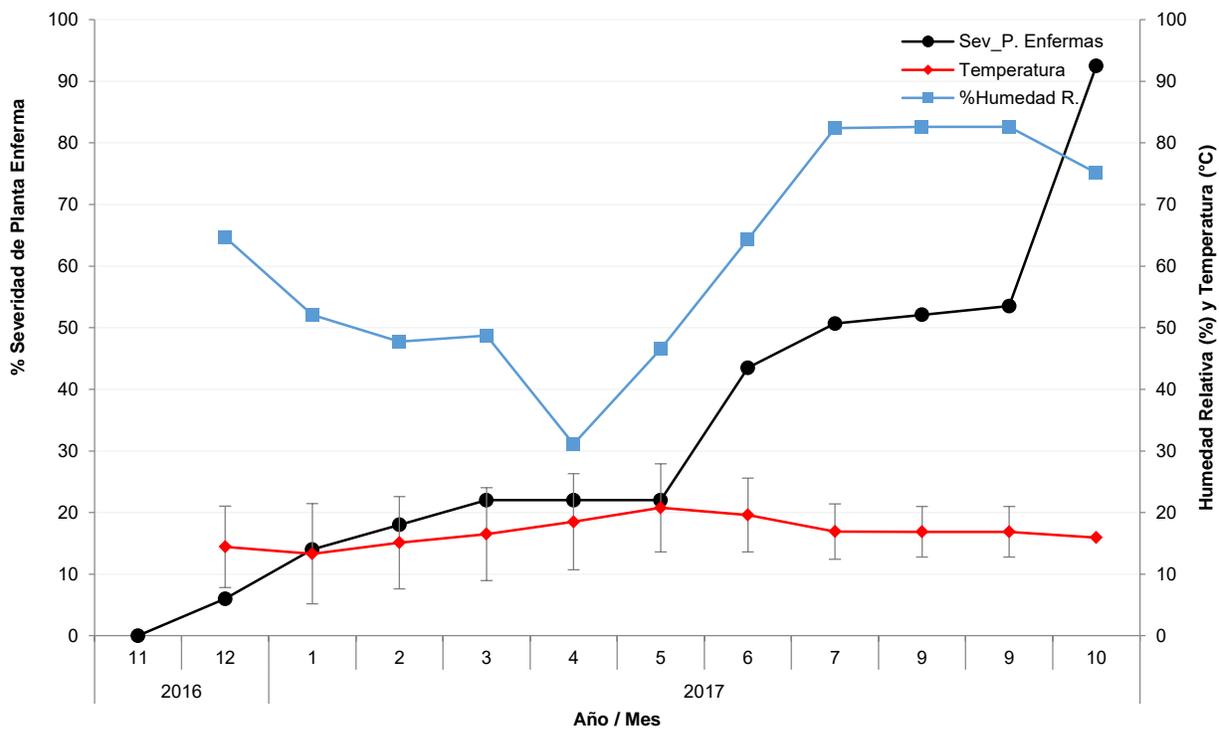
6.2 REGIÓN LOS ALTOS

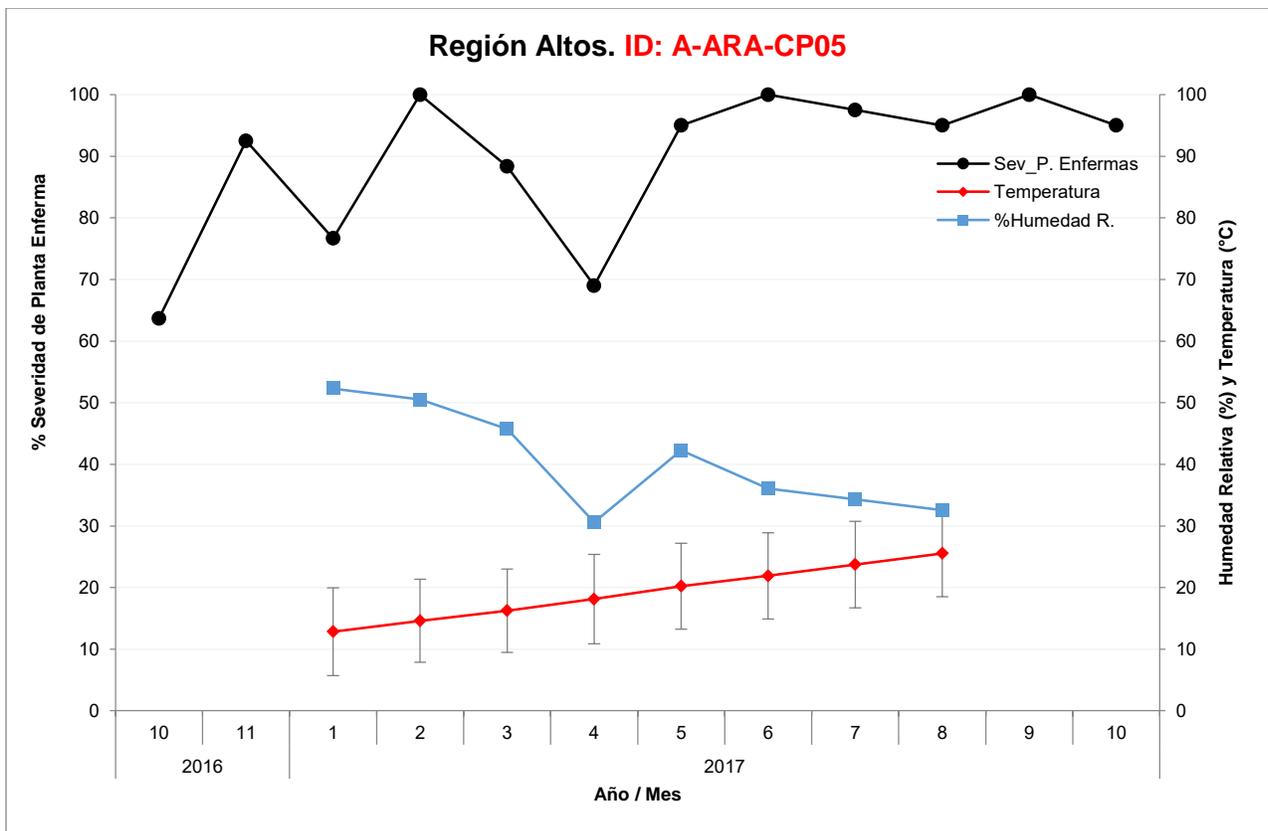
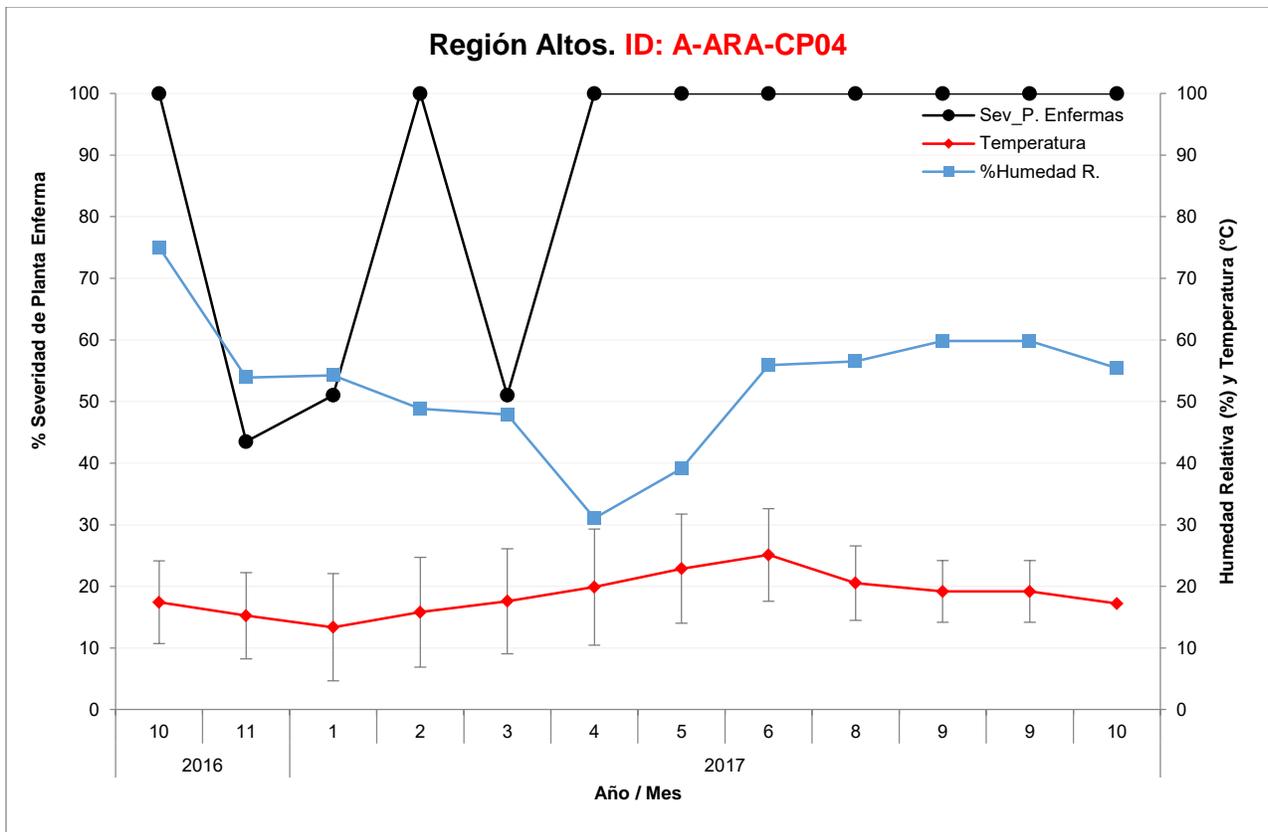


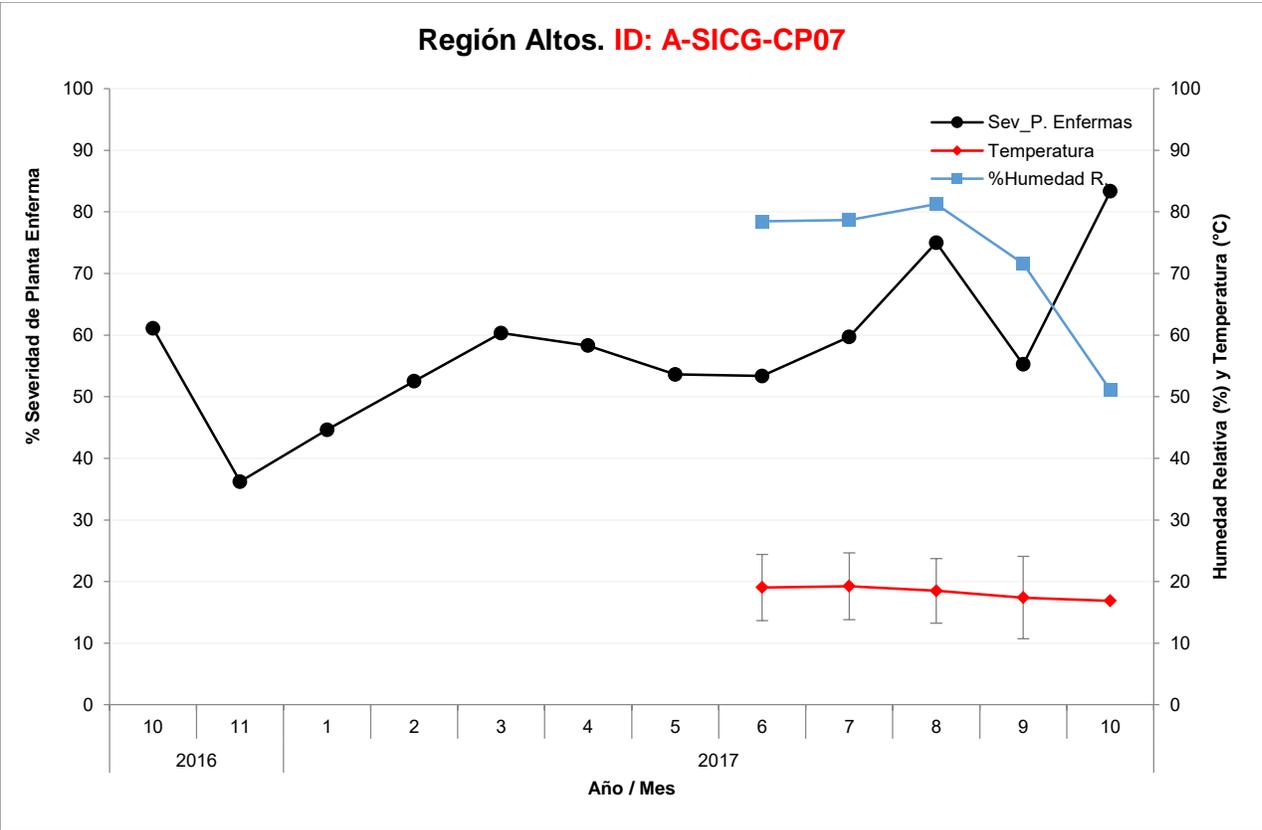
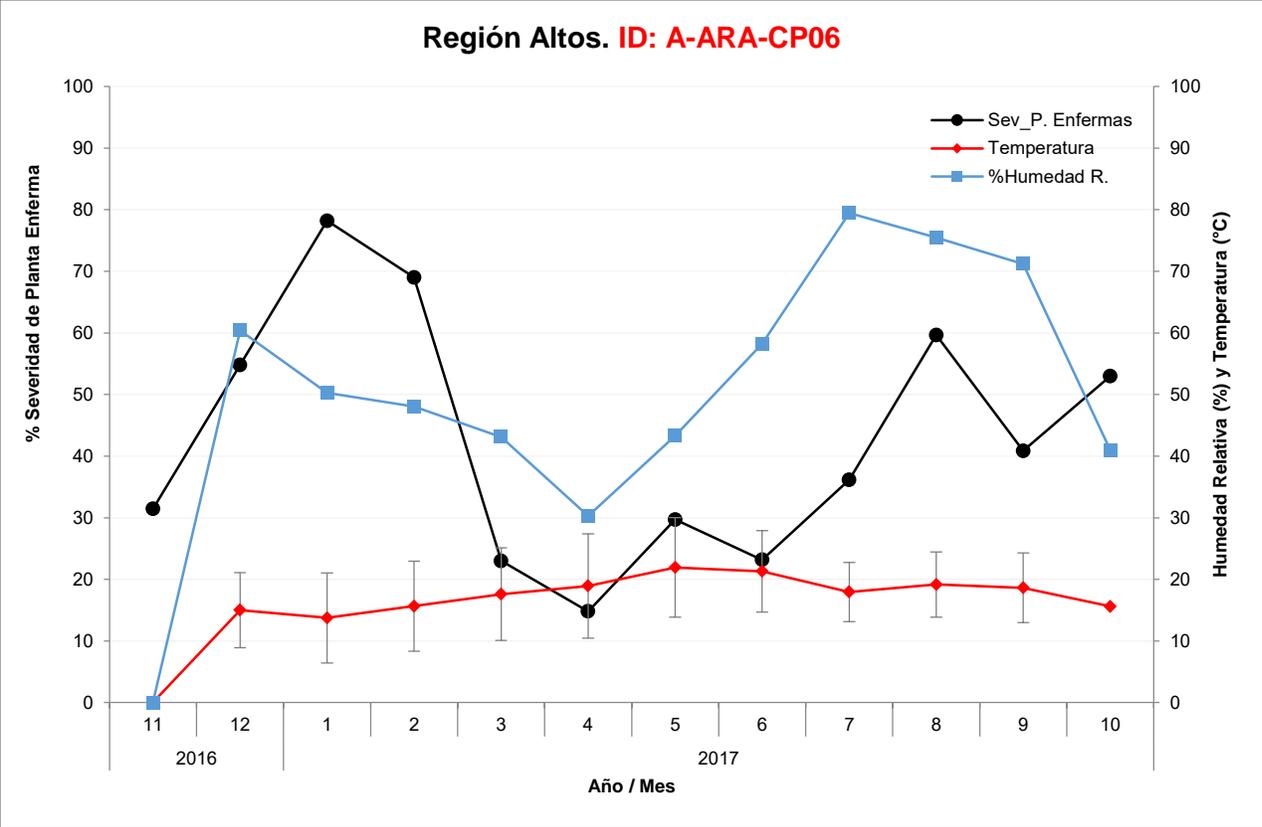
Región Altos. ID: A-JM-CP02

