



Agrociencia

ISSN: 1405-3195

agrocien@colpos.mx

Colegio de Postgraduados

México

Quezada Salinas, Andrés; Sandoval Islas, J. Sergio; Alvarado Rosales, Dionicio; Cárdenas Soriano, Elizabeth

Etiología de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) en Tlalnepantla, Morelos, México

Agrociencia, vol. 40, núm. 5, septiembre-octubre, 2006, pp. 641-653

Colegio de Postgraduados

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30240509>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ETIOLOGÍA DE LA MANCHA NEGRA DEL NOPAL (*Opuntia ficus-indica* Mill) EN TLALNEPANTLA, MORELOS, MÉXICO

ETIOLOGY OF BLACK SPOT ON PRICKLY PEAR (*Opuntia ficus-indica* Mill) IN TLALNEPANTLA, MORELOS, MÉXICO

Andrés Quezada-Salinas, J. Sergio Sandoval-Islas, Dionicio Alvarado-Rosales y Elizabeth Cárdenas-Soriano

Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (andresqs@colpos.mx) (sandoval@colpos.mx) (dionicio@colpos.mx) (esoriano@colpos.mx)

RESUMEN

Para determinar la etiología de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill), en este estudio se aislaron, de cladodios con síntomas de la enfermedad, de nopal variedad Milpa Alta, recolectados en Tlalnepantla, Morelos los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* y *Pseudocercospora* sp. Para cumplir con los Postulados de Koch, cladodios de 6 y 12 meses de edad se inocularon con estos hongos. Los primeros síntomas aparecieron 104 d después de la inoculación (ddi) en cladodios de 6 meses. Los métodos de inoculación eficaces en la reproducción de los síntomas fueron aspersión e inyección de conidios de *Pseudocercospora* sp., a concentraciones de 8×10^3 y 16×10^3 conidios mL⁻¹; y *Pseudocercospora* sp., en combinación con *C. gloeosporioides*, a $8 \times 10^3 + 5 \times 10^4$ conidios mL⁻¹, respectivamente. En cladodios inoculados sólo con *C. gloeosporioides*, a 1×10^5 y 5×10^4 conidios mL⁻¹ asperjados e inyectados, no se reprodujo la enfermedad. El tipo de síntoma desarrollado dependió del método de inoculación. Conidios de *Pseudocercospora* sp., inoculados por inyección produjeron manchas negras circulares, mientras que en la inoculación por aspersión las manchas negras fueron en forma de mapa; ambas consistentes con la forma de las lesiones de la enfermedad Mancha Negra observadas en Tlalnepantla, Morelos. Se concluye que *Pseudocercospora* sp., es el agente causal de esta enfermedad y que *C. gloeosporioides* es saprófito.

Palabras clave: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pseudocercospora* sp.

INTRODUCCIÓN

México es el principal productor de nopal verde (*Opuntia ficus-indica* Mill), con una superficie sembrada de 9668.1 ha. Las principales entidades productoras son: Distrito Federal con 4159 ha, Morelos con 1745, Estado de México con 785 y Baja California Norte con 491 (SIAP-SAGARPA, 2003).

ABSTRACT

To determine the etiology of black spot on prickly pear, the fungi *Colletotrichum gloeosporioides* and *Pseudocercospora* sp were isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill., variety Milpa Alta, cladodes with symptoms, collected in Tlalnepantla, Morelos. To comply with Koch's postulates, 6- and 12-month old cladodes were inoculated with these fungi. The first symptoms appeared 104 d after inoculation (dai) in 6-month-old cladodes. The effective methods of inoculation for reproduction of the symptoms were spraying and injection with *Pseudocercospora* sp., conidia at concentrations of 8×10^3 and 16×10^3 conidia mL⁻¹; and *Pseudocercospora* sp., combined with *C. gloeosporioides* at $8 \times 10^3 + 5 \times 10^4$ conidia mL⁻¹, respectively. In cladodes inoculated only with *C. gloeosporioides*, at 1×10^5 and 5×10^4 conidia mL⁻¹ sprayed and injected, the disease was not reproduced. The type of symptom that developed depended on the method of inoculation. Conidia of *Pseudocercospora* sp., inoculated by injection produced circular black spots, while inoculation by spraying caused map-shaped black spots. Both were consistent with the shape of Black Spot lesions observed in Tlalnepantla, Morelos. It is concluded that *Pseudocercospora* sp. is the causal agent of this disease and that *C. gloeosporioides* is a saprophyte.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pseudocercospora* sp.

INTRODUCTION

México is the main producer of fresh cladodes of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.) with a cultivated area of 9668.1 ha. The major producer entities are the Federal District with 4159 ha, Morelos with 1745, the State of México with 785 and Baja California North with 491 (SIAP-SAGARPA, 2003).

The municipality of Tlalnepantla, in the State of Morelos, has the largest cultivated area with approximately 1500 ha of the Milpa Alta variety. In this site 90% of the population cultivates the cactus as its primary crop, generating a high level of income, mainly in fall and winter, when it is scarce in other grower States (Rubio, 1997). Productivity is reduced

Recibido: Junio, 2005. Aprobado: Junio, 2006.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 40: 641-653. 2006.

El municipio de Tlalnepantla, en el Estado de Morelos, tiene la mayor superficie sembrada con aproximadamente 1500 ha de la variedad Milpa Alta. En esta localidad 90% de la población tiene al nopal como cultivo primario porque genera un alto nivel de ingresos, principalmente en otoño e invierno, cuando escasea en otras entidades productoras (Rubio, 1997). La productividad se reduce por varios factores, entre los que están los de índole fitosanitaria. En este municipio y otros adyacentes la mancha negra, detectada en 1990, es la principal causa de la baja productividad y aun de la pérdida total en muchas huertas, sobre todo de las ubicadas en las partes más altas y con mal manejo. Respecto a la etiología de la enfermedad, se menciona como agente causal a *Colletotrichum gloeosporioides* (Osada y Cárcamo, 1991) y a *Fusarium solani* (Morales y Hernández, 2002)².

El nopal es una hortaliza que se consume principalmente en fresco y es necesario obtener productos sanos e inocuos, por lo cual es primordial una determinación etiológica para un buen manejo del cultivo. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar el agente causal de la mancha negra del nopal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación de fitopatógenos

En Tlalnepantla, Estado de Morelos, México, durante 2003 y 2004 se recolectaron cladodios con diferentes grados de avance de la enfermedad. De tejido sintomático se cortaron trozos de 0.5 cm² de parénquima medular y del conjunto cutícula-epidermis-colénquima. Los trozos se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaOCl) a 1.5% durante 1 min, se lavaron tres veces con agua destilada esterilizada, se secaron sobre toallas de papel y se sembraron en el medio de cultivo agua-agar (AA). Las colonias de hongos formadas se transfirieron a medio papa-dextrosa-agar (PDA) y se incubaron bajo luz blanca fluorescente continua a 24 ± 2 °C. Las colonias de bacterias fueron transferidas a B de King e incubadas a 28 °C.

Los hongos se purificaron mediante cultivos monoconidiales (Burgess *et al.*, 1994) y se identificaron siguiendo las claves taxonómicas para género de Barnett y Hunter (1998) y para especie (Mordue, 1971; Sutton, 1980; Sutton, 1992; Bailey y Jeger, 1992).

Los aislamientos bacterianos se transfirieron a cajas con B de King para su purificación, y se analizaron para hipersensibilidad en tabaco (Sosa-Moss *et al.*, 1994), pudrición de papa (Schaad, 2001) y fluorescencia (Goto, 1994).

Pruebas de patogenicidad (Postulados de Koch)

Una vez aislado y descrito las características del posible patógeno causante de la mancha negra, se inocularon cladodios de la misma variedad, de la siguiente manera.

by several factors, among which are phytosanitary factors. In this and neighboring municipalities black spot, detected in 1990, is the main cause of low productivity and even of total loss in many plantations, especially those located in the higher areas with poor management practices. Regarding etiology of the disease, as the causal agent have been mentioned *Colletotrichum gloeosporioides* (Osada and Cárcamo, 1991) and *Colletotrichum gloeosporioides* (Morales and Hernández, 2002)².

