



*Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para Graduados*



**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE
ESCALAS LOGARÍTMICAS DIAGRAMÁTICAS DE
SEVERIDAD PARA ENFERMEDADES DE FIN DE
CICLO DEL CULTIVO DE SOJA**

Erica Cinthia Conforto

Tesis
Para optar al Grado Académico de
Magíster en Ciencias Agropecuarias
Mención: Protección Vegetal

Córdoba, 2011

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE
ESCALAS LOGARÍTMICAS DIAGRAMÁTICAS DE
SEVERIDAD PARA ENFERMEDADES DE FIN DE CICLO
DEL CULTIVO DE SOJA**

Erica Cinthia Conforto

Comisión Asesora de Tesis

Director: Ing. Agr. Guillermo March

Asesores: Ing. Agr. (M. Sc.) Clara Cragolini

Ing. Agr. (Dr.) Sami Michereff

Tribunal Examinador de Tesis

Ing. Agr. (Dr.) Leonardo Daniel Ploper

Ing. Agr. (M. Sc.) Viviana Yossen

Ing. Agr. (M. Sc.) Clara Cragolini

Presentación formal académica: 25 de febrero de 2011

Córdoba,

Facultad de Ciencias Agropecuarias

UNC

AGRADECIMIENTOS

A las autoridades del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y del Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal (IFFIVE) por permitir y facilitar el desarrollo de este trabajo de Tesis.

Agradezco a mi Director de Tesis, Ing. Agr. Guillermo March y a mi comisión Asesora de Tesis, Ing. Agr. (M. Sc.) Clara Cragolini e Ing. Agr. (Dr.) Sami Michereff por todos sus aportes y tiempo dedicado a este trabajo de tesis.

A los evaluadores de las escalas: Analía Dumon, Edgardo Carloni, Julián García, Claudio Oddino, Marina Breassano, Lorena Giachero, Matías Bisonard, Silvina Vargas Gil y Sabrina Griffa.

A Silvina Vargas Gil por acompañarme incondicionalmente.

A Edgardo Carloni por estar siempre dispuesto ayudarme.

A todas las personas que de una u otra manera me ayudaron a desarrollar este trabajo de tesis: Mónica Zuza, Adriana Marinelli, Julián García, Claudio Oddino, Javier Williams, Mario Rubiolo, Mariano Coccimano, Mario Quinteros, Claudio Nikolaus, Gervasio Figoni, Vanina Alemandri.

A mis amigos (Vale, Fer, Nanci, Mari, Analía, Lore, Fanny, Marina, Eva, Vani, Betiana, Tiki, Franco, Walter) y compañeros del IFFIVE.

A mi familia.

А МИ РАРА́ УА МИ МАМА́...

RESUMEN

La mancha marrón (*Septoria glycines*), la mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) y el mildiú (*Peronospora manshurica*), son las enfermedades de fin de ciclo de la soja (EFC) de mayor relevancia en la provincia de Córdoba, Argentina. Frecuentemente se desarrollan escalas de severidad de las enfermedades para realizar monitoreos, apoyar la toma de decisiones de realizar tratamientos fungicidas, evaluar el comportamiento de cultivares, y graficar las curvas de progreso a fin de realizar su modelización y poder evaluar prácticas de manejo. Tanto en la definición de la intensidad de las EFC, como en las escalas usadas para evaluarlas, en Argentina se han considerado distintas metodologías, no habiéndose en ningún caso realizado su validación estadística. Dada la importancia de este cultivo en nuestra provincia, en este trabajo se plantea como objetivos desarrollar escalas logarítmicas diagramáticas de severidad de las EFC y validarlas estadísticamente. Para elaborar estas escalas se recurrió a dos metodologías, el digitalizado y computarizado (programa Assess) para la mancha marrón y la mancha ojo de rana, y el digitalizado y hoja milimetrada para el mildiú. Para la cuantificación de la severidad de las enfermedades se convocó a 10 evaluadores, realizando posteriormente su validación a través de la determinación de los parámetros de precisión, exactitud y reproducibilidad. Los resultados obtenidos confirman que la digitalización de imágenes y el método Assess fue eficiente para estimar la severidad de la mancha marrón y de la mancha ojo de rana, y la digitalización de imágenes y hoja milimetrada para mildiú, debido al tipo de sintomatología de cada una de las enfermedades. La escalas logarítmicas diagramáticas desarrolladas para la mancha ojo de rana y la mancha marrón fueron validadas a través de la mayor precisión, exactitud y reproducibilidad que significó su uso. Por el contrario, la escala desarrollada para mildiú no pudo ser validada dado que todos los observadores sobreestimaron excesivamente los valores de severidad, lo cual es atribuible a las características particulares de los síntomas que caracterizan a esta enfermedad.