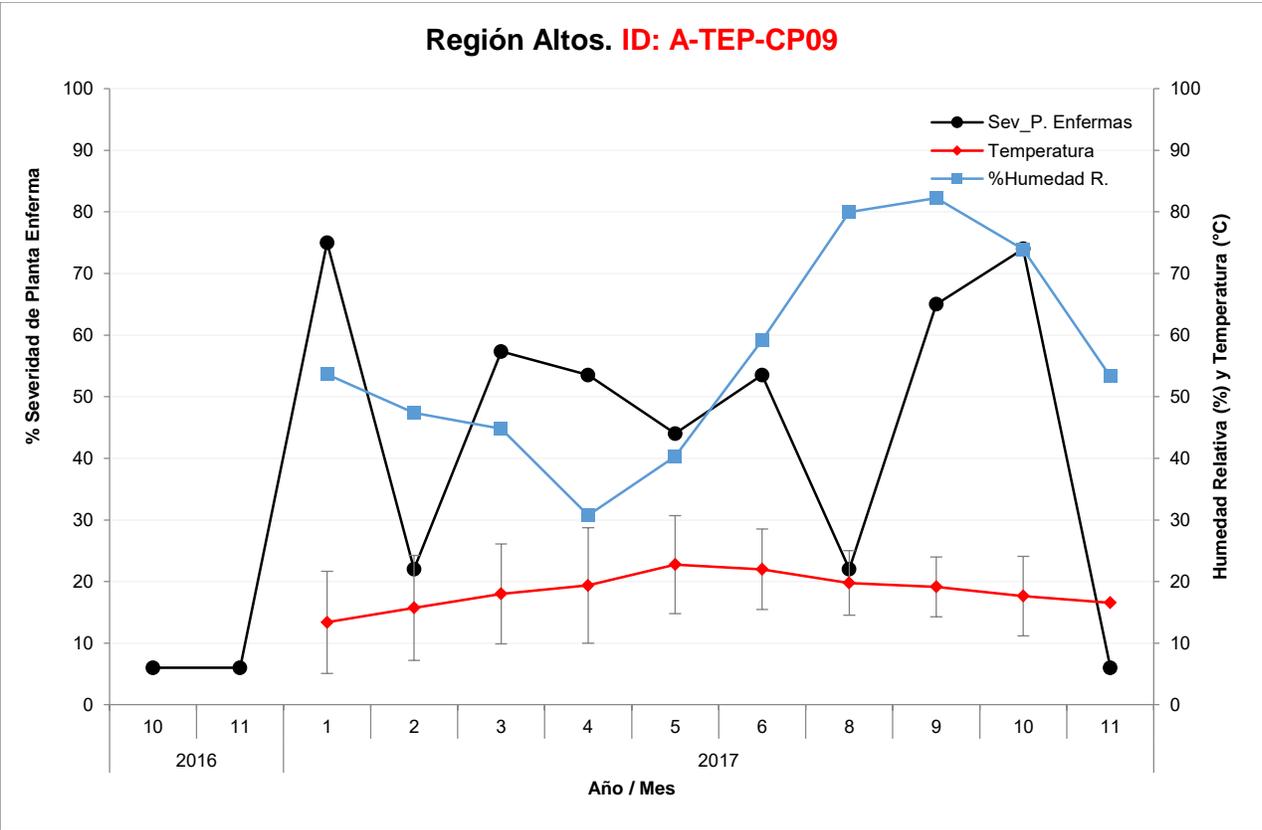
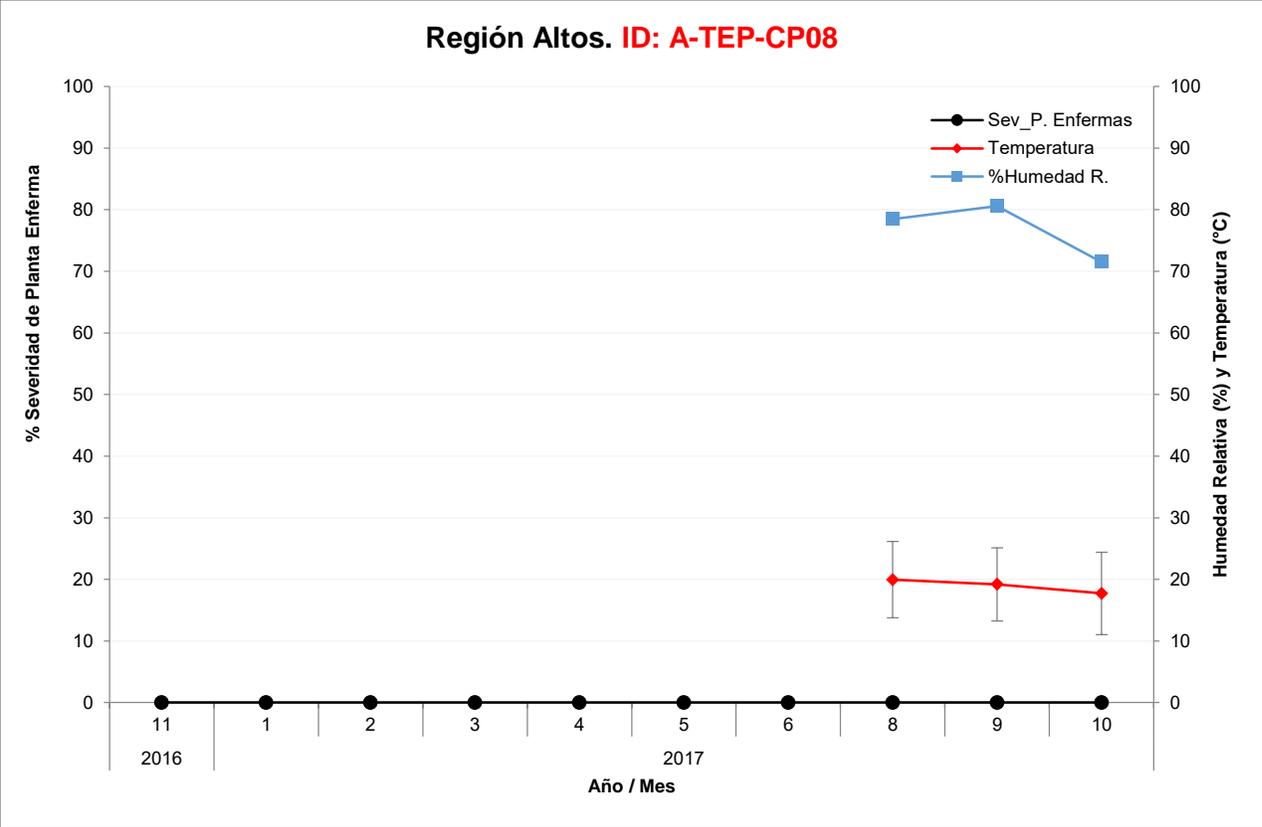


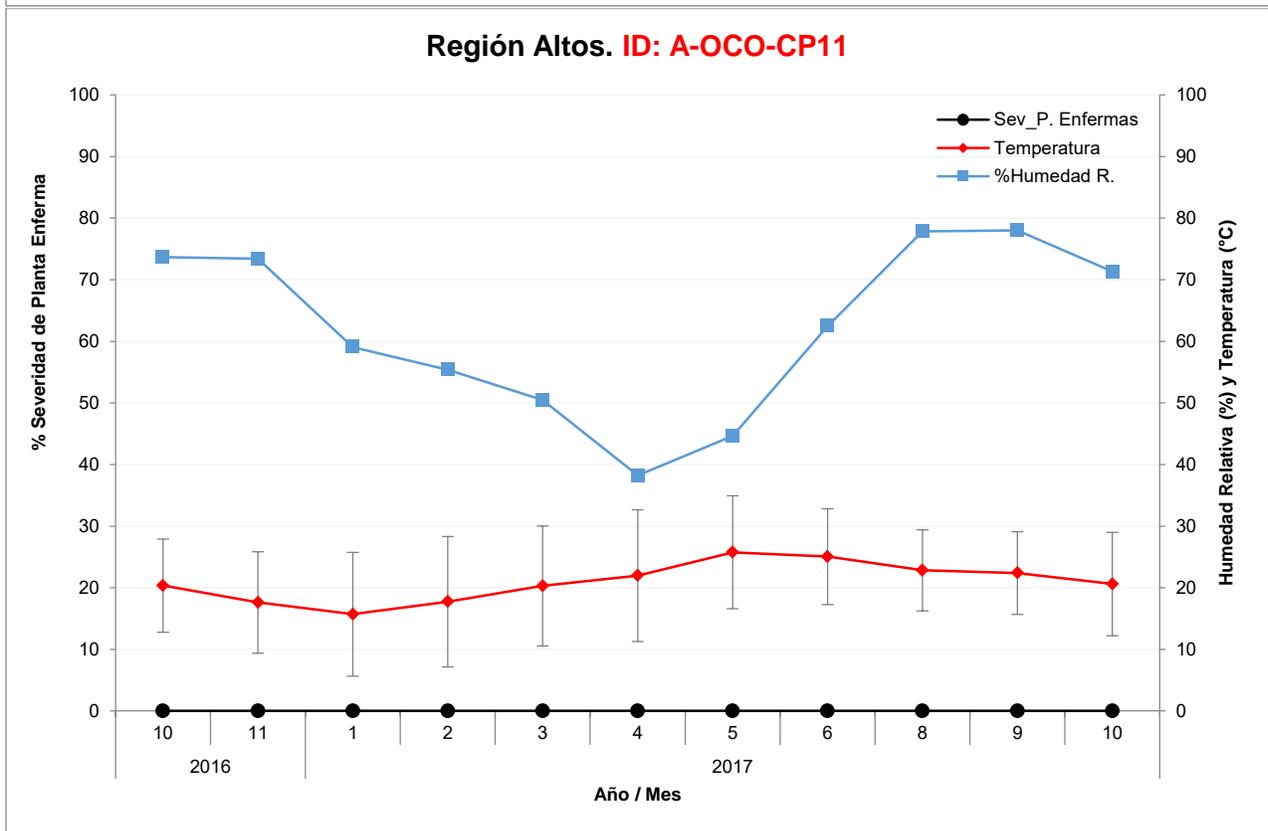
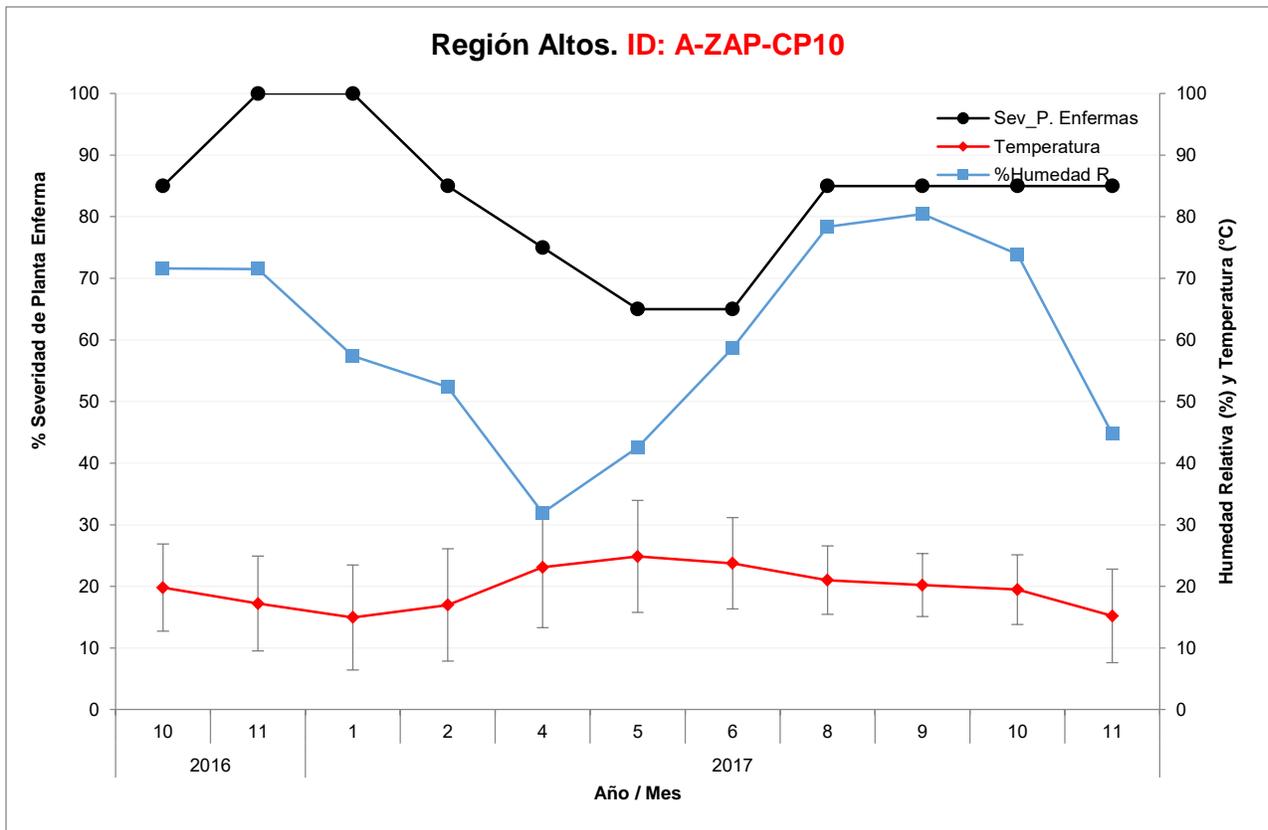
Región Altos. ID: A-JM-CP03

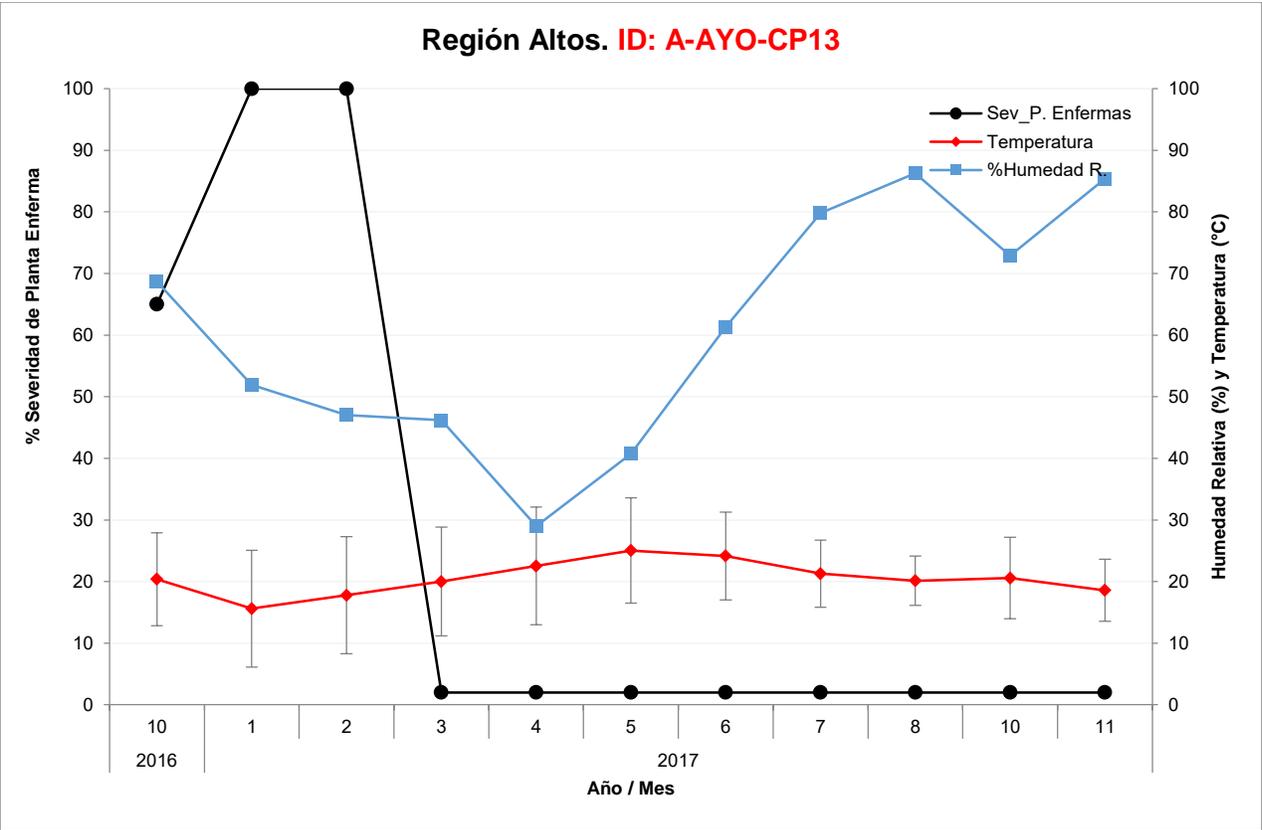
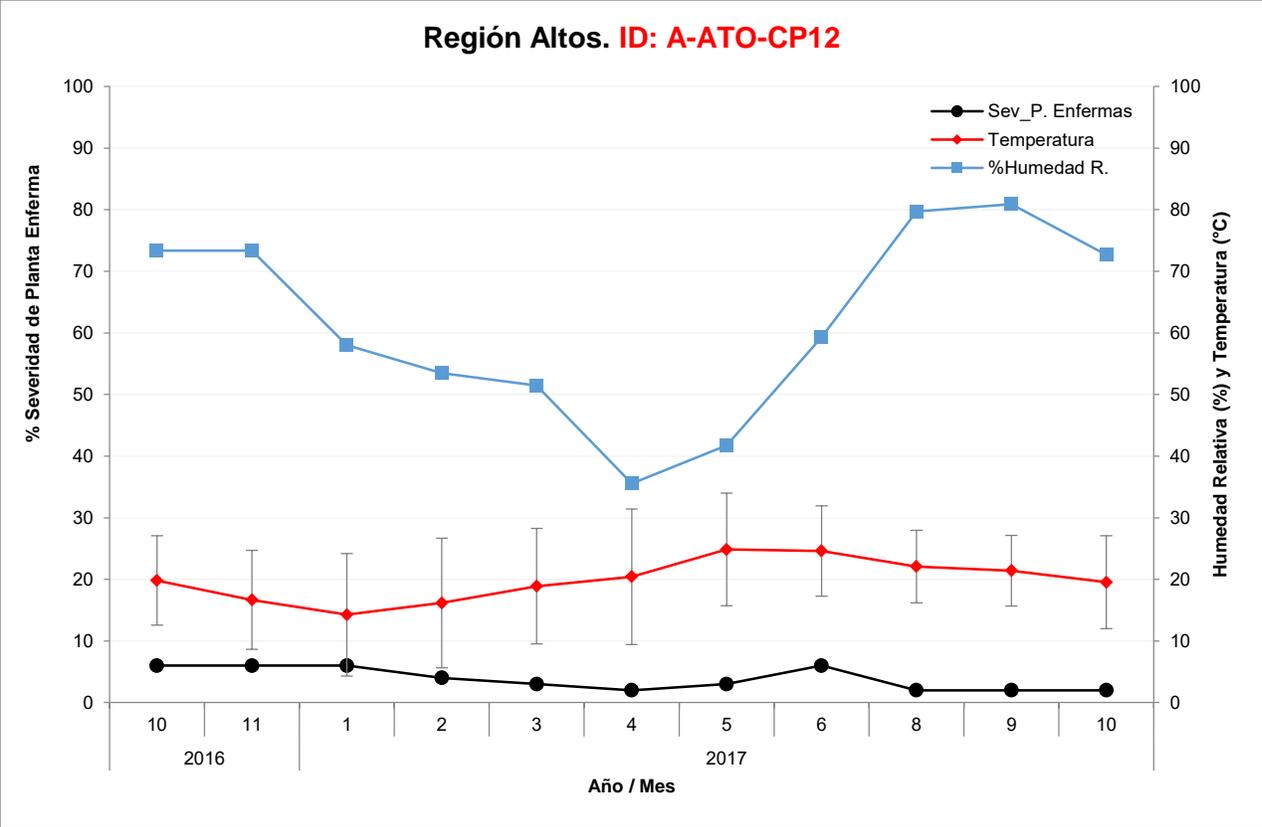