Prickly pear is a vegetable that is consumed mainly fresh, and therefore, it is necessary to obtain healthy and safe produce, and so it is essential to determine the etiology of the disease for good crop management. Therefore, the objective of this study was to determine the causal agent of black spot on prickly pear.

MATERIALS AND METHODS

Isolation and identification of phytopathogens

Cladodes with different degrees of development of the disease were collected in Tlalnepantla, State of Morelos, México, during 2003 and 2004. Fractions 0.5 cm² were cut from symptomatic medullar parenchyma tissue and from the cuticle-epidermis-collenchyma complex. The fractions were disinfected with 1.5% sodium hypochlorite (NaOCl) for 1 min, washed three times with sterilized distilled water, dried with paper towels, and planted in a water-agar (WA) culture medium. The fungus colonies that formed were transferred to a potato-dextrose-agar (PDA) medium and incubated under continuous fluorescent white light at 24 ± 2 °C. The bacterial colonies were transferred to B King and incubated at 28 °C.

The fungi were purified using monoconidial cultures (Burgess *et al.*, 1994) and identified following the taxonomic keys of Barnett and Hunter (1998) for genus and for species (Morgue, 1971; Sutton, 1980; Sutton, 1992; Bailey and Jeger, 1992).

The bacterial isolates were transferred to dishes with B King for their purification, and were tested for hypersensitivity in tobacco (Sosa-Moss *et al.*, 1994), potato rot (Schaad, 2001) and fluorescence (Goto, 1994).

Pathogenicity tests (Koch's postulates)

Once the possible causal pathogen of black spot was isolated and its characteristics described, cladodes of the same variety were inoculated in the following manner:

Plant material

Healthy cladodes, var. Milpa Alta, were planted in pots with sterile soil and kept in greenhouses at the Colegio de Postgraduados, México, for one year.

² Morales, L. J., y L. Y. Hernández. 2002. Efecto de biofungicidas en el control de la mancha foliar del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* Mill.) en Tlalnepantla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 49 p.

Material vegetal

Se plantaron cladodios sanos de la variedad Milpa Alta en macetas con suelo estéril y se conservaron durante un año en los invernaderos del Colegio de Postgraduados, México.

Métodos de inoculación y concentraciones de inóculo

Debido a que los aislamientos de hongos producen conidios, la inoculación se realizó por aspersión e inyección de conidios, depósito de rodajas de micelio en cladodios con y sin herida. Para la aspersión, con la cámara de Neubauer y mediante diluciones se prepararon concentraciones de 1×10^5 y 5×10^4 conidios mL^{-1} para los aislamientos que presentaron conidios unicelulares; 8×10^3 y 16×10^3 conidios mL^{-1} para los de conidios multicelulares. La aplicación se realizó con aspersores manuales. El testigo se asperjó sólo con agua destilada estéril. El método de inyección consistió en inyectar al parénquima 1 mL de las suspensiones de conidios preparadas y en el testigo sólo agua destilada estéril. Para el método de micelio sobrepuesto se usaron colonias de los hongos de 7 d de edad, se cortaron discos de 0.5 cm de diámetro, y se depositaron sobre cladodios con y sin herida. El testigo consistió en depositar sólo rodajas de medio de cultivo PDA. Las rodajas se cubrieron con un algodón esterilizado humedecido con agua destilada esterilizada y se sujetaron con una tira de plástico. Los métodos de inoculación se evaluaron inoculando los hongos por separado y mezclados. En las mezclas, las concentraciones de inóculo en los métodos de aspersión e inyección fueron $8 \times 10^3 + 5 \times 10^4$ conidios mL^{-1} de conidios unicelulares y multicelulares; para el depósito de rodajas, las de ambos hongos se depositaron en el mismo sitio.

Condiciones de incubación

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en dos ambientes: a) en una cámara de ambiente controlado (WARREN SHERER mod. CEL 38-15), a 21 °C y fotoperíodo de 12 h luz proporcionado con 16 lámparas de luz blanca fluorescente de 160 watts (PHILIPS F72T12/D/VHO); los cladodios se inocularon el 25 de junio del 2004, las plantas tratadas se mantuvieron en estas condiciones por 110 d y en los primeros 20 d se conservó la humedad relativa a 100% con un humidificador marca Sunshine de 4 L; b) a la intemperie, las plantas se inocularon el 10 de octubre del 2004, y los primeros 10 d se cubrieron con bolsas de plástico para aumentar la humedad relativa.

Reaislamiento e identificación del patógeno

De cladodios con síntomas similares a los observados en campo, se cortaron trozos de parénquima de 0.5 cm, se lavaron tres veces con agua destilada esterilizada, se secaron y se sembraron en cajas Petri con medio AA, y se incubaron bajo luz blanca fluorescente continua a 24 ± 2 °C.

Methods of inoculation and concentrations of the inoculate

Because the fungi isolated produced conidia, inoculation was performed by spraying and injection of conidia, deposit of mycelium discs on cladodes with and without lesions. For spraying, concentrations of 1×10^5 and 5×10^4 conidia mL^{-1} were prepared with the Neubauer camera and dilutions for the isolates that had one-celled conidia; 8×10^3 and 16×10^3 conidia mL^{-1} for multi-cellular conidia. Application was done with manual sprayers. The control was sprayed with sterile distilled water. The method of injection consisted in injecting 1 mL of the prepared conidia suspensions into the parenchyma and in the control only sterile distilled water. For the method of superimposed mycelium, 7-day-old colonies of fungi were used; these were cut into 0.5 cm discs and deposited on cladodes with and without wounds. The control consisted in depositing only PDA culture medium discs on the cladode. The discs were covered with a sterilized cotton ball moistened with sterilized distilled water and secured with a plastic strip. The methods of inoculation with separate and mixed fungi. In the mixtures, the concentrations of inoculum in the methods of spraying and injection were $8 \times 10^3 + 5 \times 10^4$ conidia mL^{-1} one-cell and multicell conidia; for deposit in discs, both fungi were deposited in the same site.

Conditions of incubation

Pathogenicity tests were conducted in two environments. The first was in a controlled environment chamber (WARREN SCHERER model CEL 38-15), at 21 °C and a photoperiod of 12 light provided by 16 fluorescent white light 160 watt lamps (PHILIPS F72T12/D/VHO); the cladodes were inoculated on 25 June 2004; treated plants were kept under these conditions for 110 d. During the first 20 d, relative humidity was kept at 100% with a 4 L Sunshine™ humidifier. The second was outdoors: plants were inoculated 10 October 2004 and during the first 10 d they were covered with plastic bags to increase relative humidity.

Reisolation and identification of the pathogen

Factions 0.5 cm were cut from cladodes with symptoms similar to those observed in the field, washed three times with sterilized distilled water, dried, and planted in Petri dishes with AA medium. These were incubated under continuous fluorescent white light at 25 ± 2 °C.

RESULTS AND DISCUSSION

Description of symptoms in the field

Two types of symptoms were characterized.

- Circular black spot, which predominates in cultivated plants on flat lands and terraces with low relative humidity. The symptoms began with discoloring of the cuticle (day 1, commencement of the disease), turning a transparent white with small olive-colored

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de síntomas en campo

Se caracterizaron dos tipos de síntomas.