Palabras claves: *Septoria glycines*, *Cercospora sojina*, *Peronospora manshurica*, escalas de severidad, validación.

ABSTRACT

Brown spot (*Septoria glycines*), frogeye leaf spot (*Cercospora sojina*) and downy mildew (*Peronospora manshurica*) are the most important late-season soybean diseases (LSD) in the province of Córdoba, Argentina. Scales of disease severity are usually developed with the aim of monitoring the disease, supporting decision making in fungicide treatments, evaluating cultivar behaviour, and developing progress curves for further modelling and evaluation of management practices. In Argentina, different methods have been employed both to define LSD severity and to evaluate the scales used; however, no statistical validation has been conducted in either case. Given the importance of soybean crop in the province of Córdoba, the aim of the present work was to develop logarithmic diagrammatic scales of LSD severity and to validate them statistically. Scales were developed using two methods: digitizing and computerizing (Assess software) for brown spot and frogeye leaf spot, and digitizing and using graph paper for downy mildew. Disease severity was quantified by 10 observers and further validation was conducted by determining the following parameters: precision, accuracy and reproducibility. The results obtained confirm that, given the symptoms of each disease, image digitalization and Assess method were efficient to estimate severity of brown spot and frogeye leaf spot, and image digitalization and graph paper were efficient for downy mildew. Logarithmic diagrammatic scales developed for frogeye leaf spot and brown spot were validated because their use provided greater precision, accuracy and reproducibility. By contrast, the scale developed for downy mildew was not validated since all the observers largely overestimated severity values, which can be attributed to the particular characteristics of the symptoms typical of this disease.

Key words: *Septoria glycines*, *Cercospora sojina*, *Peronospora manshurica*, severity scales, validation

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
El cultivo de soja en Argentina	1
Enfermedades de fin de ciclo de la soja (EFC)	5
Mancha marrón (<i>Septoria glycines</i>)	6
Mancha ojo de rana (<i>Cercospora sojina</i>)	7
Mildiú (<i>Peronospora manshurica</i>)	8
Cuantificación de las enfermedades de fin de ciclo (EFC)	9
Desarrollo de escalas de severidad	11
a-Escalas cualitativas:	12
b-Escalas cuantitativas:	12
c-Escalas logarítmicas diagramáticas:	12
Validación de las escalas de severidad	13
Objetivos específicos	15
Bibliografía	16
CAPÍTULO 2	21
DESARROLLO DE ESCALAS LOGARÍTMICAS DIAGRAMÁTICAS DE SEVERIDAD PARA MANCHA MARRÓN (<i>Septoria glycines</i>), MANCHA OJO DE RANA (<i>Cercospora sojina</i>) Y MILDIÚ (<i>Peronospora manshurica</i>) EN EL CULTIVO DE SOJA	21
Introducción	21
Materiales y métodos	24
Evaluación de la severidad de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en folíolos de soja	24
Elaboración de una escala de severidad para mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en soja, mediante representaciones gráficas de folíolos afectados	27
Resultados	29
Evaluación de la severidad real de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en folíolos de soja	29
Obtención de una escala de severidad para mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en soja, mediante representaciones gráficas de folíolos afectados	32
Discusión	39
Conclusiones	42
Bibliografía	43

<i>CAPÍTULO 3</i>	45
VALIDACIÓN DE ESCALAS LOGARÍTMICAS DIAGRAMÁTICAS DE SEVERIDAD PARA MANCHA MARRÓN (<i>Septoria glycines</i>), MANCHA OJO DE RANA (<i>Cercospora sojina</i>) y MILDIÚ (<i>Peronospora manshurica</i>) EN EL CULTIVO DE SOJA	45
Introducción	45
Materiales y métodos	47
Resultados	50
Validación de escalas logarítmicas diagramáticas de severidad para mancha marrón	50
Validación de escalas logarítmicas diagramáticas de severidad para mancha ojo de rana	59
Discusión	68
Conclusiones	75
Bibliografía	76
<i>CAPÍTULO 4</i>	78
CONCLUSIONES GENERALES	78