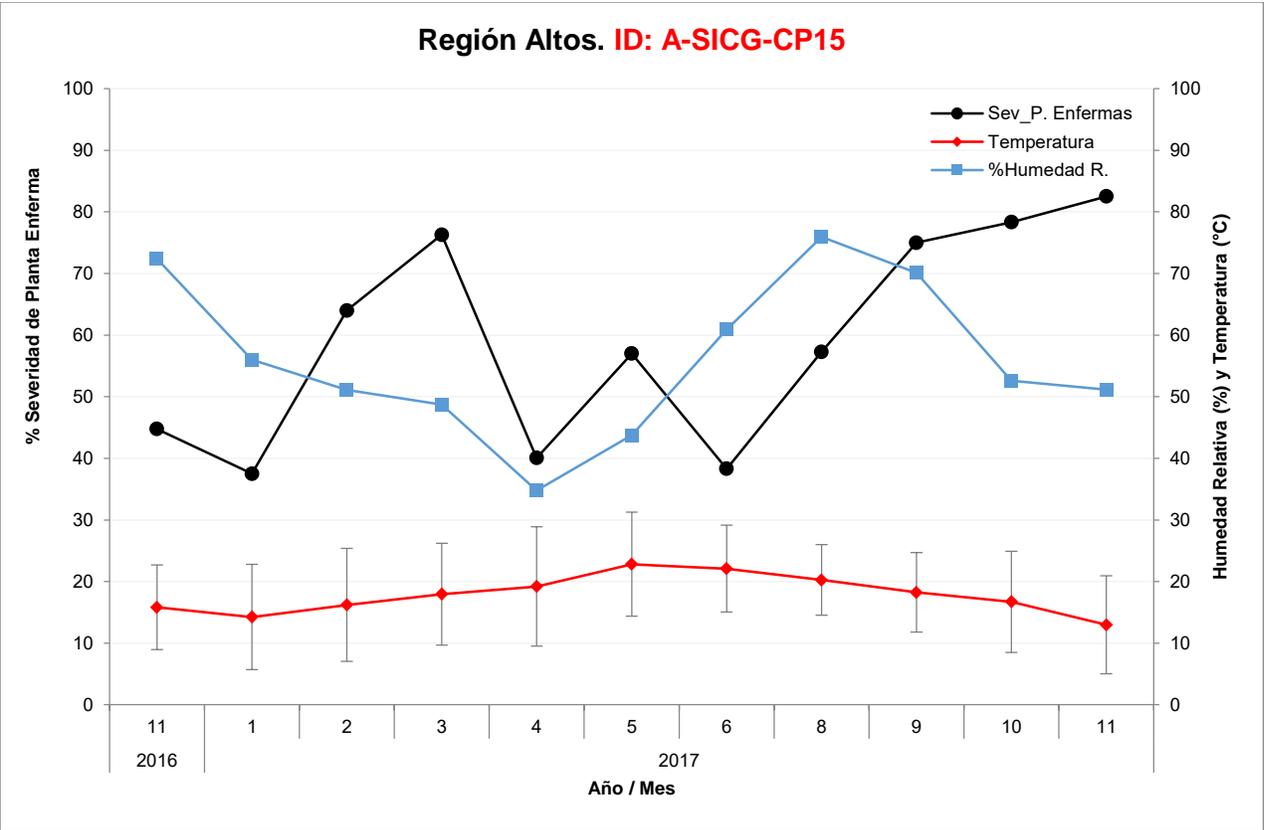
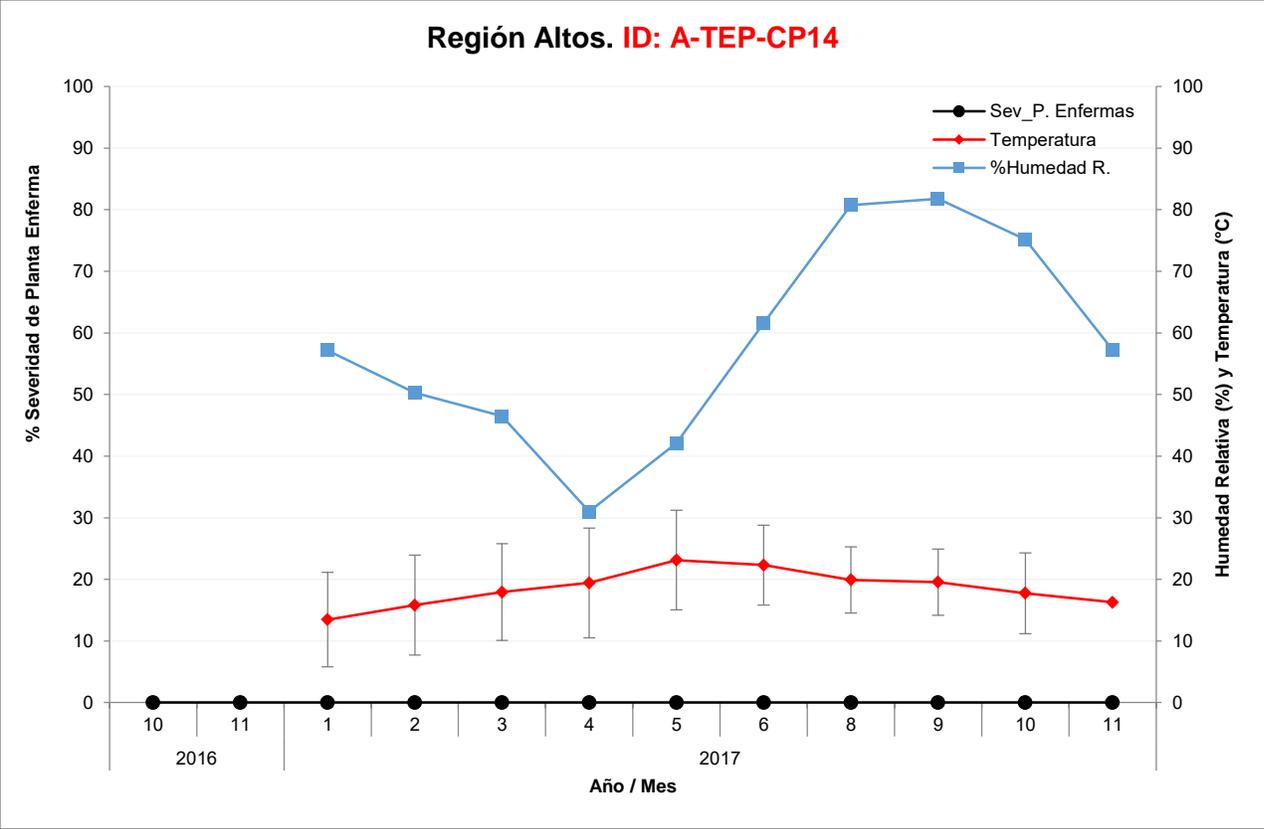


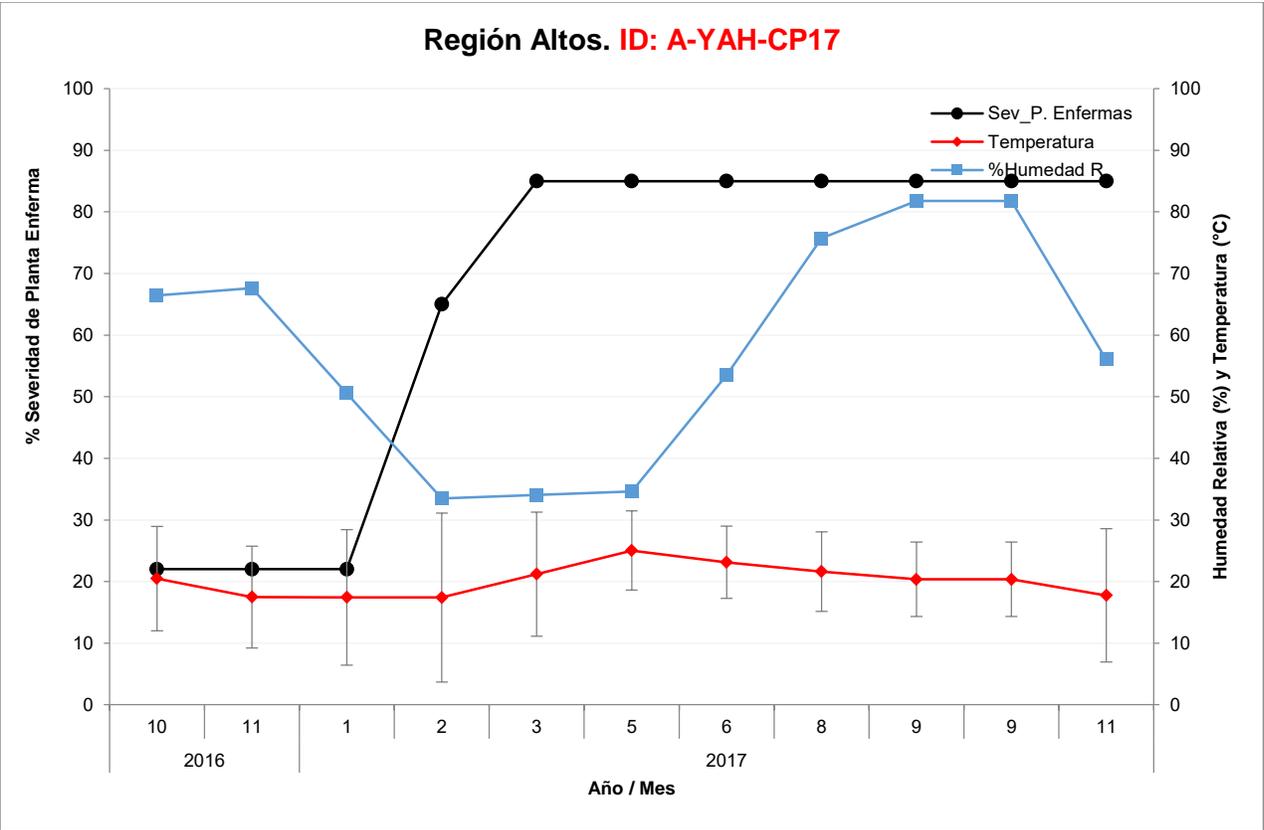
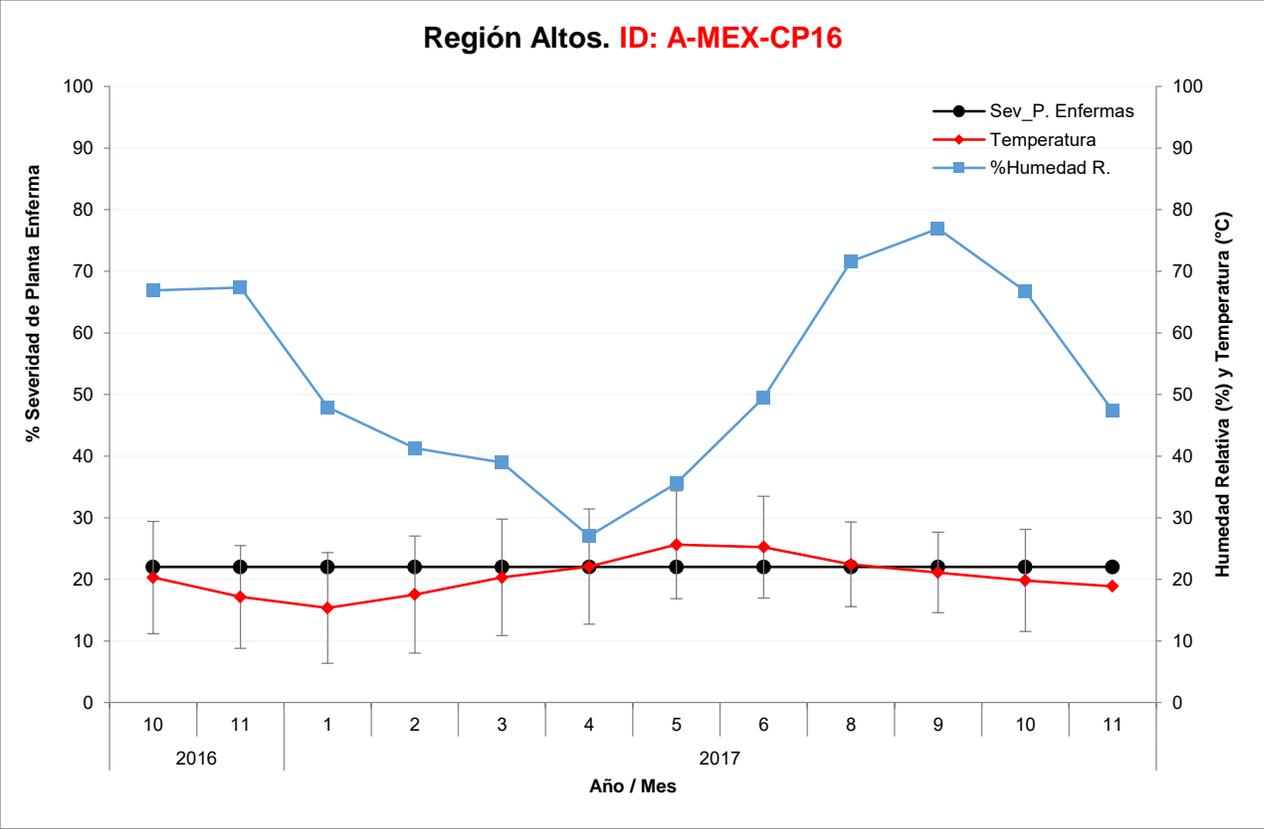