- Mancha negra circular que predomina en plantas cultivadas en terrenos planos y en terrazas, con baja humedad relativa. Los síntomas se iniciaron con la decoloración de la cutícula (día 1, inicio de la enfermedad) cambiando a un blanco transparente con puntos pequeños de color olivo; después de 8 d se tornaron café-oscuros y aumentaron su tamaño. Las manchas atravesaron el cladodio, y cuando las lesiones alcanzaron un diámetro de 3 a 4 cm (15 d después de iniciar la infección) presentó un margen amarillo y la parte afectada se hundió. A los 20 d se inició la formación de acérvulos de tipo *Colletotrichum* sobre la cutícula. En los siguientes 5 a 20 d la parte afectada se desecó, permaneciendo el tejido leñoso que a veces se desprende dejando agujeros en los cladodios (Figura 1). El tiempo desde la aparición de los primeros síntomas hasta que las lesiones se secan varió de 25 a 40 d, dependiendo del grosor y la edad del cladodio.
- Mancha negra en forma de mapa caracterizada por la invasión parcial o total del cladodio sin una forma definida. Las pencas enfermas predominaron en parcelas localizadas en lomerío, con temperaturas frescas y humedad relativa alta. No se registró el desarrollo de los síntomas en el tiempo, por ser un tipo de lesión poco predominante en comparación con la de mancha circular. Sólo se observaron pseudoestromas de tipo *Pseudocercospora* sp. sobre la cutícula (Figura 2).

specks. After 8 d they turned dark brown and became larger. The spots perforated the cladode and when the lesions reached a diameter of 3 to 4 cm (15 d after commencement of the infection) the edges turned yellow and the affected parts sank. At 20 d, formation of acervuli of the *Colletotrichum* type began on the cuticle. In the following 5 to 20 d, the affected part dried, leaving the woody tissue, which on occasion fell off leaving visible holes in the cladodes (Figure 1). The time from the appearance of the first symptoms until the lesions dried varied from 25 to 40 d, depending on the thickness and age of the cladode.

- Map-shaped black spot, which is characterized by the partial or total invasion of the cladode with no definite form. The diseased pads predominated in localized plots on hillsides, with cool temperatures and high relative humidity. Development of the symptoms was not recorded over time since it is a type of lesion that is not predominant, compared with circular spot. Pseudostomas only of the *Pseudocercospora* sp. type on the cuticle were observed (Figure 2).

Qualitatively, it was observed that both types of symptoms occurred with higher incidence in shaded cladodes in high relative humidity and low temperatures, conditions that predominate in land located in the highest part of the region (hilly land at 2100 m). Also, in these plots, pruning, collection of wastes and disease control are limited, and thus the number of infected cladodes increases even more. Rao *et al.* (1996) mention that the genus *Pseudocercospora* is common particularly in the tropics and subtropics. This does not coincide with

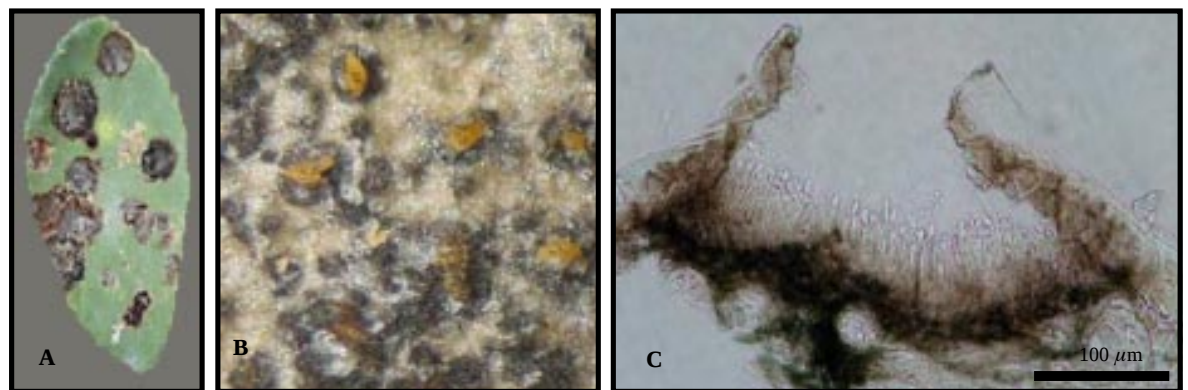


Figura 1. Síntomas y signos de la mancha negra circular del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* Mill.) variedad Milpa Alta, en Tlalnepantla, Morelos. (A) Manchas negras, 25 a 30 d de edad; (B) vista paradermal de acérvulos de tipo *Colletotrichum*, con masas de conidios de color amarillo; (C) acérvulo, corte transversal.

Figure 1. Symptoms and signs of circular black spot on vegetable prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.) Milpa Alta variety, in Tlalnepantla, Morelos. (A) Black spots, 25 to 30 days old; (B) para-dermal view of *Colletotrichum*-type acervuli, with yellow conidial masses; (C) acervulum, cross-section.

Cualitativamente se observó que ambos tipos de síntomas se presentaron con mayor incidencia en cladodios sombreados, con alta humedad relativa y temperaturas bajas, condiciones que predominan en los terrenos localizados en la parte más alta de la región (lomeríos a 2100 m). También en estas parcelas, las prácticas de poda y recolección de desechos y control de enfermedades son reducidas; así aumenta aún más el número de cladodios infectados. Rao *et al.* (1996) mencionan que el género *Pseudocercospora* es común particularmente en los trópicos y subtrópicos, lo cual no coincide con el presente estudio ya que la enfermedad se desarrolla mejor en alta humedad y con 17 °C.

Los síntomas de la mancha negra circular del nopal en Tlalnepantla, son similares a los reportados por Morales y Hernández (2002)² y Osada y Cárcamo (1991), quienes trabajaron en la misma zona de estudio.

Identificación de los aislamientos

Las bacterias desarrolladas en B de King formaron colonias de color blanco de consistencia cremosa. No se observó reacción de hipersensibilidad en hojas de tabaco después de 10 y 24 h de ser infiltradas, tampoco hubo pudrición de las rodajas de papa, y la prueba de fluorescencia fue negativa. Por tanto, se clasificaron como saprófitas.

En el caso de los hongos se obtuvieron 83 aislamientos, de los cuales 76% se identificaron como *Colletotrichum* sp., de acuerdo con las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998). Estos se separaron en tres grupos conforme al color del micelio (Cuadro 1). A las 24 h todas las colonias formaron

our study, since the disease develops better in high humidity and at 17 °C.

Circular black spot symptoms on prickly pear in Tlalnepantla are similar to those reported by Morales and Hernández (2002)² and by Osada and Cárcamo (1991), who worked in the same zone.

Identification of isolates

The bacteria grown in King B formed white colonies with creamy consistency. No hypersensitive reaction was observed in tobacco leaves 10 and 24 h after infiltration, nor did the potato slices rot; the fluorescence test was negative. They were therefore classified as saprophytes.

In the case of the fungi, 83 isolates were obtained, 76% of which were identified as *Colletotrichum* sp., according to the taxonomic keys of Barnett and Hunter (1998). These were separated into three groups by mycelium color (Table 1). At 24 h all of the colonies formed one-celled, hyaline, cylindrical, straight conidia attenuated at the ends. Initially, the conidia formed on short conidiophores dispersed in the mycelia; later, they formed sporodochia. All of the isolates of the three groups formed appressoria, most were light brown obovate with thick walls. Formation of the sexual stage was observed at 3 d for the colonies of group 3 and at 5 d for groups 1 and 2. Maturation of the perithecia, however, occurred at 35 d in the three groups. The perithecia were dark brown and globose. Most developed individually, although there were also those that formed groups bound by stromatic tissue. Eight ascospores were observed per ascum. Characteristics

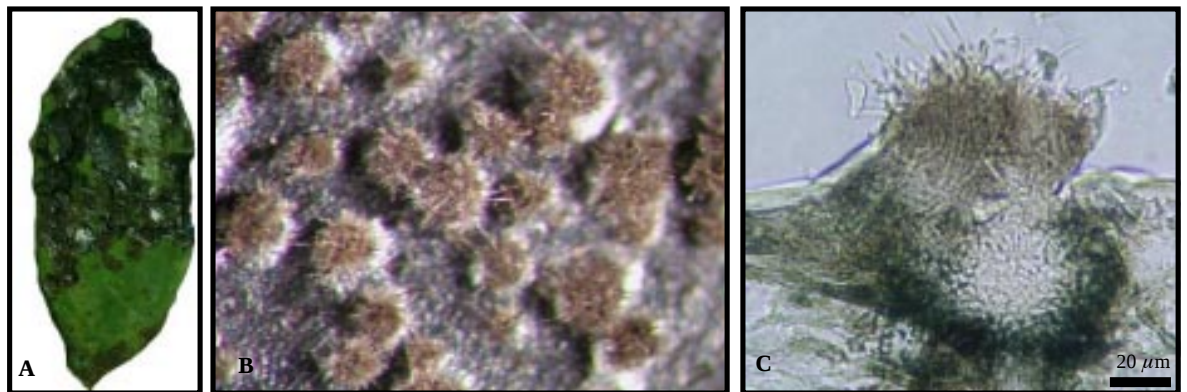


Figura 2. Síntomas y signos de la mancha negra en forma de mapa del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* Mill.) variedad Milpa Alta, en Tlalnepantla, Morelos. (A) Manchas de color café oscuro y necrosis de tejido; (B) vista paradermal de pseudoestromas de tipo *Pseudocercospora*, con conidióforos en fascículos densos; (C) pseudoestroma, corte transversal.