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1.1. Evolución de la superficie sembrada y cosechada con soja (hectáreas) en las campañas 1997/1998 a 2006/2007 (adaptado de SAGPyA, 2008). _____ 2
- Fig. 1.2. Zonas de producción de soja en Argentina (adaptado de SAGPyA, 2008). ____ 3
- Fig. 1.3. Producción de soja por provincia en la campaña 2006/2007 (adaptado de SAGPyA, 2007). _____ 3
- Fig. 2.1. Ventana de software Assess para medir área foliar total, área foliar enferma y severidad expresada como porcentaje de área foliar afectada para evaluar la severidad de mancha marrón (*Septoria glycines*), mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) y mildiú (*Peronospora manshurica*). _____ 26
- Fig. 2.2. Hoja milimetrada utilizada para la medición de área foliar de mildiú (*Peronospora manshurica*) en folíolos de soja. _____ 27
- Fig. 2.3. Ventanas del programa 2.LOG ver 1.0 para el cálculo de una escala logarítmica. _____ 28
- Fig. 2.4. Distribución de frecuencias de severidad de 79 folíolos de soja var. Don Mario 4800 en seis clases de una escala logarítmica diagramática de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 33
- Fig. 2.5. Escala logarítmica diagramática de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja de la variedad Don Mario 4800. Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 34
- Fig. 2.6. Distribución de frecuencias de severidad de 57 folíolos de soja variedad Don Mario 4800 en seis clases de una escala logarítmica diagramática de severidad para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 35
- Fig. 2.7. Escala logarítmica diagramática de severidad para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja de variedad Don Mario 4800. Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. 1: Punto medio de clase, 2: Límite inferior de clase, 3: Límite superior de clase. _____ 36

- Fig. 2.8. Distribución de frecuencias de severidad de 19 folíolos de soja var. Don Mario 4800 en seis clases de una escala logarítmica diagramática de severidad para mildiú (*Peronospora manshurica*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 37
- Fig. 2.9. Escala logarítmica diagramática de severidad para mildiú (*Peronospora manshurica*) en folíolos de soja de variedad Don Mario 4800. Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 38
- Fig. 3.1. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 2 de los 10 evaluadores, para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 52
- Fig. 3.2. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 3 de los 10 evaluadores, para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 53
- Fig. 3.3. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 3 de los 10 evaluadores, para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 54
- Fig. 3.4. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 2 de los 10 evaluadores para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 55
- Fig. 3.5. Distribución de los residuos (severidad estimada-severidad real) en función de la severidad real, obtenidos sin el auxilio de la escala diagramática, y con el auxilio de la escala diagramática en la primera y segunda evaluación para mancha marrón

(*Septoria glycines*) en folíolos de soja: A: Evaluación sin escala. B: 1ª Evaluación con escala. C: 2ª Evaluación con escala. _____ 57

Fig. 3.6. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 2 de los 10 evaluadores para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 61

Fig. 3.7. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) 3 de los 10 evaluadores, para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 62

Fig. 3.8. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) 3 de los 10 evaluadores, para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 63

Fig. 3.9. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) 2 de los 10 evaluadores, para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal. _____ 64

Fig. 3.10. Distribución de los residuos (severidad estimada- severidad real) en función de la severidad real, obtenidos sin el auxilio de la escala diagramática, y con el auxilio de la escala diagramática en la primera y segunda evaluación para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja: A: Evaluación sin escala. B: 1ª Evaluación con escala. C: 2ª Evaluación con escala. _____ 66

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.1. Escalas y parámetros desarrollados en Argentina para evaluar enfermedades de fin de ciclo en soja. _____ 11
- Tabla 2.1. Número de folíolos de soja var. Don Mario 4800 y severidad¹ de mancha marrón (*Septoria glycines*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. __ 30
- Tabla 2.2. Número de folíolos de soja var. Don Mario 4800 y severidad¹ de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _ 31
- Tabla 2.3. Número de folíolos de soja var. Don Mario 4800 y severidad¹ de mildiú (*Peronospora manshurica*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. __ 32
- Tabla 2.4. Límite inferior, punto medio y límite superior de la escala logarítmica de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*), con seis clases y 99,41% de severidad máxima. Variedad Don Mario 4800, departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 33
- Tabla 2.5. Límite inferior, punto medio y límite superior de la escala logarítmica de severidad para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) con seis clases y 11,55 % de severidad máxima Variedad Don Mario 4800, departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 35
- Tabla 2.6. Límite inferior, punto medio y límite superior de la escala logarítmica de severidad para mildiú (*Peronospora manshurica*) con seis clases y 13,42 % de severidad máxima, Variedad Don Mario 4800, departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008. _____ 37
- Tabla 3.1. Intercepto (*a*), coeficiente angular (*b*) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simples obtenidas a partir de la estimación visual de 10 evaluadores sin y con el auxilio de la escala diagramática de severidad para la mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. _____ 51
- Tabla 3.2. Intercepto (*a*), coeficiente angular (*b*) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simple, relacionando la segunda y primera