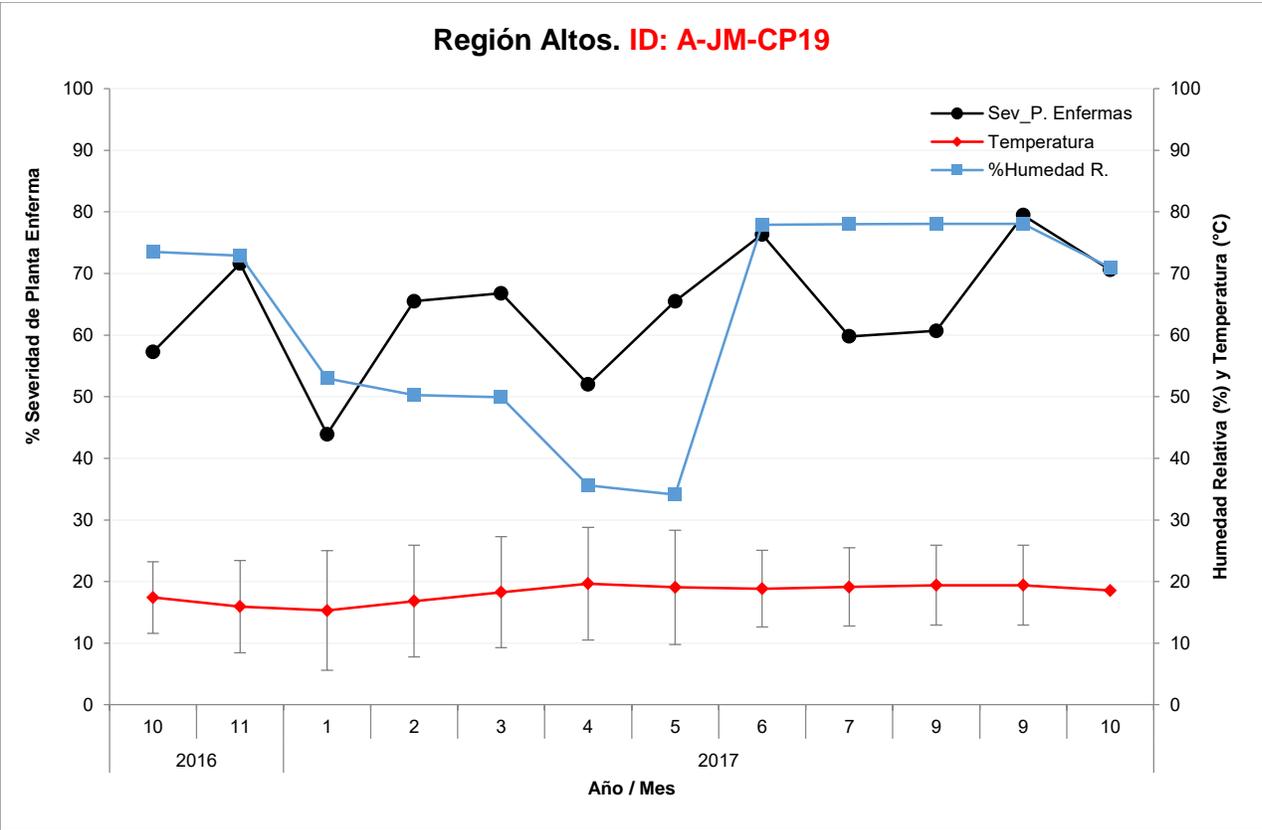
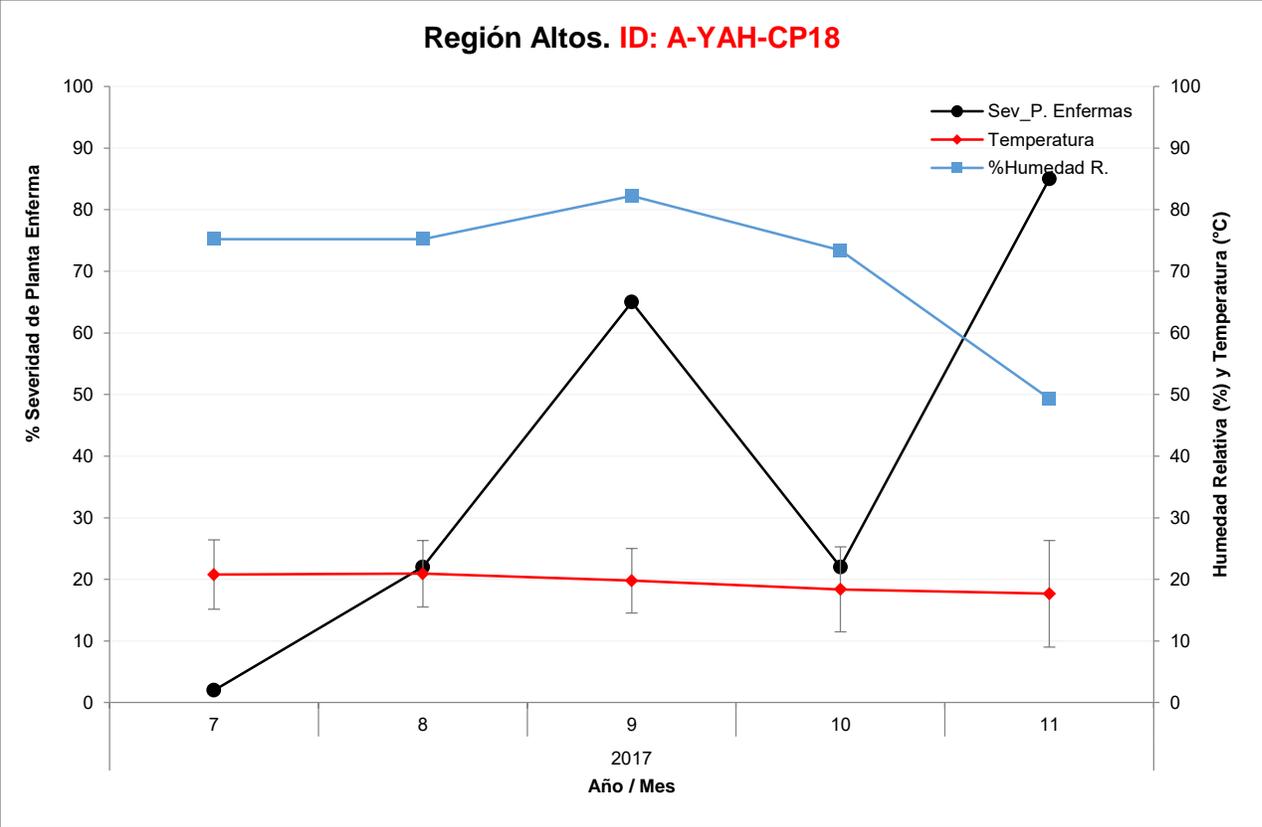




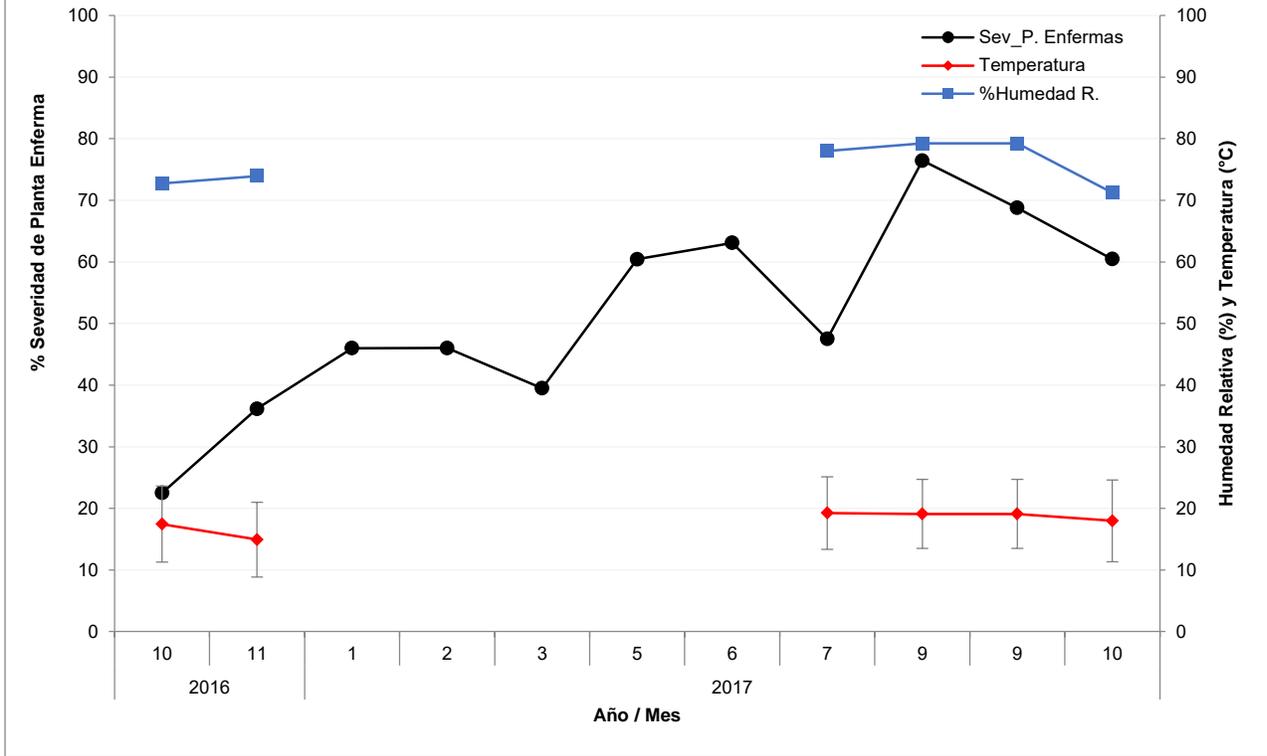




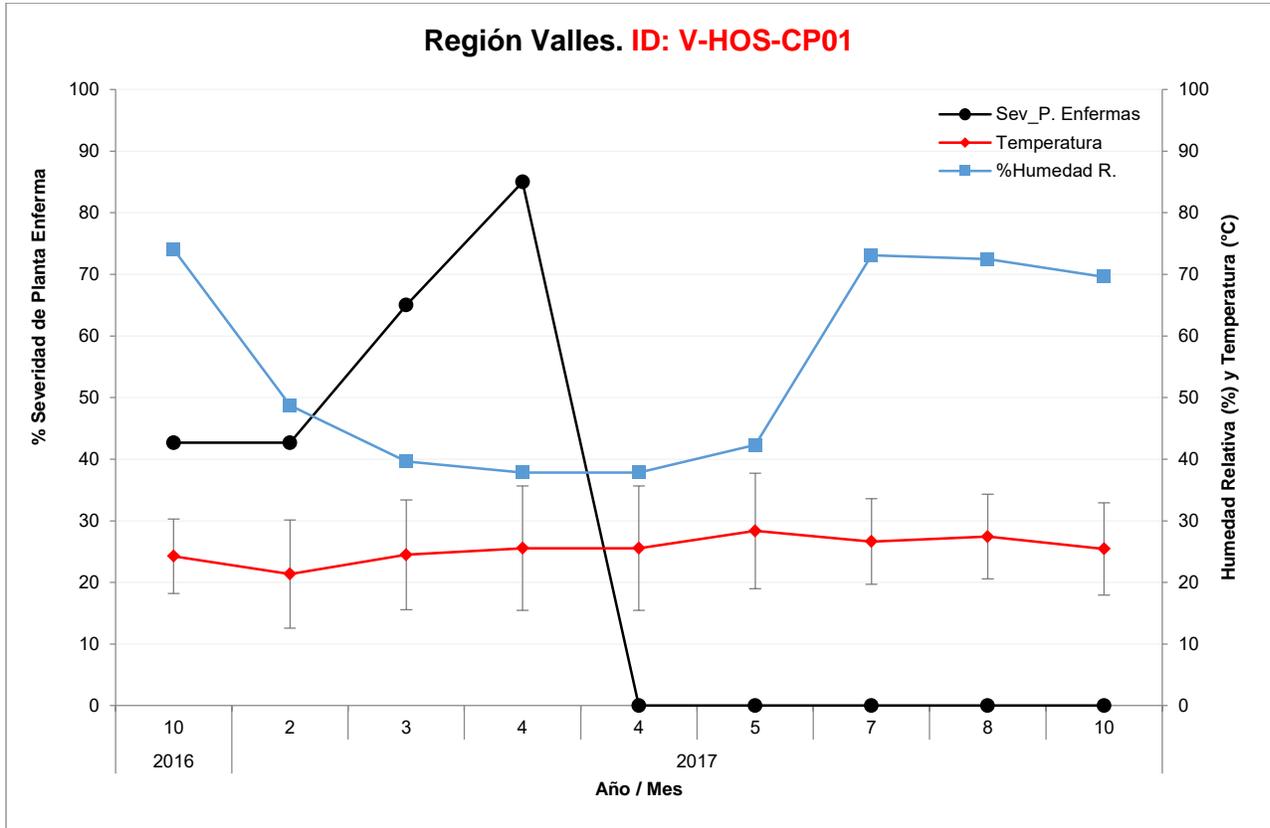


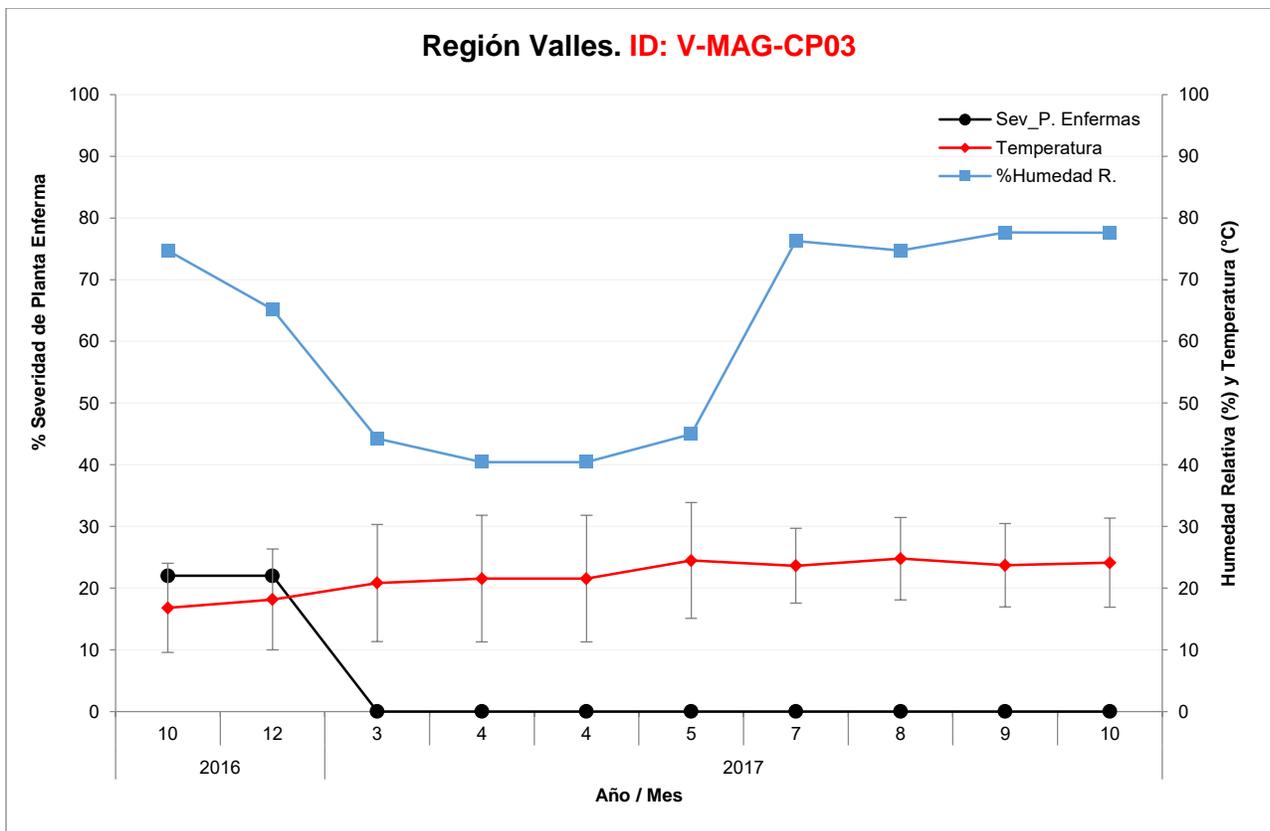
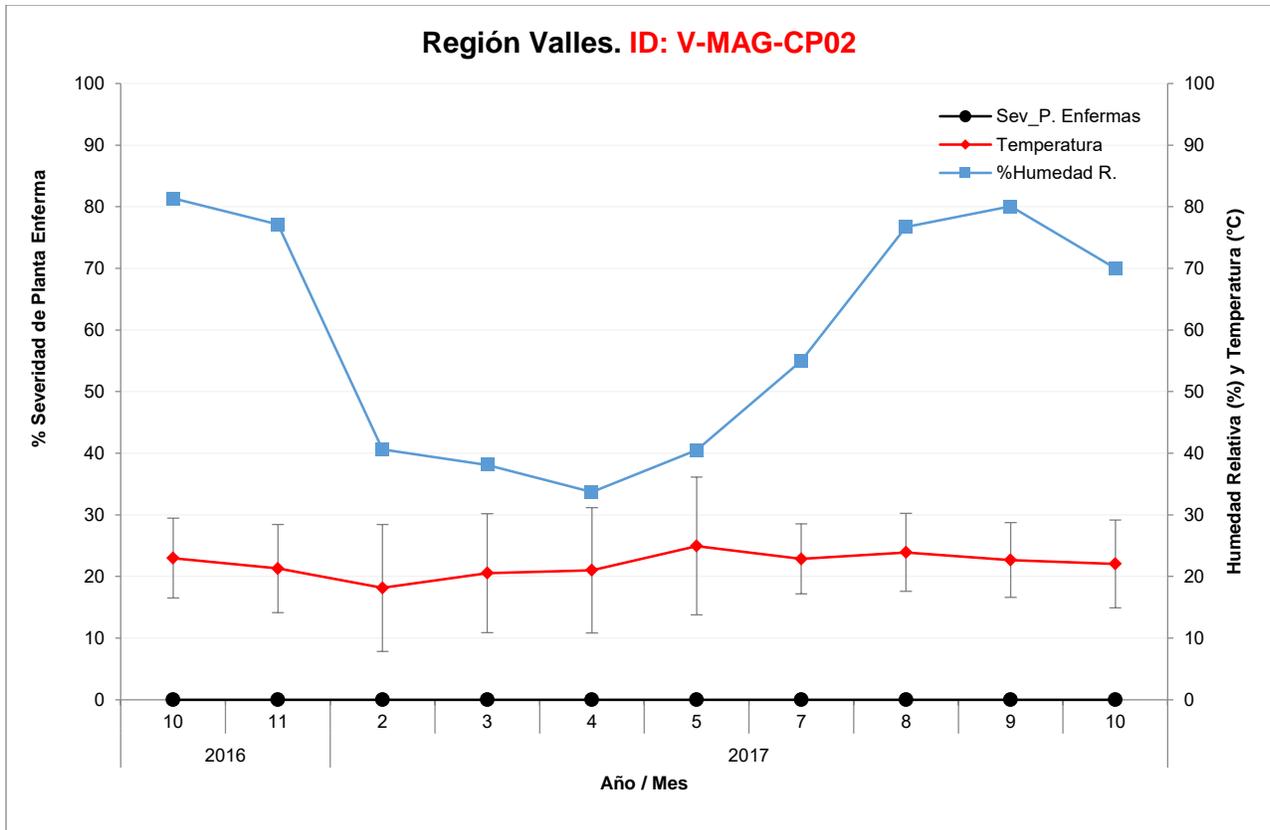