Figure 2. Symptoms and signs of map-shaped black spot on vegetable prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.) Milpa Alta variety, in Tlalnepantla, Morelos. (A) Dark brown spots and tissue necrosis; (B) para-dermal view of *Pseudocercospora*-type pseudostromas with conidiophores in dense fascicles; (C) pseudostroma, cross-section.

conidios unicelulares, hialinos, cilíndricos, rectos con extremos redondeados. Inicialmente los conidios se formaron en conidióforos cortos y dispersos en el micelio; después se formaron esporodoquios. Todos los aislamientos de los tres grupos formaron apresorios, la mayoría abovados de color café claro y de pared gruesa. La formación del estado sexual se observó a los 3 d de edad para las colonias del grupo 3 y a los 5 para el 1 y el 2; sin embargo, la maduración de los peritecios ocurrió a los 35 d para los tres. Los peritecios tuvieron un color café oscuro y forma globosa. La mayoría se desarrollaron individualmente, aunque también los hubo formando grupos unidos por tejido estromático. Se observaron ocho ascosporas por asca. Las características de los conidios, apresorios y formación de la fase sexual (Cuadro 1), coinciden con las reportadas por Mordue (1971), Sutton (1980, 1992) y Bailey y Jeger (1992). Por tanto, los aislamientos de los tres grupos corresponden a la especie *Colletotrichum gloeosporioides* y su estado sexual es *Glomerella cingulata*.

De los aislamientos restantes 24% tuvo problemas para su crecimiento y fue necesario transferirlos a un medio diferente: un medio semisintético denominado nopal-agar (NA) con 400g nopal, 10g agar y 1L agua destilada; se molió el nopal con 500 mL de agua, se adicionó el agar, se aforó a 1L y se esterilizó a 15 lb durante 20 min. En este medio se desarrolló micelio de color verde olivo, conidios de color olivo, largos, 0 a 7 septos (Figuras 3A y 3B). En el hospedante se observó micelio liso de color olivo invadiendo los tejidos del cladodio (epidermis, colénquima, clorénquima, parénquima de almacenamiento, haces vasculares y parénquima medular) y la cavidad estomática. Pseudoestroma inmerso y errumpente a través de los estomas, de color olivo cuando joven y café al madurar, 40-155 μm de diámetro (Figura 3C). Conidióforos

of the conidia, appressoria and sexual phase formation (Table 1) coincided with those reported by Mordue (1971), Sutton (1980, 1992) and Bailey and Jeger (1992). Therefore, the isolates of the three groups belong to the species *Colletotrichum gloeosporioides* and their sexual stage is *Glomerella cingulata*.

Of the remaining isolates 25% did not grow well, and it was necessary to transfer them to a different medium: a semi-synthetic medium called nopal-agar (NA) 400 g prickly pear, 10 g agar and 1 L distilled water; the prickly pear was ground with 500 mL of water, agar was added, and the mixture gauged to 1 L and sterilized at 15 lb for 20 min. In this medium olive green mycelia developed, with long olive-colored conidia, 0 to 7 septa (Figures 3A and 3B). In the host, smooth olive-colored mycelia were observed invading the tissues of the cladode (epidermis, collenchyma, chlorenchyma, storage parenchyma, vascular bundles and medullar parenchyma) and the stomatic cavity. Pseudostroma, olive-colored when young and brown when mature, 40-155 μm in diameter, submerged and erumpent through the stomata (Figure 3C). Conidiophores in dense fascicles, olive to dark olive in color, subcylindrical and straight, non-branched 10-38 $\times$ 2-5 μm , 0 to 2 septa, thin, dark olive conidial scar (Figure 3D). Solitary conidia, obclavate to cylindrical, conical truncate base, blunt end, 20-77 $\times$ 2.5-5 μm , 0 to 7 septa, thin olive-colored abscission scar (Figure 3E). According to several authors cited by Thaung (1984); and with Deighton (1976; cited by Beilharz, 1994); Rao *et al.* (1996); Chupp (1953); Wang *et al.* (1998); and Latterell and Rossi (1983), this fungus was classified as *Pseudocercospora* sp.

When isolating the agents causing the two different symptoms of black spot (circular and map) from diseased tissue, it was easier to isolate *Pseudocercospora* sp. from the cladode parenchyma with initial symptoms

Cuadro 1. Características para la identificación de la especie de *Colletotrichum* de tres grupos de aislamientos obtenidos de cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill, variedad Milpa Alta, con síntomas de mancha negra.

Table 1. Characteristics for the identification of the species *Colletotrichum* of three groups of isolates obtained from cladodes, *Opuntia ficus-indica* Mill., Milpa Alta variety, with black spot symptoms.

Grupo	Color del micelio	Conidios	Apresorios	Fase sexual	Especie
1	Micelio abundante y algodonoso, color salmón pálido, sin presencia de anillos.	11.1-16 $\times$ 4.4-6.6 μm	8.2-14.4 $\times$ 4.6-8.8 μm	Presente	<i>C. gloeosporioides</i>
2	Micelio abundante y algodonoso, color blanco-rosado, anillos de color gris.	13.2-16.2 $\times$ 4.6-6.2 μm	8.6-14.2 $\times$ 4.8-8.8 μm	Presente	<i>C. gloeosporioides</i>
3	Micelio abundante y algodonoso, color salmón-rosado, anillos de color gris.	11.3-16.2 $\times$ 4.4-6.4 μm	7.8-13.2 $\times$ 4.4-8.2 μm	Presente	<i>C. gloeosporioides</i>