evaluación, por un mismo evaluador con el auxilio de la escala diagramática para mancha marrón (<i>Septoria glycines</i>) en folíolos de soja. _____	56
Tabla 3.3. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión simple entre pares de evaluadores de mancha marrón (<i>Septoria glycines</i>) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad sin auxilio de la escala diagramática. _____	58
Tabla 3.4. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión simple entre pares de evaluadores de mancha marrón (<i>Septoria glycines</i>) en folíolos de soja para evaluaciones de severidad, para la primera evaluación con auxilio de la escala diagramática. _____	58
Tabla 3.5. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión simple entre pares de evaluadores de mancha marrón (<i>Septoria glycines</i>) en folíolos de soja para evaluaciones de severidad, para la segunda evaluación, con auxilio de la escala diagramática. _____	59
Tabla 3.6. Intercepto (a), coeficiente angular (b) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simples obtenidas a partir de la estimación visual de 10 evaluadores sin y con el auxilio de escala diagramática de severidad para la mancha ojo de rana (<i>Cercospora sojina</i>) en folíolos de soja. _____	60
Tabla 3.7. Intercepto (a), coeficiente angular (b) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simple, relacionando la segunda y primera evaluación, por un mismo evaluador con el auxilio de la escala diagramática para mancha ojo de rana (<i>Cercospora sojina</i>) en folíolos de soja. _____	65
Tabla 3.8. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresiones simples entre pares de evaluadores de mancha ojo de rana (<i>Cercospora sojina</i>) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad, sin auxilio de la escala diagramática. ____	66
Tabla 3.9. Estimación del coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresiones simples entre pares de evaluadores de mancha ojo de rana (<i>Cercospora sojina</i>) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad, para la primera evaluación, con auxilio de la escala. _____	67
Tabla 3.10. Estimación del coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresiones simples entre pares de evaluadores de mancha ojo de rana (<i>Cercospora</i>	

sojina) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad, para la segunda evaluación, con auxilio de la escala. _____ 67

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

El cultivo de soja en Argentina

A inicios de la década del '60 comenzó a producirse un marcado proceso de agriculturización en la región pampeana argentina. Este proceso fue acentuándose en décadas posteriores y extendiéndose a regiones que antes eran consideradas normalmente como marginales para la producción de granos (soja, trigo, maíz, girasol), como el noreste y noroeste. Es así que los sistemas de producción agropecuaria en Argentina tuvieron un marcado cambio hacia la agricultura, con el consiguiente desplazamiento de la frontera agrícola hacia zonas tradicionalmente ganaderas (SAGPyA, 2004).

Como consecuencia de este proceso de agriculturización la producción agrícola aumentó cerca de 66%, pasando de 40 a 67 millones de toneladas, mientras que el área sembrada lo hizo en aproximadamente 35% (Satorre, 2003). En la campaña 2002/03 se alcanzó una cifra record en producción de granos de 71 millones de toneladas, con una superficie sembrada de 27 millones de hectáreas. Entre los factores de agriculturización de mayor impacto se destacan la implantación del cultivo de soja, cuya expansión se explica por la introducción de variedades transgénicas resistentes al glifosato, la siembra directa, y los altos costos de implantación de otros cultivos de granos como maíz y girasol.

La expansión del cultivo de soja en el Cono Sur sudamericano se inició simultáneamente en el centro-norte del estado de Río Grande do Sul (Brasil) y en el centro-sur de la provincia de Santa Fe (Argentina) a comienzos de la década del '70. En la actualidad se siembra soja en un eje norte-sur de 3500 km, desde los cerrados de los estados de Tocantis y Para en Brasil, hasta la provincia de La Pampa y el sudeste en la provincia de Buenos Aires en Argentina, abarcando 30 grados de latitud, y diferentes ambientes edafo-climáticos (Martínez *et al.*, 2006)

La superficie sembrada con soja en Argentina en la campaña 2005/06 fue estimada en 15,2 millones de hectáreas, mientras que en la campaña 2006/2007 alcanzó un valor superior a los 18 millones de hectáreas (Fig. 1.1) (SAGPyA, 2008).