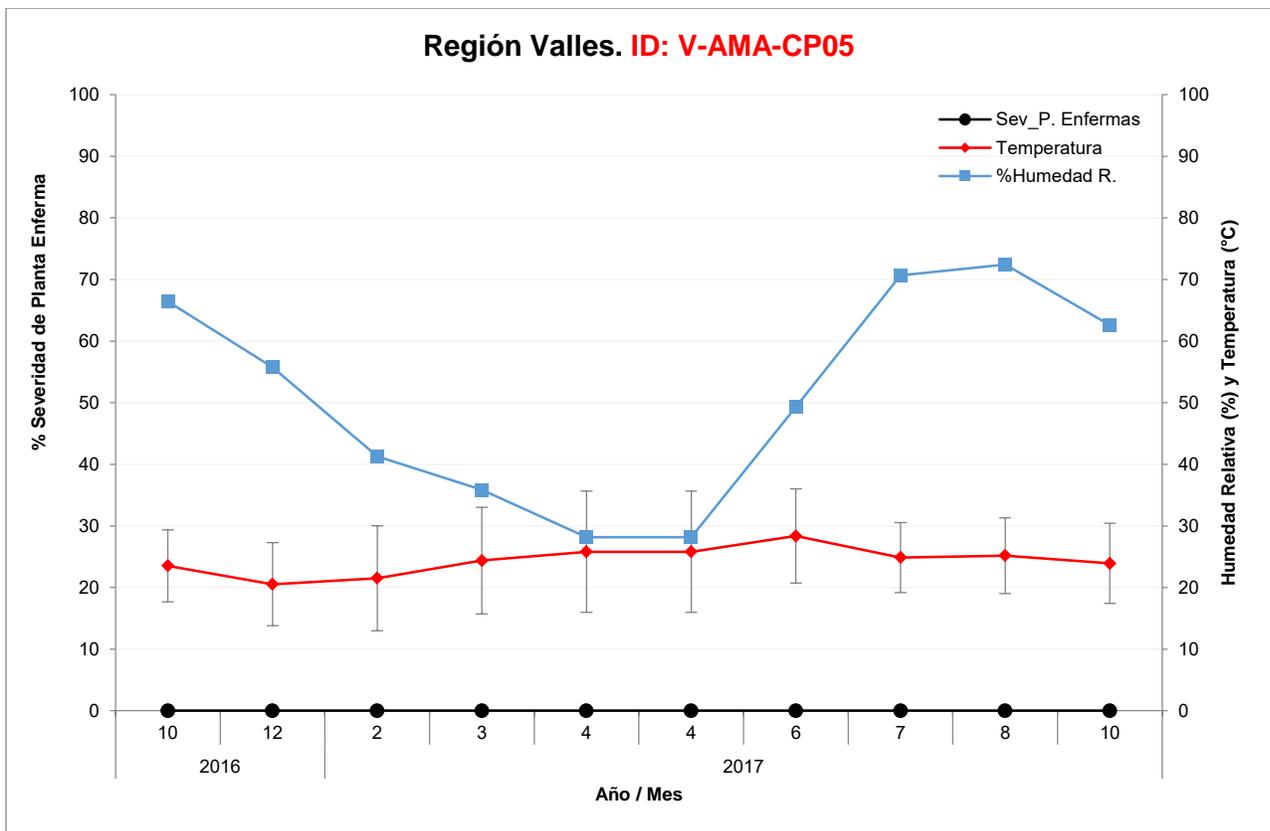
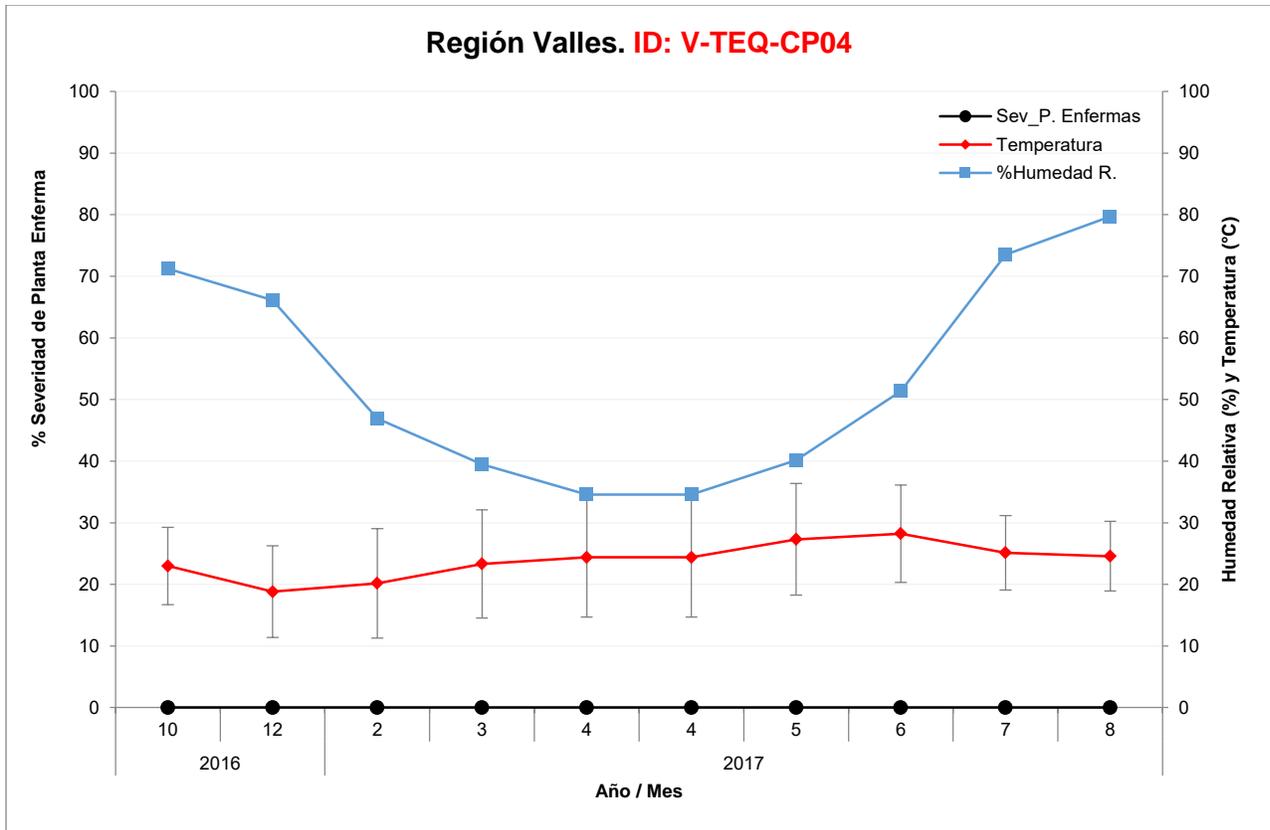
Región Altos. ID: A-ARA-CP20

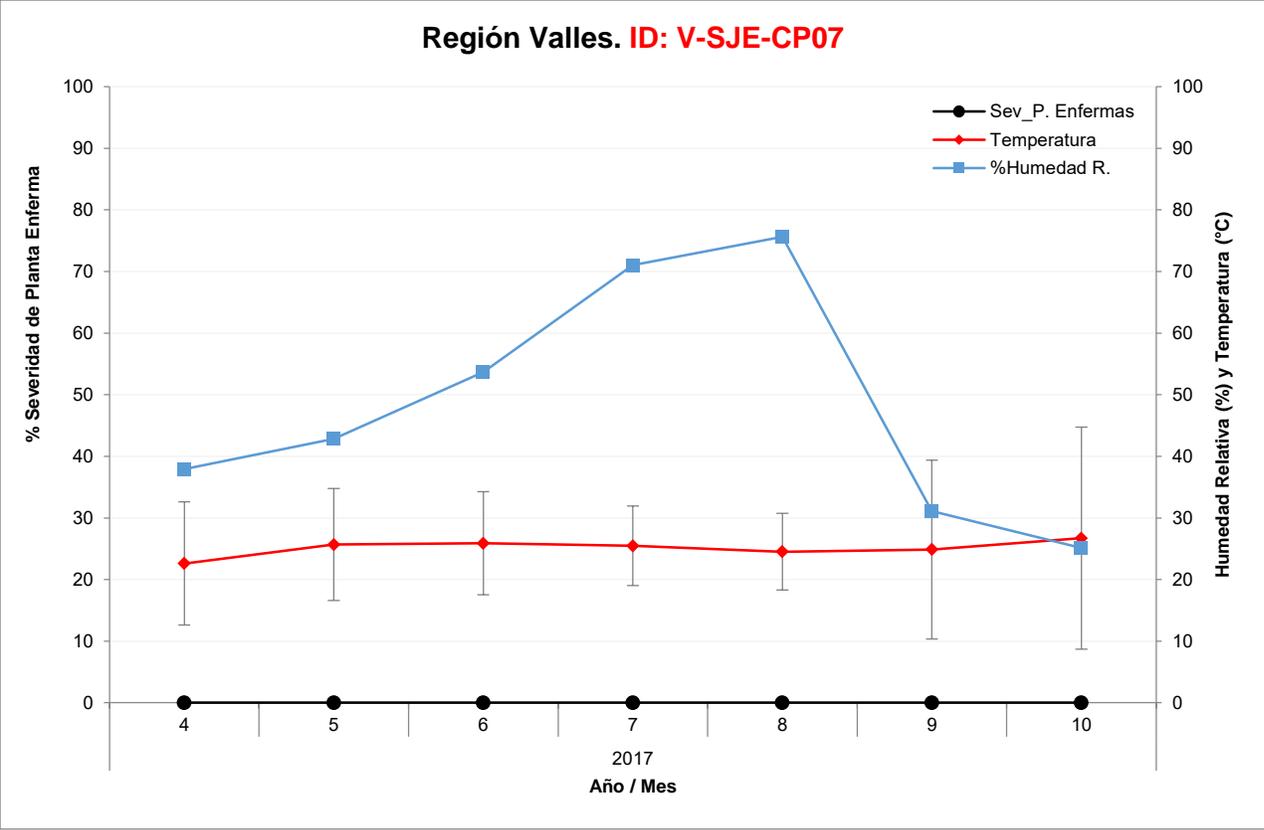
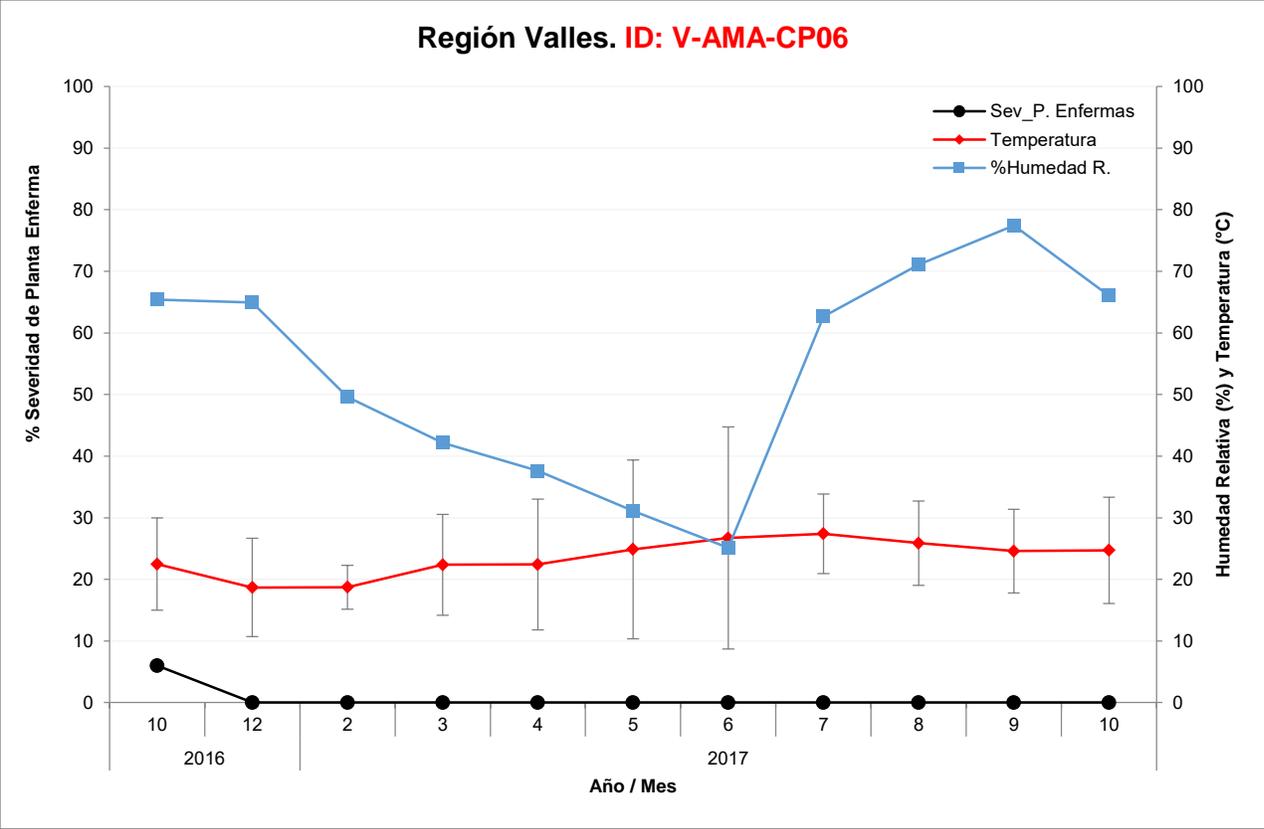