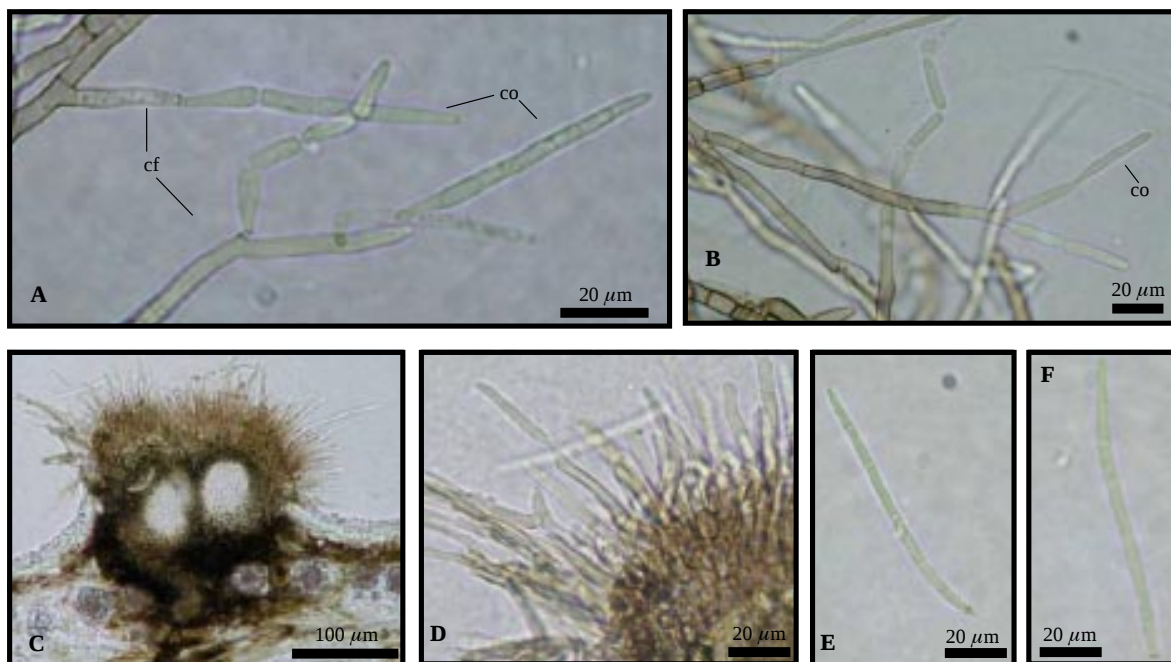


Figura 3. Signos de *Pseudocercospora* sp., en cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill, variedad Milpa Alta, con síntomas de mancha negra. (A y B) Conidios y conidióforos de *Pseudocercospora* sp., desarrollados en nopal-agar (NA); conidios (co) color olivo, largos, 0-7 septos; conidióforos (cf) libres y dispersos en el micelio de color olivo; (C) pseudoestroma inmerso y erumpente a través de los estomas, color olivo cuando joven y café al madurar; (D) conidióforos en fascículos densos, color olivo a olivo-oscuro, forma subcilíndrica y rectos, no ramificados; (E) conidios solitarios, obclavados a cilíndricos, base cónica truncada, extremo obtuso, 0 a 7 septos, cicatriz de abscisión de color olivo y delgada.

Figure 3. Signs of *Pseudocercospora* sp. in cladodes of *Opuntia ficus-indica* Mill., Milpa Alta variety, with black spot symptoms. (A and B) conidia and conidiophores of *Pseudocercospora* sp. developing in nopal-agar (NA) medium; conidia (co), olive-colored, long, 0-7 septa; conidiophores (cf) free and disperse in olive-colored mycelium; (C) pseudostroma submerged and erumpent through stomas, olive colored when young and brown when mature; (D) conidiophores in dense fascicles, olive to dark olive colored, subcylindrical and strain, no branching; (E) solitary conidia, obclavate to cylindrical, conical truncate base, obtuse tip, 0 to 7 septa, thin, olive-colored abscission scar.

en fascículos densos, de color olivo a olivo-oscuro, subcilíndricos y rectos, no ramificados de $10\text{--}38 \times 2\text{--}5 \mu\text{m}$, 0 a 2 septos, cicatriz conidial delgada de color olivo oscuro (Figura 3D). Conidio solitario, obclavado a cilíndrico, base cónica truncada, extremo obtuso, $20\text{--}77 \times 2.5\text{--}5 \mu\text{m}$, 0 a 7 septos, cicatriz de abscisión color olivo y delgada (Figura 3E). De acuerdo con varios autores citados por Thauung (1984); y con Deighton (1976, citado por Beilharz, 1994); Rao *et al.* (1996); Chupp (1953), Wang *et al.* (1998); and Latterell y Rossi (1983), este hongo se clasificó como *Pseudocercospora* sp.

Al realizar los aislamientos de tejido enfermo de los dos diferentes síntomas de mancha negra (circular y mapa), fue más fácil aislar *Pseudocercospora* sp., desde parénquima de cladodios con síntomas iniciales (puntos de color olivo y manchas café rojizas); *C. gloeosporioides* fue aislado con mayor frecuencia de lesiones viejas de tejido seco. Esto significa que *C.*

(olive colored specks and reddish brown spots); *C. gloeosporioides* was isolated more often from old lesions on dry tissue. This indicates that *C. gloeosporioides* arrives as a saprophyte taking advantage of the conditions disposed by *Pseudocercospora* sp. to develop in the diseased tissue. For this reason, in most of the cases, signs of both organisms (acervuli and pseudostromas) were observed on the diseased cladode cuticle. *C. gloeosporioides* also grows much faster in the culture medium than *Pseudocercospora* sp., possibly explaining the greater frequency of isolated colonies of the former.

Variation in color and the concentric rings in the colonies of *C. gloeosporioides* could be due to the large number of variants (Bailey and Jeger, 1992), or to the presence of binucleate heterogeneous conidia (Alahokoon *et al.*, 1992). But the characteristics of the *Pseudocercospora* sp. colonies remain homogeneous when cultivated in NA (nopal-agar). The characteristics

gloeosporioides llega como saprófito aprovechando las condiciones dispuestas por *Pseudocercospora* sp. para desarrollarse en el tejido enfermo. Por ello, en la mayoría de los casos, se observaron sobre la cutícula de cladodios enfermos signos de ambos organismos (acérvulos y pseudoestromas). Además *C. gloeosporioides* en medio de cultivo crece mucho más rápido que *Pseudocercospora* sp., lo que puede explicar la mayor frecuencia de colonias aisladas del primer hongo.

La variación en color y los anillos concéntricos en las colonias de *C. gloeosporioides*, puede deberse al gran número de variantes (Bailey y Jeger, 1992), o a la presencia de conidios binucleados heterogéneos (Alahakoon *et al.*, 1992). Pero las características de las colonias de *Pseudocercospora* sp. permanecen homogéneas al ser cultivadas en NA (nopal-agar). Las características de los conidios y del micelio se confunden con las del género *Cercospora*, por lo que la descripción se realizó preferentemente en estructuras formadas en el hospedante y se compararon con las referencias de varios autores. La presencia de micelio interno y no aéreo, el uso de la abertura estomatal como zona para la reproducción y la cicatriz de abscisión conidial delgada, son características que coinciden con las del género *Pseudocercospora* (Beilharz, 1994). También se consideraron la forma y color de conidios y conidióforos, pero no se les dio mucha importancia ya que su morfología es influenciada por la temperatura y humedad (Wang *et al.*, 1998). Al comparar las características de la especie en cuestión con las de las especies reportadas, no se encontró similitud con ninguna; por tanto, se postula la existencia de una nueva especie de *Pseudocercospora*.

Pruebas de patogenicidad

Las plantas de nopal inoculadas el 25 de junio de 2004 y conservadas en la cámara de ambiente controlado, después de 110 d, no presentaron síntomas de la enfermedad. En las plantas inoculadas y mantenidas a la intemperie en el patio de los invernaderos del Colegio de Postgraduados, la aparición de síntomas se inició el 22 de enero del 2005, es decir 104 d después de la inoculación (ddi). Las condiciones promedio de temperatura (°C), precipitación (mm) y humedad relativa (%) fueron: 17.6, 0.6 y 70.5 en octubre; 14.8, 0.08 y 63.5 en noviembre; 12.6, 0.03 y 64.7 en diciembre; 17.7, 0 y 60.4 en enero (Estación Agrometeorológica, Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco). Los cladodios que presentaron síntomas fueron los inoculados por aspersión e inyección de conidios de *Pseudocercospora* sp., a concentraciones de 8×10^3 y 16×10^3 conidios mL^{-1} ; y *Pseudocercospora* sp. en

of the conidia and mycelia are confused with those of *Cercospora*, and so the description was preferentially of the structures formed in the host and these were compared with references to several authors. The presence of internal, not aerial, mycelia, the use of the stomatal opening as the reproduction zone and the thin conidial abscission scar are characteristics that coincide with those of the genus *Pseudocercospora* (Beilharz, 1994). The shape and color of the conidia and conidiophores were also considered, but were not given much importance since their morphology is affected by temperature and moisture (Wang *et al.*, 1998). When the characteristics of the species of interest are compared with those of the species reported, no similarity was found with any, and therefore, the existence of a new species of *Pseudocercospora* is postulated

Tests of pathogenicity

Prickly pear plants inoculated on June 25, 2004, and kept in controlled environment chambers, did not, after 110 d, exhibit symptoms of the disease. In plants inoculated and kept outdoors in the patio of the greenhouses at the Colegio de Postgraduados, the appearance of symptoms initiated on January 22, 2005, that is, 104 d after inoculation (dai). The average conditions of temperature (°C), precipitation (mm) and relative humidity (%) were 17.6, 0.6 and 70.5 in October; 14.8, 0.08, and 63.5 in November; 12.6, 0.03 and 64.7 in December; and 17.7, 0 and 60.4 in January (Agro-meteorological Station, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco). The cladodes that exhibited symptoms were those inoculated by spraying and injection of *Pseudocercospora* sp. conidia at concentrations of 8×10^3 and 16×10^3 conidia mL^{-1} ; and *Pseudocercospora* sp. combined with *C. gloeosporioides* in concentrations of $8 \times 10^3 + 5 \times 10^4$ conidia mL^{-1} . No symptoms were exhibited on cladodes inoculated with only *C. gloeosporioides* in concentrations of 1×10^5 and 5×10^4 conidia mL^{-1} , sprayed and injected. Synergism was not observed when the two fungi were combined, and the lesion did not grow faster.