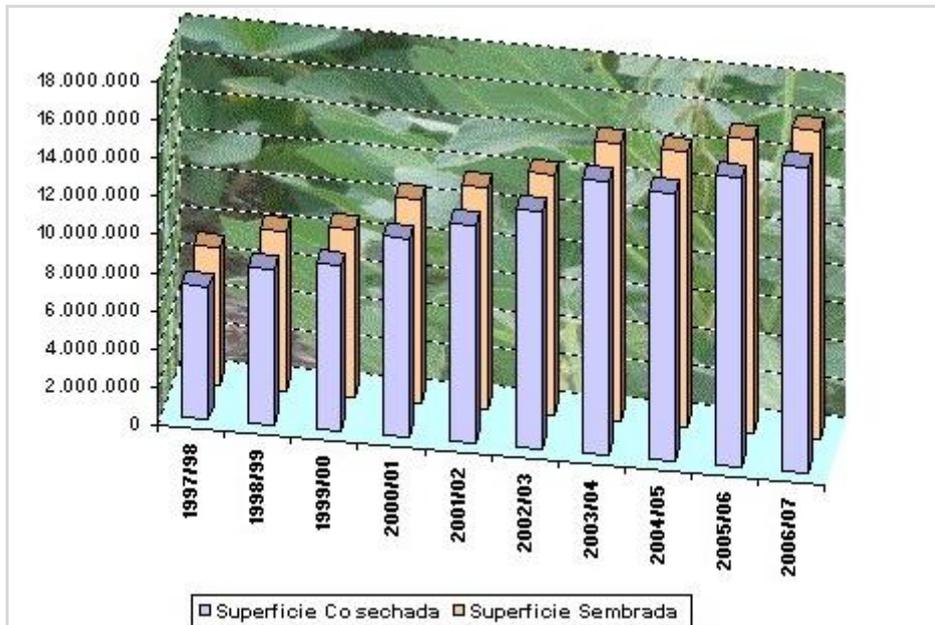


Fig. 1.1. Evolución de la superficie sembrada y cosechada con soja (hectáreas) en las campañas 1997/1998 a 2006/2007 (adaptado de SAGPyA, 2008).

El cultivo ocupa una amplia zona ecológica que se extiende desde los 40° a los 22° de latitud sur (Devani *et al.*, 2006) y comprende la región pampeana (provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, Entre Ríos y la Pampa), el noreste (provincias de Chaco, Formosa, Entre Ríos, Corrientes, Misiones y este de Santiago del Estero), y el noroeste (provincias de Salta, Tucumán, Catamarca, Jujuy y oeste de Santiago del Estero). El 94% de la superficie sembrada y 95% de la producción se concentran en las provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires (Fig.1.2 y 1.3).



Fig. 1.2. Zonas de producción de soja en Argentina (adaptado de SAGPyA, 2008).

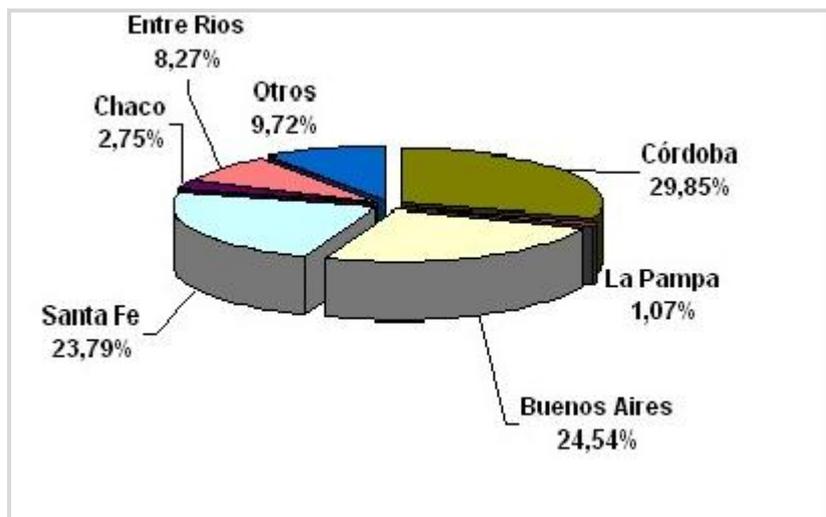


Fig. 1.3. Producción de soja por provincia en la campaña 2006/2007 (adaptado de SAGPyA, 2007).