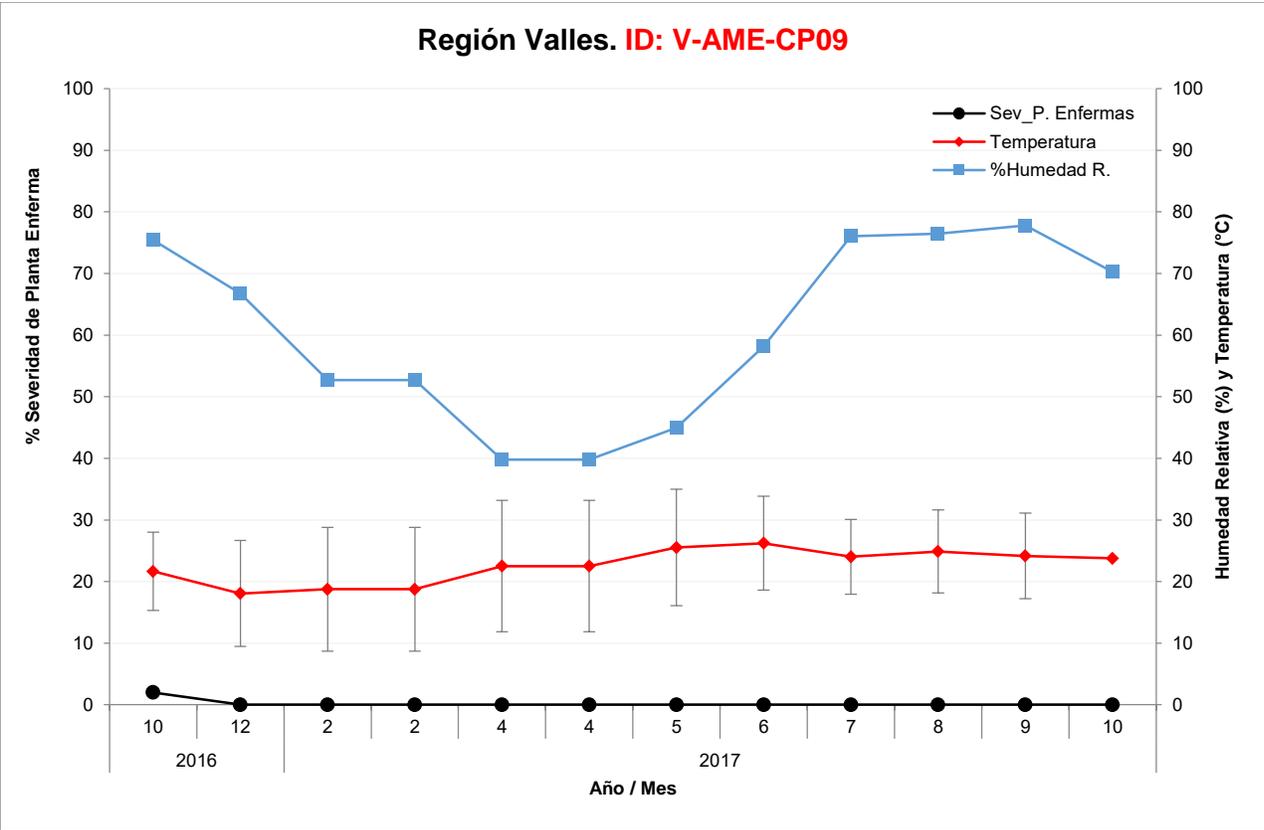
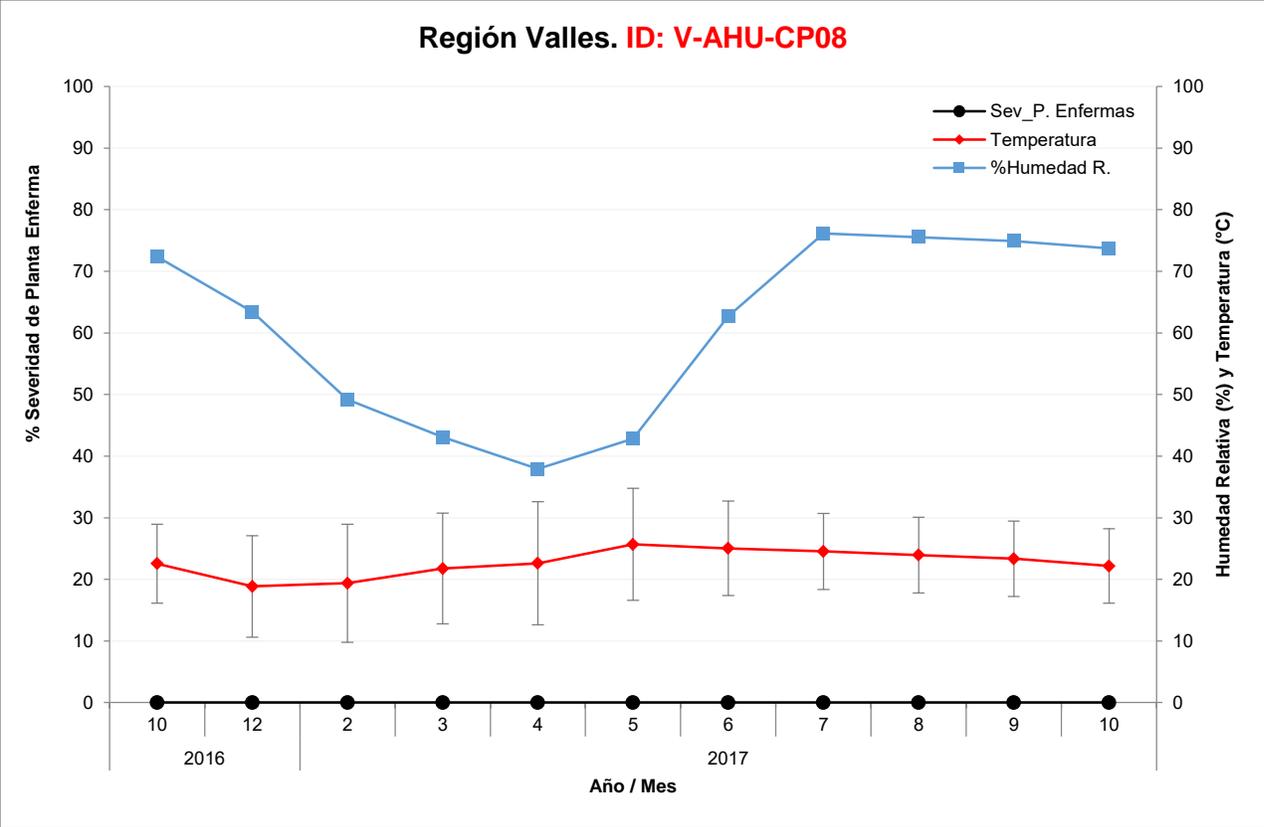
6.3 REGION VALLES

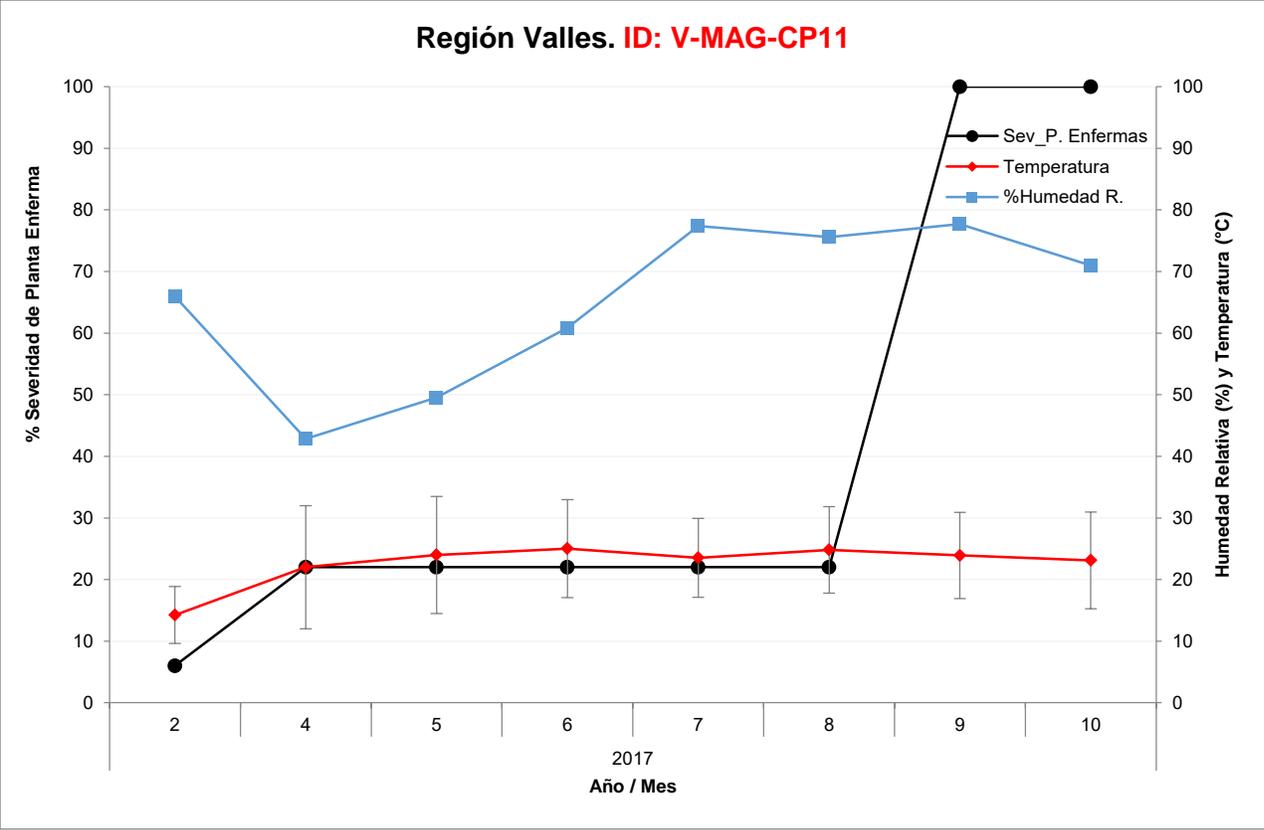
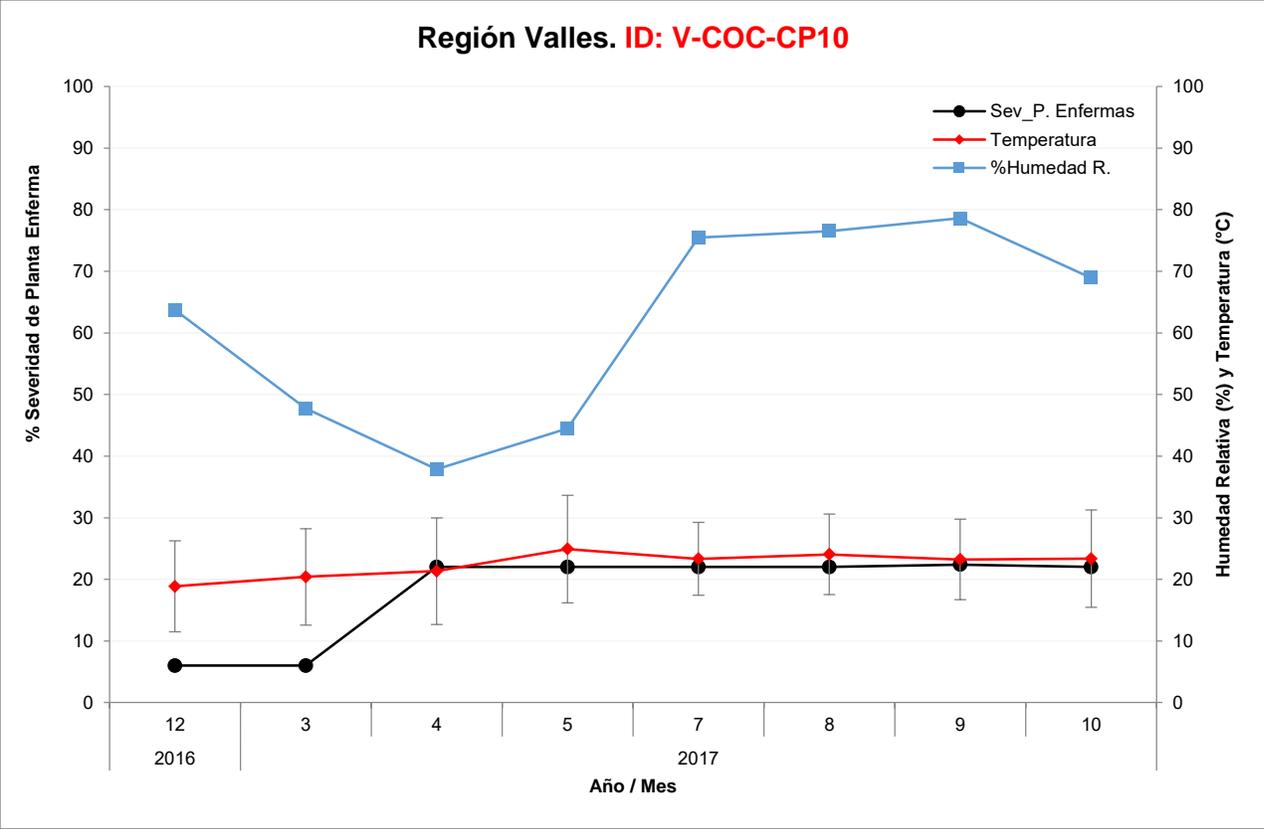