The symptoms induced in these materials were classified in two types:

- Circular black spot, symptom similar to that of the black spot disease observed in Tlalnepantla, Morelos. The cladodes that exhibited this type of lesion were inoculated in the parenchyma by injection of *Pseudocercospora* sp. and *Pseudocercospora* sp. combined with *C. gloeosporioides* conidia. Symptoms initiated with the appearance of small specks 3 to 5 cm in diameter (108 dai), dark olive colored (Figure 4A). As the infection advanced,

combinación con *C. gloeosporioides*, en concentraciones de $8 \times 10^3 + 5 \times 10^4$ conidios mL^{-1} . No presentaron síntomas los cladodios inoculados sólo con *C. gloeosporioides*, en concentraciones de 1×10^5 y 5×10^4 conidios mL^{-1} asperjados e inyectados. No se observó sinergismo cuando los dos hongos se combinaron, y la velocidad de crecimiento de la lesión no aumentó.

Los síntomas inducidos en estos materiales se clasificaron en dos tipos:

- Mancha negra circular, síntoma similar con el de la enfermedad mancha negra observada en Tlalnepantla, Morelos. Los cladodios con este tipo de lesión fueron inoculados en el parénquima por inyección de conidios de *Pseudocercospora* sp., y *Pseudocercospora* sp. combinado con *C. gloeosporioides*. Los síntomas iniciaron con la aparición de pequeños puntos de 3 a 5 mm de diámetro (108 ddi) de color olivo oscuro (Figura 4A). Al avanzar la infección se observaron manchas circulares de color verde-rojizo a café oscuro (115 ddi) (Figura 4B). A los 122 ddi los síntomas fueron manchas circulares negras con bordes amarillo claro (Figura 4C). A los 123 ddi, se inició la formación de pseudoestromas, los cuales maduraron después de 3 d formando conidióforos y conidios. La infección concluyó 129 ddi con la deshidratación total del tejido enfermo, y se detuvo el avance de la enfermedad (Figura 4D).
- Mancha negra en forma de mapa, síntoma similar al observado en Tlalnepantla, Morelos, sólo que los cladodios con este tipo de lesión fueron inoculados por aspersión de conidios de *Pseudocercospora* sp., y *Pseudocercospora* sp. combinado con *C.*

reddish-green to dark brown circular spots were observed (115 dai) (Figure 4B). At 122 dai, the symptoms were black circular spots with light yellow edges (Figure 4C). As of 123 dai, the formation of pseudostroms initiated; these matured 3 d later forming conidiophores and conidia. The infection concluded 129 dai with total dehydration of the diseased tissue, when the progress of the disease was detained (Figure 4D).

- Map-shaped black spot, symptom similar to that observed in Tlalnepantla, Morelos, except that the cladodes with this type of lesion were inoculated by spraying *Pseudocercospora* sp., and *Pseudocercospora* sp. combined with *C. gloeosporioides* conidia. The symptoms initiated with the appearance of small olive green specks 3 to 5 mm in diameter (104 dai), which developed between the cuticle and the epidermis (Figure 5A). During the 7 subsequent days (111 dai), the cladode changed from green to reddish-green, and the zone where the disease progressed became dark green (Figure 5B). At 118 dai, the symptoms acquired a blackish-brown color and the signs (pseudostromas) began to appear (Figure 5C). Between 118 and 122 dai, conidia matured; finally, after 126 d, the affected tissue dehydrated, leaving only woody tissue with a large quantity of pseudostromas (Figure 5D).

In the NA culture medium, from both types of spot (circular and map-shaped), colonies identified as *Pseudocercospora* sp. were obtained, similar to those from isolates obtained from cladodes with symptoms of black spot collected in Tlalnepantla, Morelos. In the inoculated host, the pseudostromas (Figures 6A and

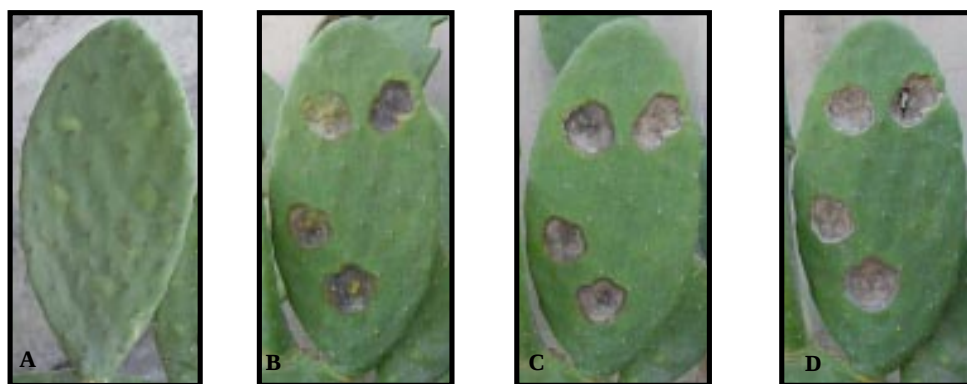


Figura 4. Síntomas de mancha negra circular en cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill, variedad Milpa Alta, inoculados el 10 de octubre de 2004 con el método de inyección de conidios de *Pseudocercospora* sp. (A) Puntos de color olivo y decoloración de la cutícula, 108 d después de la inoculación (ddi); (B) Mancha café-rojiza, 115 ddi; (C) Mancha negra delimitada por un margen amarillo, 122 ddi; (D) Mancha negra deshidratada, 129 ddi.

Figure 4. Circular black spot symptoms on cladodes of *Opuntia ficus-indica* Mill., Milpa variety, inoculated on October 10, 2004 by injecting *Pseudocercospora* sp. conidia. (A) Olive-colored specks and discoloring of cuticle 108 d after inoculation (dai); (B) reddish-brown spot, 115 dai; (C) black spot bordered by yellow edge, 122 dai; (D) dehydrated black spot, 129 dai.

gloeosporioides. Los síntomas se iniciaron con la aparición de pequeños puntos de 3 a 5 mm de diámetro (104 ddi), de color verde olivo, que se desarrollaron entre la cutícula y la epidermis (Figura 5A). Durante los 7 d subsecuentes (111 ddi) el cladodio cambió de verde a verde-rojizo, y la zona de avance de la enfermedad fue verde oscuro (Figura 5B). A los 118 ddi, los síntomas adquirieron un color café-negruzco y aparecieron signos (pseudostromas) (Figura 5C). Entre los 118 y 122 ddi, maduraron los conidios; finalmente, después de 126 d, los tejidos afectados se deshidrataron, quedando sólo el tejido leñoso con gran cantidad de pseudostromas (Figura 5D).

En el medio de cultivo NA, de ambos tipos de mancha (circular y mapa), se obtuvieron colonias identificadas como *Pseudocercospora* sp., similares a las de aislamientos obtenidos de cladodios con síntomas de mancha negra recolectados en Tlalnepantla, Morelos. En el hospedante inoculado, los pseudostromas (Figura 6A y 6B), conidióforos y conidios (Figura 6C, 6D, 6E y 6F) tuvieron las mismas características descritas en cladodios enfermos de mancha negra, recolectados en Tlalnepantla, Morelos. Los pseudostromas, después de originar los conidióforos, se transformaron en picnidios globosos a abovados (forma de piña), semiinmersos, errumpentes a través del poro estomático, de color olivo-oscuro a café, 40-160 μm de diámetro. Conidióforos, color olivo claro. Conidios, unicelulares, de color olivo claro, cilíndricos con extremos redondeados, $2.5\text{-}3 \times 1 \mu\text{m}$ (Figura 6G, 6H y 6I). De acuerdo con las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), se trata de picnidios del género

6B), conidiophores and conidia (Figure 6C, 6D, 6E and 6F) had the same characteristics as those described in black spot diseased cladodes collected in Tlalnepantla, Morelos. The pseudostromas, after forming conidiophores, transformed into globose to obovate (pineapple-shaped) picnidia, partially submerged, erumpent through the stomatic pore, dark olive to brown, 40-160 μm in diameter. Conidiophores are light olive colored. Conidia, one-celled, light olive colored, cylindrical with rounded ends, $2.5\text{-}1 \times 1 \mu\text{m}$ (Figure 6G, 6H and 6I). According to the Barnett and Hunter (1998) taxonomic keys, these would be picnidia of the genus *Asteromella* sp. Pads incubated at $24 \pm 2^\circ\text{C}$ increased fructification of the pseudostromas; that is, the formation of conidiophores increased greatly and, thus, of conidia. The conidiophores were longer and branching was sympodial (Figure 6J, 6K and 6L), and each branch gave rise to more than one conidiophore.