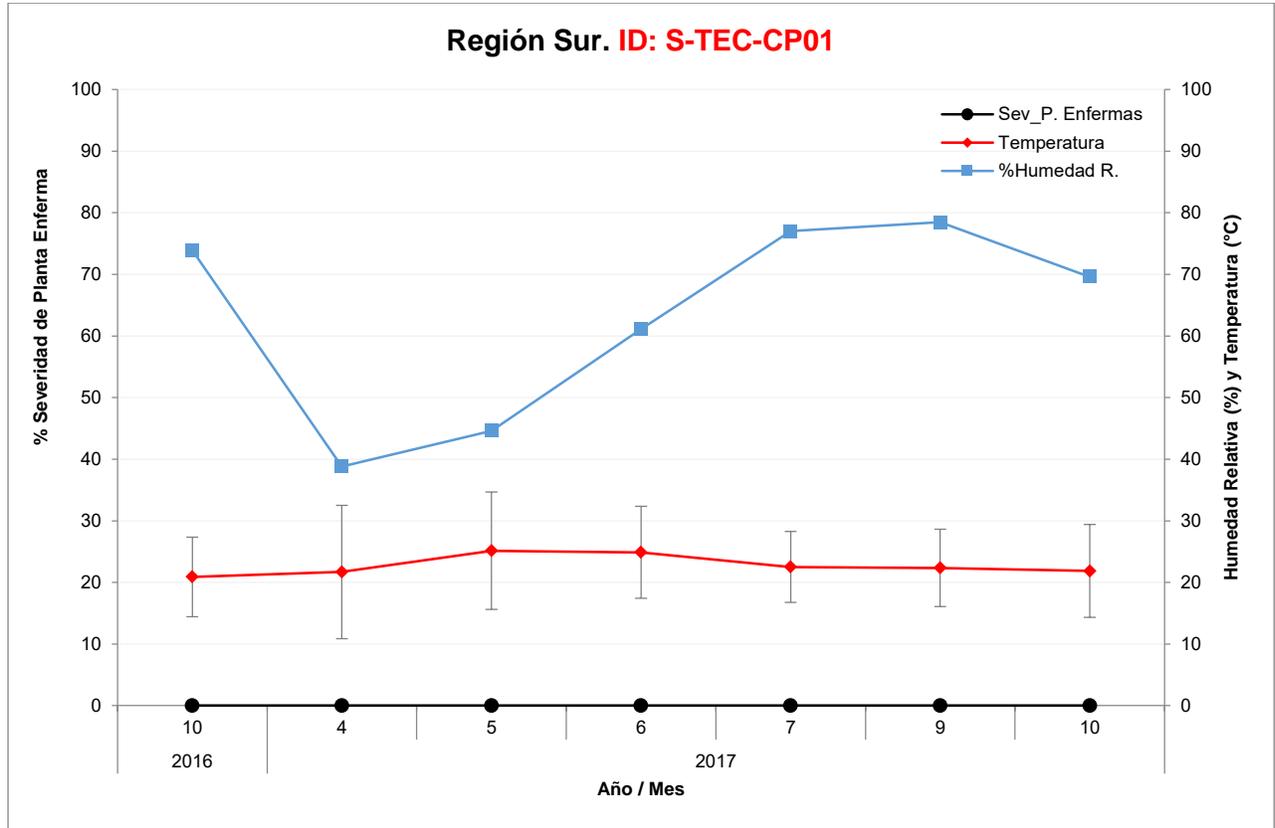


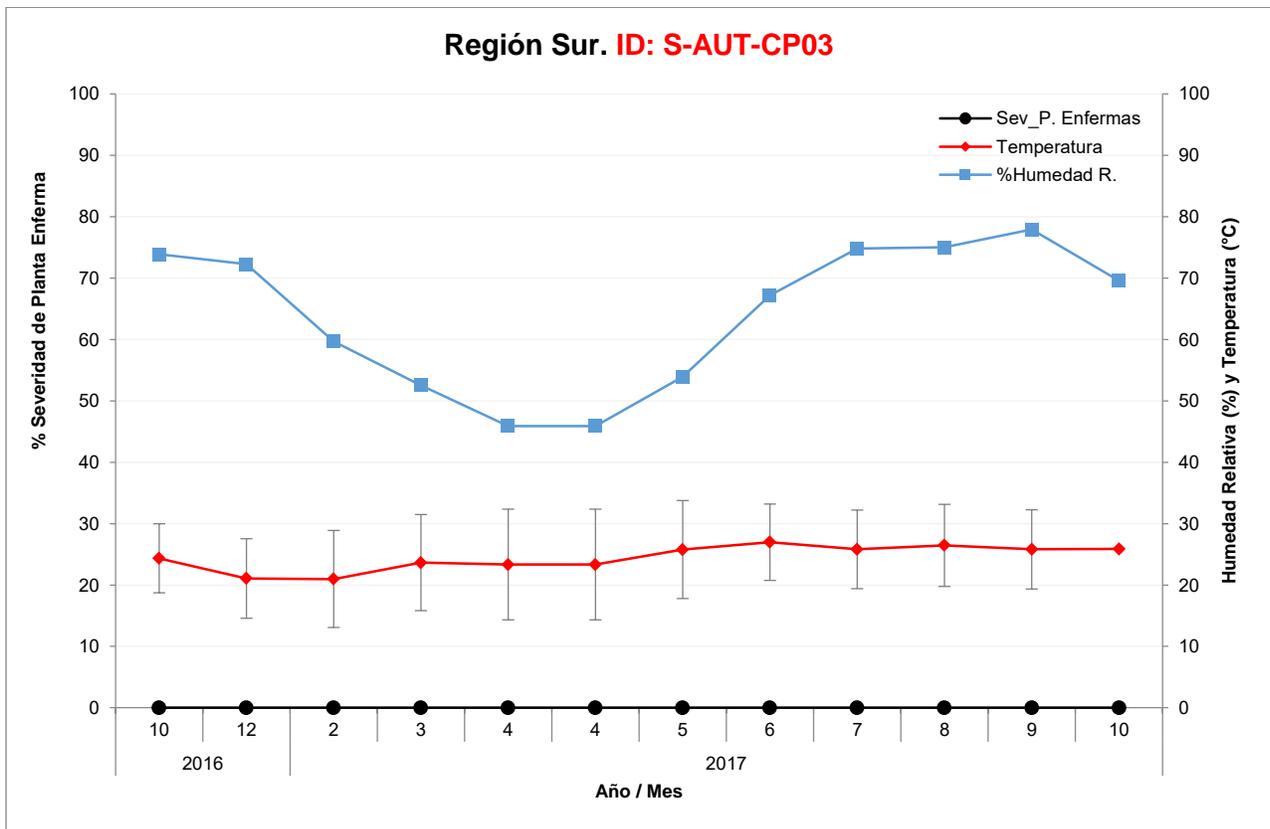
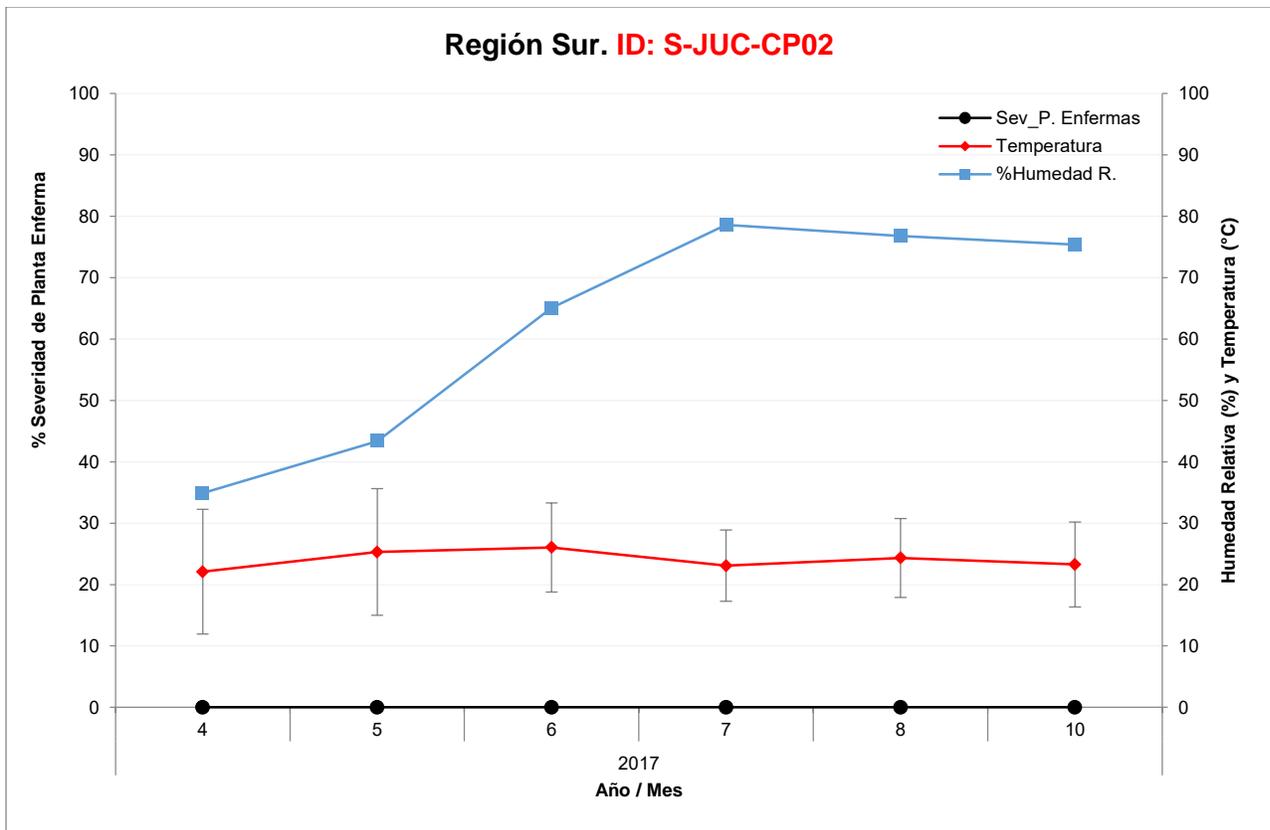


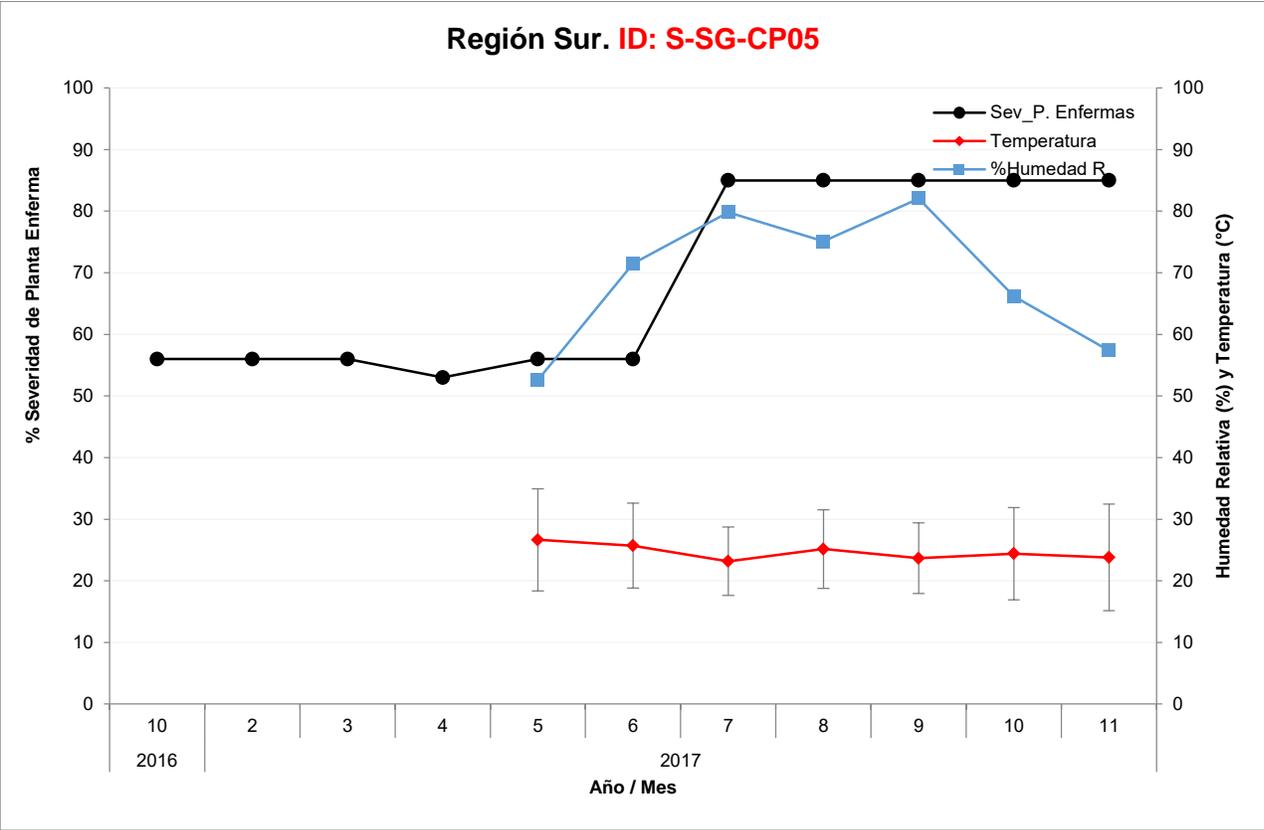
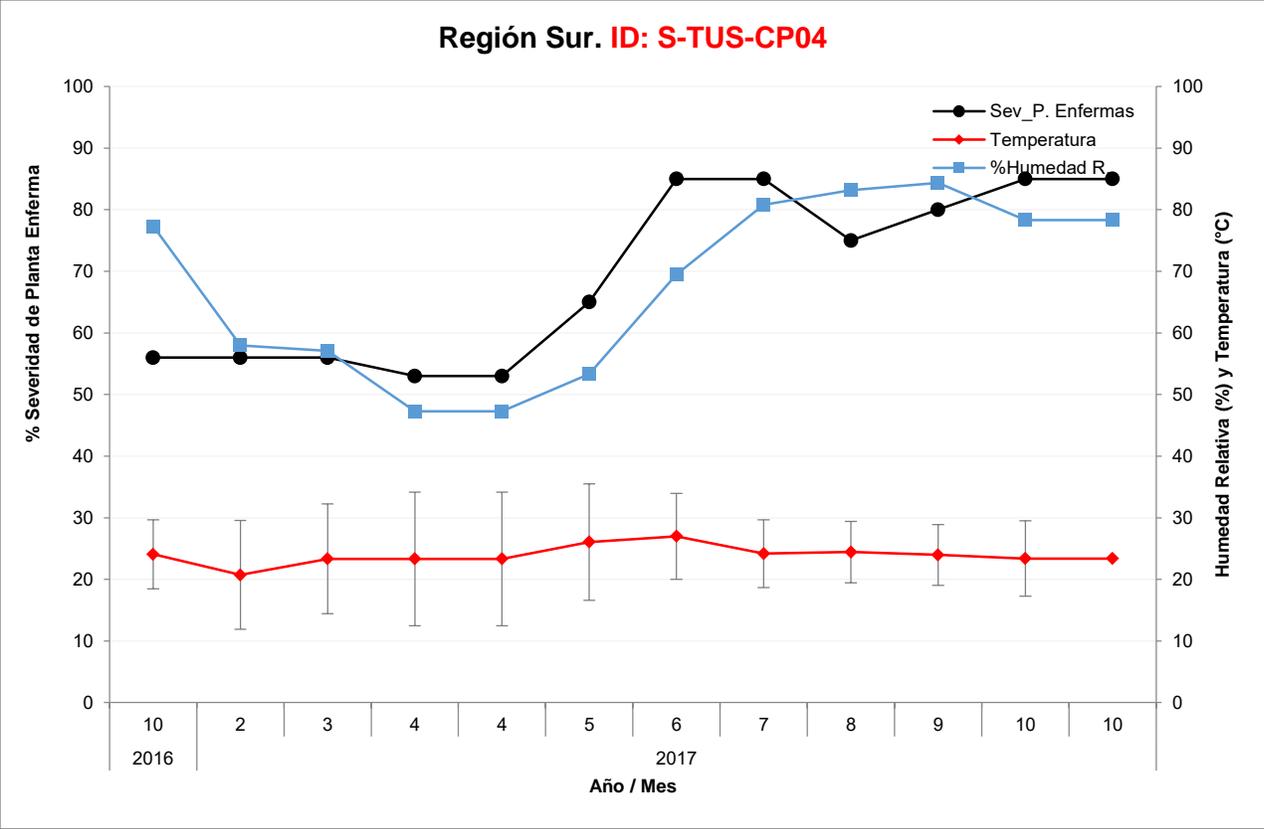


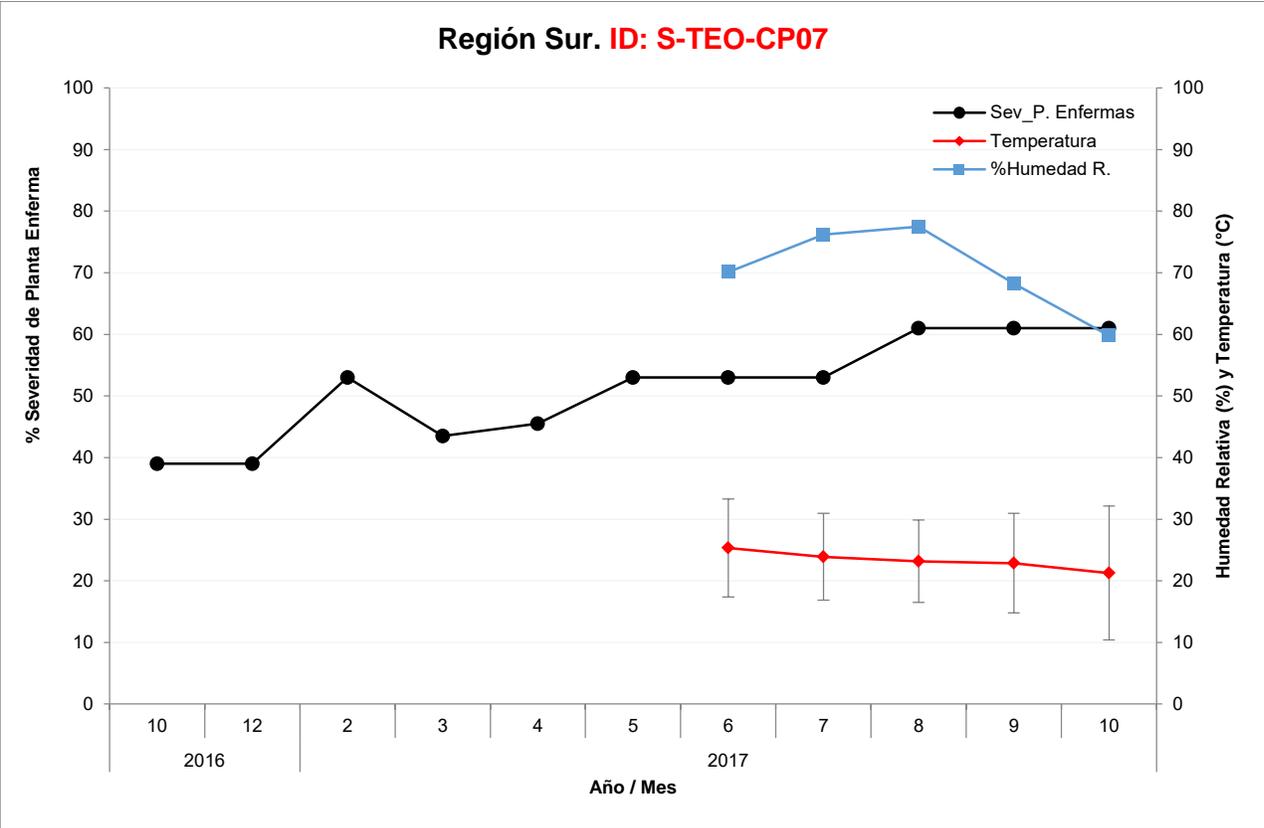
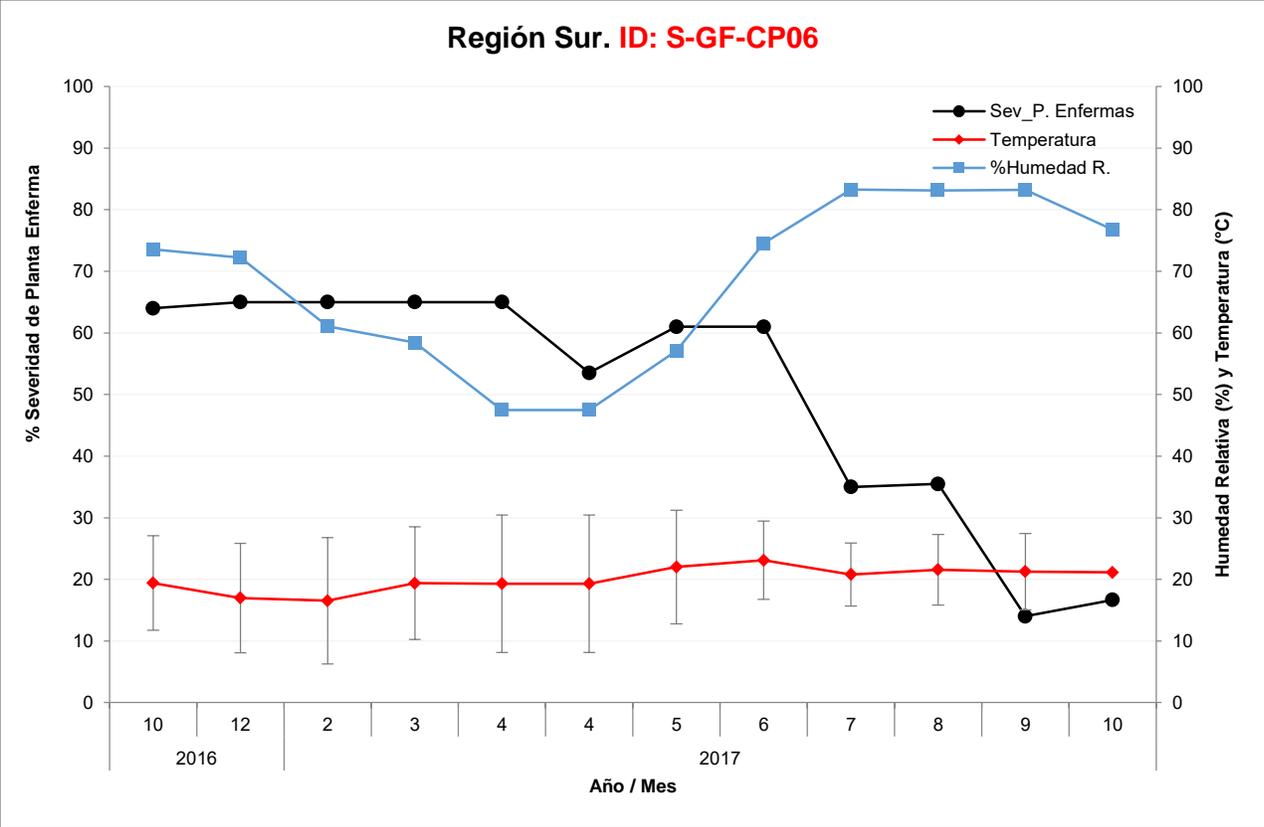


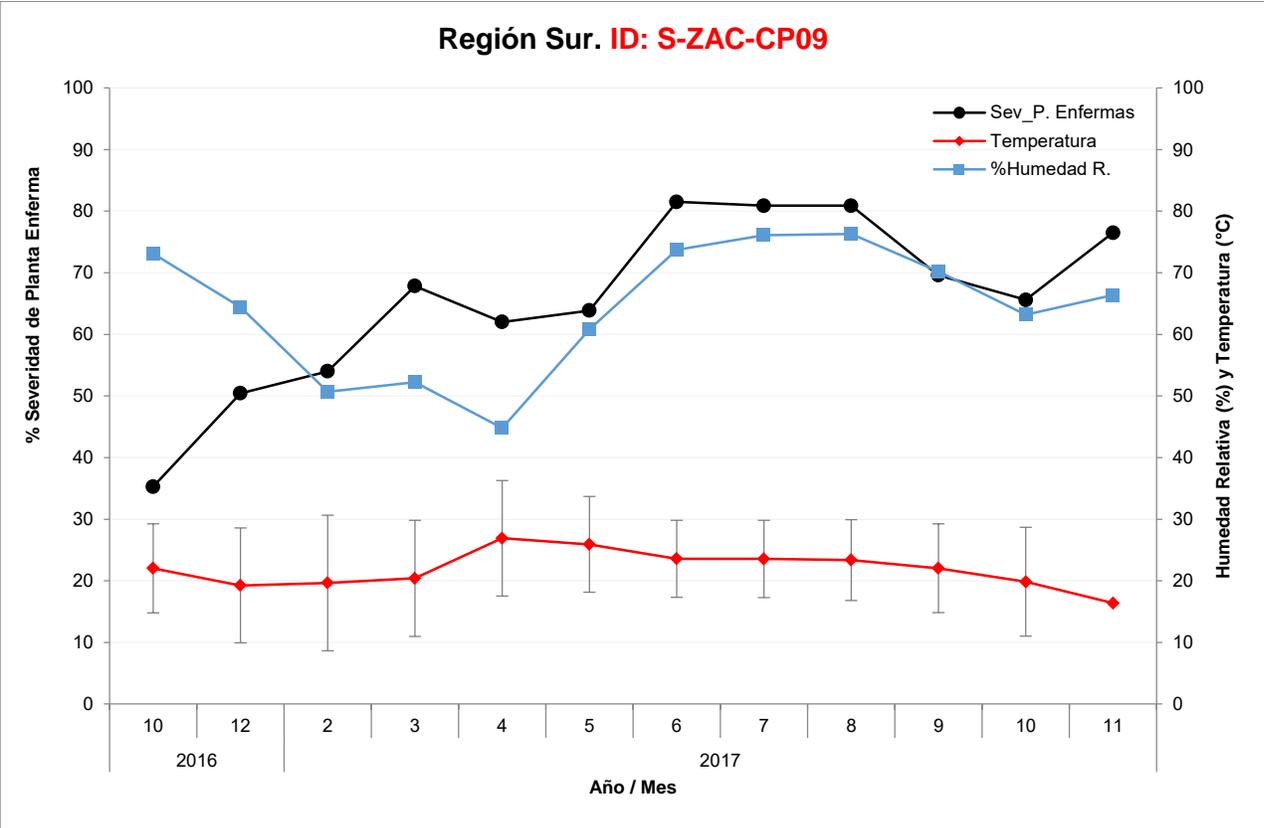
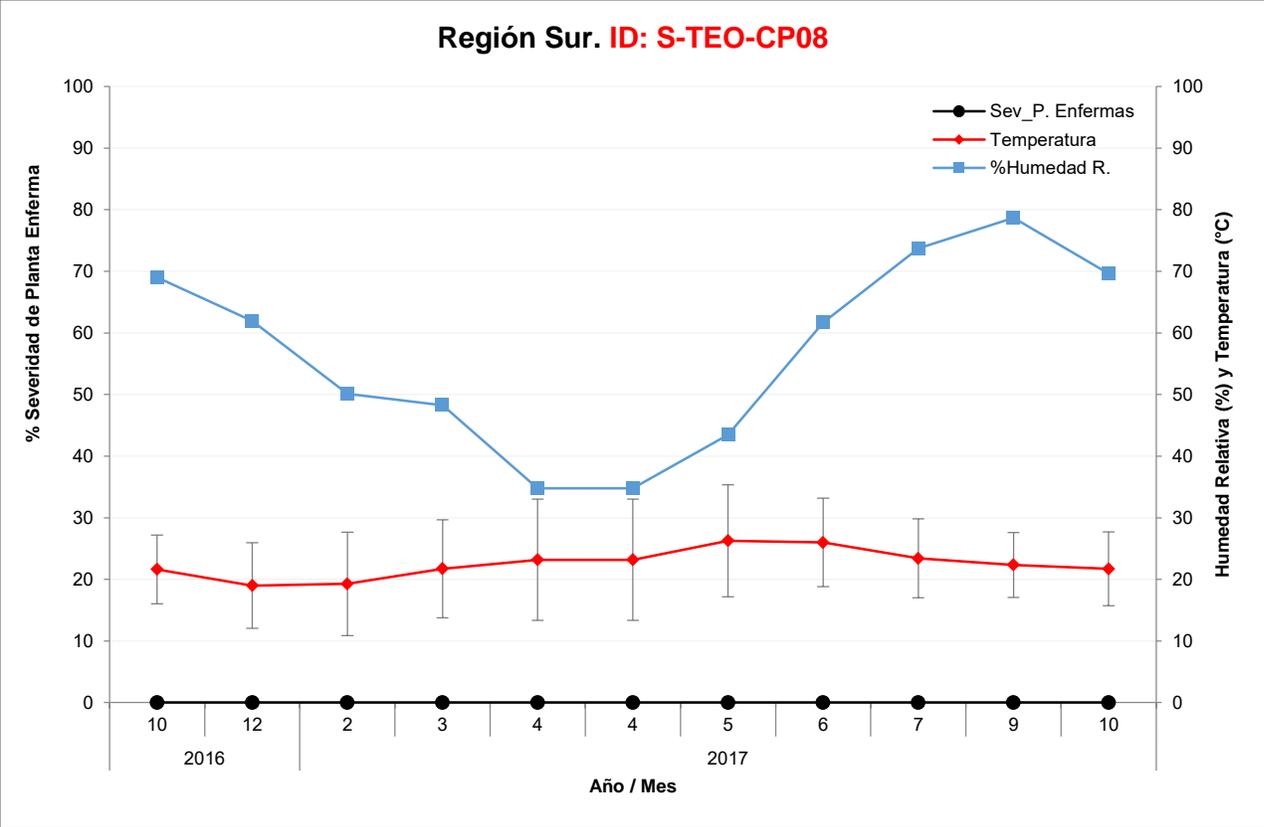
6.4 REGIÓN SUR



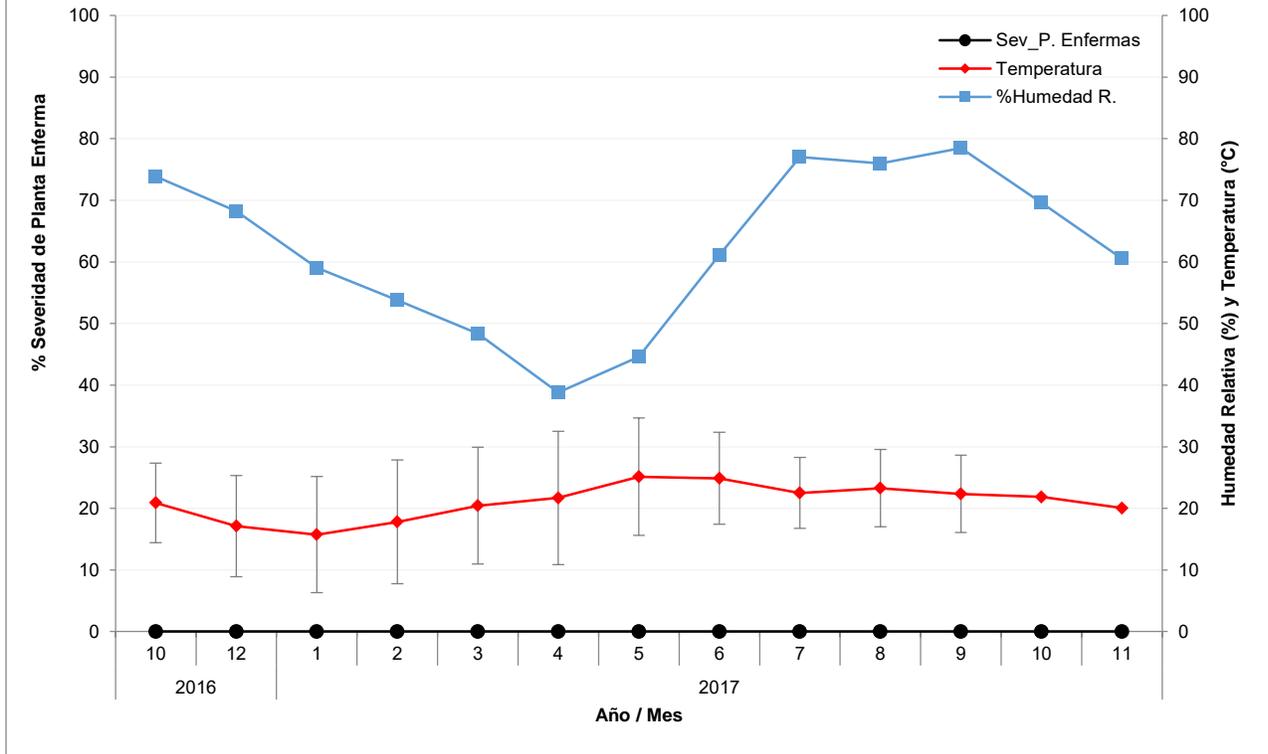








Región Sur. ID: S-ACA-CP10



ANEXO 6. INPUTS PARA EL DESARROLLO DE MODELOS EN SAS

6.1 INPUT para el desarrollo de modelos temporales Weibull

Proc print;

Run;

*/*Modelo de Weibull Procedimiento NLIN*/*

/ FIT OF THE WEIBULL MODEL */*

*/*PROC SORT DATA=WeibCA; BY clave;*

PROC NLIN DATA=WeibCA best=5 g4singular method=dud; BY clave;

PARAMETERS C= 1 to 10 BY 0.5 B=0 to 330 BY 1; */*C= Parametro de forma de la curva; el valor de B= representa el valor maximo del tiempo en dias */*

*/*MODEL IndSPla=(1.-EXP(-((Dias /b)**C)))*0.20;*

output out=residual p=PyW r=RyW parms=c b

sse=SS_error;

TITLE1 'Modelo Weibull para ajustar modelos regionales de proporcion de severidad en planta by Ymax';

TITLE2 'Epidemias Regionales de Cercospora Agavicola';

*/*R SQUARE*/*

PROC GLM data=residual; by clave;

Model PyW=IndPenf;

TITLE1 'Estimacion de r-square';

RUN;

/* Modelo para ABC de severidad planta*/

PROC SORT; BY clave;

DATA ABCPE1; SET WeibCA; BY clave;

ABCspla=((IndSPla+LAG(IndSPla))/2)*(Dias-LAG(Dias));

IF Dias=0 THEN ABCspla=.;

```

PROC PRINT;

PROC SUMMARY DATA=ABCPE1 NWAY;

CLASS Clave;

VAR ABCspla;

OUTPUT      OUT=TOTAREA1      SUM(ABCspla)=ABCspla      mean(IndSPla)=IndSPla
mean(IndPenf)=IndPenf ;

PROC PRINT;

RUN;

```

/* Modelo para ABCPE de Número de Plantas enfermas*/

```

PROC SORT; BY clave;

DATA ABCPE2; SET WeibCA; BY clave;

ABCpenf=((IndPenf+LAG(IndPenf))/2)*(Dias-LAG(Dias));

IF Dias=0 THEN ABCpenf=.;

PROC PRINT;

PROC SUMMARY DATA=ABCPE2 NWAY;

CLASS Clave;

VAR ABCpenf;

OUTPUT      OUT=TOTAREA2      SUM(ABCpenf)=ABCpenf      mean(IndSPla)=IndSPla
mean(IndPenf)=IndPenf ;

PROC PRINT;

RUN;

```

6.2 Input para el desarrollo de modelos de pronóstico

```

/* Modelo para estimar plantas enfermas por Ventana de Inductividad epidémica en función a
LAG12 de HFav y Hprom*/

ODS GRAPHICS ON;

PROC SORT DATA=LAGCA; BY REG V_Ind;

PROC REG; BY REG V_Ind;

```

```
MODEL penf = lag12 Hprom12 / NOINT VIF METHOD=STEPWISE SLENTY=0.15;  
RUN;  
ODS GRAPHICS OFF;  
ODS GRAPHICS ON;  
PROC SORT DATA=LAGCA; BY REG V_Ind;  
PROC REG; BY REG V_Ind;  
MODEL penf = lag2 Hprom2/ NOINT VIF METHOD=STEPWISE SLENTY=0.15;  
RUN;  
ODS GRAPHICS OFF;
```