According to the tests of pathogenicity, the fungus *Pseudocercospora* sp., under the environmental conditions of Montecillo, was the only pathogenic, and developed two types of symptoms depending on the inoculation method: circular spots on injected cladodes and map-shaped spots on those sprayed with conidia. These symptoms coincide with those observed in the field. In spite of being different symptoms, in both cases pseudostromas developed which were visible in the cuticle and in the processed diseased tissue; fungi from the same genus was obtained from both types of lesions. This indicates that we are dealing with the same fungus. The map-shaped symptom appears when a large quantity of conidia are sprayed on the surface; this causes too many infections, which grow together

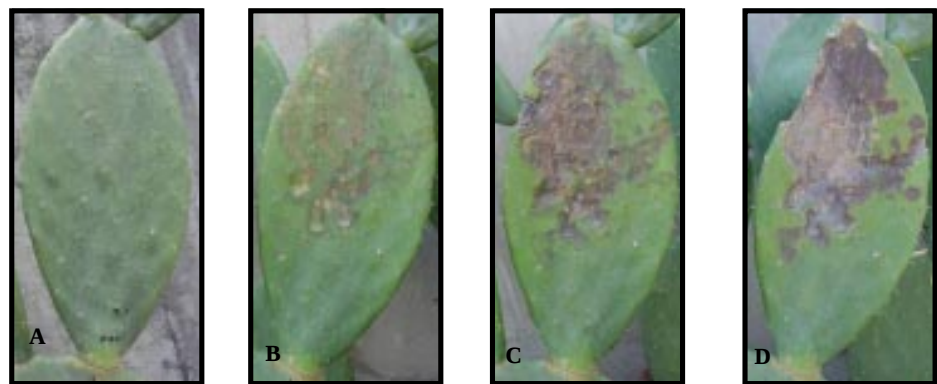


Figura 5. Síntoma de mancha negra en mapa en cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill, variedad Milpa Alta, inoculados el 10 de octubre de 2004 con el método de aspersión de conidios de *Pseudocercospora* sp. (A) Puntos de color olivo, 104 días después de la inoculación (ddi); (B) Mancha verde-rojiza, 111 ddi; (C) Mancha café-negruzca, 118 ddi; (D) Mancha negra deshidratada, 126 ddi.

Figure 5. Map-shaped black spot on cladodes, *Opuntia ficus-indica* Mill., Milpa Alta variety, inoculated on October 10, 2004 with the method of spraying *Pseudocercospora* sp. conidia. (A) Olive-colored specks, 104 d after inoculation (dai); (B) reddish green spot, 111 dai; (c) blackish-brown spot, 118 dai; (D) dehydrated black spot, 126 dai.

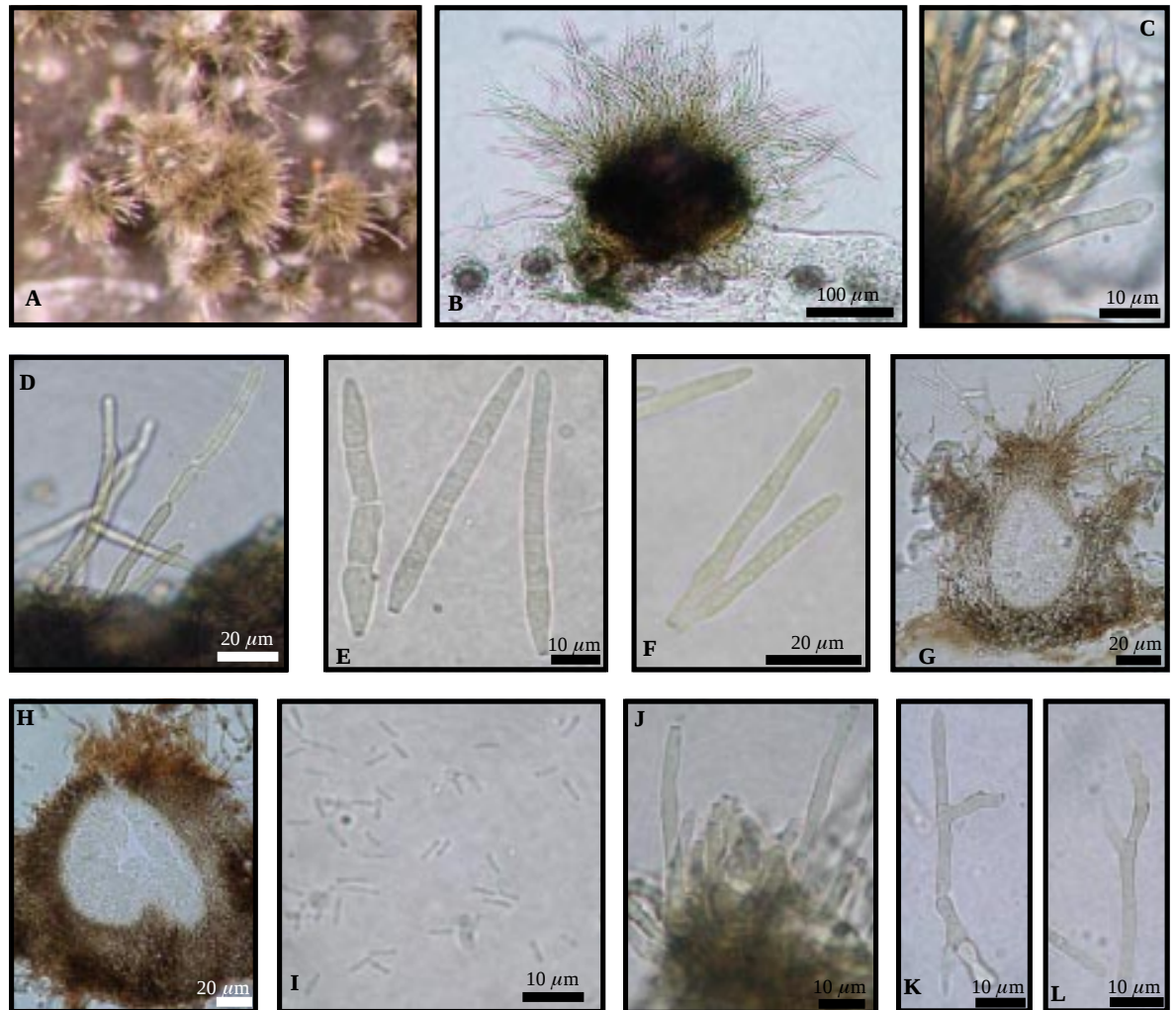


Figura 6. Signos de *Pseudocercospora* sp., causante de la mancha negra, presentes en cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill, variedad Milpa Alta, inoculados con el método de aspersión de conidios. (A) Pseudoestromas inmersos y erumpiendo a través de los estomas, color olivo cuando jóvenes y café al madurar; (B) pseudoestroma, corte transversal; (C y D) conidióforos en fascículos densos, color olivo a olivo-oscuro, forma subcilíndrica y rectos, no ramificados; (E y F) conidios solitarios, obclavados a cilíndricos, base cónica truncada, extremo obtuso, 0 a 7 septos, cicatriz de abscisión de color olivo y delgada; (G y H) *Asteromella* sp., picnidios globosos a abovados (forma de piña), seminmersos, erumpentes a través del poro estomático, de color olivo-oscuro a café; (I) *Asteromella* sp., conidios unicelulares, de color olivo claro, cilíndricos con extremos redondeados; (J, K y L) efecto de la temperatura (24 ± 2 °C), aumento en la longitud y ramificación de los conidióforos.

Figure 6. Signs of *Pseudocercospora* sp., causal agent of black spot on cladodes, *Opuntia ficus-indica* Mill., Milpa Alta variety, inoculated by the method of spraying conidia. (A) Pseudoestromas submerged and erumpent through stomata, olive-colored when young and brown when mature; (B) pseudoestroma, cross-section; (C and D) conidiophores in dense fascicles, olive to dark olive colored, subcylindrical and straight, non-branching; (E and F) solitary conidia, obclavate to cylindrical, conical truncate base, obtuse tip, 0 to 7 septa, thin, olive-colored abscission scar; (G and H) *Asteromella* sp., picnidia globose to obovate (pineapple-shaped), semi-submerged, erumpent through stomatic pore, dark olive to brown; (I) *Asteromella* sp., one-celled conidia, light olive colored, cylindrical with rounded ends; (J, K and L) effect of temperature (24 ± 2 °C), increase in length and branching of conidiophores.

Asteromella sp. Pencas incubadas a 24 ± 2 °C aumentaron la fructificación de los pseudoestromas, es decir aumentó en gran medida la formación de conidióforos y con ellos los conidios. Los conidióforos tuvieron mayor

causing symptoms that cover the entire cladode. The environmental conditions recorded indicate that 12.7 °C was the ideal temperature for the development of the disease. The symptoms and signs of the circular

longitud y ramificaciones simpodiales (Figura 6J, 6K y 6L) y cada ramificación originó más de un conidióforo.

De acuerdo con las pruebas de patogenicidad, el hongo *Pseudocercospora* sp., en las condiciones ambientales de Montecillo, fue el único patógeno, desarrollando dos tipos de síntomas según el método de inoculación: manchas circulares en cladodios inyectados y de mapa en los asperjados con conidios. Dichos síntomas coinciden con lo observado en campo. A pesar de ser síntomas diferentes en ambos casos se desarrollaron pseudoestromas, visibles en la cutícula y en tejido enfermo procesado; de ambas lesiones se obtuvo el mismo género; lo cual revela que se trata del mismo hongo. El síntoma de mapa se presenta cuando sobre la superficie se asperjan gran cantidad de conidios; esto causa demasiadas infecciones las cuales se unen ocasionando síntomas que abarcan al cladodio. Las condiciones ambientales registradas indican que 12.7 °C fue la temperatura ideal para el desarrollo de la enfermedad. Los síntomas y signos de la mancha circular fueron similares a los encontrados y descritos en Tlalnepantla, Morelos; por tanto, se concluye que el agente causal de la mancha negra es *Pseudocercospora* sp. En los cladodios de menor edad (6 meses), el desarrollo de la enfermedad fue más rápido y severo, todos fueron afectados y cayeron al suelo. En contraste, las pencas de mayor edad (12 meses) presentan mayor lignificación por lo que su resistencia al ataque de la enfermedad es mayor.

Finalmente los Postulados de Koch se cumplieron al demostrar la asociación constante: la reproducción de los síntomas y el reaislamiento del patógeno en favor de *Pseudocercospora* sp.

CONCLUSIONES

En nopal, *Pseudocercospora* sp., produce dos tipos de síntomas: mancha negra circular y mancha negra en forma de mapa. La presencia de un síntoma en particular depende del tipo de inoculación. El síntoma de mancha circular se forma por inoculación localizada individual y el mapa por inoculación masiva aleatoria. *Colletotrichum gloeosporioides* no fue el causante de la enfermedad mancha negra del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* Mill), variedad Milpa Alta.

El hongo *Pseudocercospora* sp. es el agente causal de la enfermedad mancha negra del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* Mill), variedad Milpa Alta, en Tlalnepantla, Morelos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Municipal del Nopal de Tlanepantla, Morelos (COMUNOTLA), el financiamiento de la presente publicación.

spot were similar to those found and described in Tlalnepantla, Morelos; therefore, it is concluded that the causal agent of black spot is *Pseudocercospora* sp. In younger cladodes (6 months old), the development of the disease was more rapid and severe; all were affected and fell to the ground. In contrast, older pads (12 months old) were more lignified and so were more resistance to attack by the disease.

Finally, Koch's postulates were satisfied by demonstrating constant association: reproduction of the symptoms and re-isolation of the pathogen in favor of *Pseudocercospora* sp.

CONCLUSIONS

In prickly pear, *Pseudocercospora* sp. produces two types of symptoms: circular black spot and map-shaped black spot. The presence of a particular symptom depends on the type of inoculation. The circular black spot is formed by localized individual inoculation and the map-shaped spot by massive random inoculation. *Colletotrichum gloeosporioides* was not the cause of the black spot disease of vegetable prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill), variety Milpa Alta.

The fungus *Pseudocercospora* sp. is the causal agent of the black spot disease of vegetable prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill), variety Milpa Alta, in Tlalnepantla, Morelos.

—End of the English version—



LITERATURA CITADA

- Alahakoon, P. W., A. C. Brown, and S. Sreenivasaprasad. 1994. Cross-infection potential of genetic groups of *Colletotrichum gloeosporioides* on tropical fruits. *Physiol. Molecular Plant Pathol.* 44: 93-103.
- Bailey, J. A., and M. J. Jeger. 1992. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Edited for the British Society for Plant Pathology. Bristol, UK. 388 p.
- Barnett, H. L., and B. B. Hunter. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3^a. Ed. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Beilharz, V. C. 1994. Cercosporoid fungi on Australian native plants. Ph. D. thesis, Department of Agriculture, The University of Melbourne. 191 p.
- Burgess, L. W., A. B. Summerell, S. Bullock., P. K. Gott, and D. Backhouse. 1994. *Laboratory Manual for Fusarium Research*. University of Sydney, Australia. 133 p.
- Chupp, C. 1953. *A Monograph of the Fungus Genus Cercospora*. The Ronald Press. New York. 667 p.
- Goto, M. 1994. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Faculty of Agriculture. Shizuoka University. Academic Press. 342 p.
- Latterell, F. M., and A. Rossi. 1983. A gray leaf spot of corn: a disease on the move. *Plant Dis.* 67(8):842-847.

- Mordue, J. E. 1971. *Glomerella cingulata*. In: C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 315.
- Osada, K. S., y R. A. Cárcamo. 1991. Etiología de la mancha negra del nopal. In: Congreso Nacional de Fitopatología. Memorias de Resúmenes. Sociedad Mexicana de Fitopatología. México. pp: 28.
- Rao, H. S. G., A. S. Moses, and P. N. Singh. 1996. Some new species of *Pseudocercospora* from India. Mycol. Res. 100(9): 1071-1074.
- Rubio H., A. 1997. Apuntes sobre las Fiestas de mi Pueblo. Tlalnepantla, Morelos. Dirección General de Culturas Populares. Unidad Regional Morelos, México. 121 p.
- SIAP- SAGARPA. 2003. www.siap.sagarpa.gob.mx
- Schaad, N. W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacterials. 2nd Ed. Aspress, St. Paul, Minnesota. pp: 56, 62.
- Sosa-Moss, C., W. D. Brathwaite, y R. F. Perdomo. 1994. Técnicas para la Identificación de las Enfermedades de las Plantas. Editorial IICA. San José Costa Rica. pp: 1-36.
- Sutton, B. C. 1980. *Colletotrichum*. In: The Coelomycetes: Fungi Imperfecti with Picnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. pp: 523-537.
- Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. Bailey, J. A., and M. J. Jeger (eds). CAB International. Wallingford, UK. pp: 1-26
- Thaung, M. M. 1984. Some fungi of *Cercospora* complex from Burma. Mycotaxon 19: 425-452.
- Wang, J., M. Levy, and L. E. Dunkle. 1998. Sibling species of *Cercospora* associated with gray leaf spot of maize. Phytopathology 88:1269-1275.