La producción de soja de Argentina aporta el 10% del total mundial, lo que nos ubica como tercer país productor (SAGPyA, 2006); siendo además, el producto de exportación de mayor incidencia en el producto bruto agropecuario y el mayor generador de divisas. Estas exportaciones significan el 10% del grano, el 42% del aceite y 31,6% de la harina del total mundial, siendo en estos dos últimos casos el mayor exportador (Ghida Daza, 2002; Devani *et al.*, 2006).

En Córdoba la soja representa 80 a 85% del área cultivada con granos y la mayor parte se encuentra en la región semiárida (SAGPyA, 2005). En los departamentos del norte de la provincia (Colón, Ischilín, Río Seco, Sobremonte, Totoral y Tulumba) la soja representa 21% del total provincial (Torrent, 2003); por su parte, en los departamentos del sur esta oleaginosa se difundió paulatinamente, particularmente en los departamentos Río Cuarto y Juárez Celman donde la superficie paso de 200 ha en 1972 a 350.000 ha a fines de la década del 90 (March y Marinelli, 2005).

Las patologías causadas por hongos en el cultivo y sus niveles de intensidad, prevalencia, incidencia y severidad, han venido aumentando de manera sostenida, en especial desde la década del '90. A partir de la ocurrencia de severas epifitias, se empezó a percibir a las enfermedades como factores de alto riesgo en la producción de soja (Marinelli *et al.*, 2006)

La extensión del área cultivada, la uniformidad genética centrada particularmente en cultivares de ciclo corto, el monocultivo, el aumento de la densidad de siembra, la siembra directa, y la ocurrencia de condiciones ambientales favorables para los patógenos, son algunos de los factores que han contribuido al incremento de la presencia de enfermedades, haciendo de la soja un cultivo altamente vulnerable (Formento, 2001a; Carmona, *et al.*, 2003a; Carmona *et al.*, 2004; Ploper *et al.*, 2006). Luego de la adopción de la siembra directa las enfermedades en el cultivo de soja comenzaron a manifestarse con mayor intensidad y aumentaron las pérdidas especialmente en lotes con monocultivo (Ploper *et al.*, 2006). Estas pérdidas han sido estimadas entre 1,9 y 2,4 millones de toneladas anuales, lo que significa entre 1.000 a 1.300 millones de dólares (Vallone, 2002).

Entre las enfermedades que causan disminución de los rendimientos se destacan las de emergencia y media estación, aunque en las últimas campañas se han incrementado las pérdidas causadas por las denominadas enfermedades de fin de ciclo (EFC) (Vallone *et al.*, 2003b; Carmona *et al.*, 2003b; Carmona, *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2005) que se han convertido en las más importantes del cultivo (Carmona *et al.*, 2004).

La cuantificación de la intensidad de una enfermedad se denomina patometría, y es tan importante en epidemiología, como lo es el diagnóstico en fitopatología (Horsfall

y Cowling, 1978; Amarin, 1995). La epidemiología define con precisión las variables y metodologías para medir la incidencia y severidad de una enfermedad. A nivel mundial se han desarrollado numerosas claves, escalas, programas de entrenamiento por computadora y metodologías para mejorar las estimaciones de la severidad de enfermedades (Kranz, 1988; O'Brien y van Bruggen, 1992; Gaunt, 1995; Nutter, 1997; Nutter y Ester, 2006).

En Argentina, para las EFC de la soja hay una amplia variación tanto en la definición de incidencia y severidad como en las metodologías usadas para evaluarlas. Si bien se han realizado evaluaciones de la intensidad de las EFC al comparar cultivares o cuantificar el resultado de tratamientos fungicidas, utilizando escalas *ad hoc*, no se han efectuado trabajos específicos con el objetivo de desarrollar y validar escalas de severidad.

Enfermedades de fin de ciclo de la soja (EFC)

Como EFC se agrupa a aquellas enfermedades que afectan tallos, hojas, vainas y semillas durante estados reproductivos intermedios y avanzados del cultivo, causando un anticipo en la maduración de las plantas y disminución del rendimiento y calidad de la semilla producida. Los principales efectos son la disminución del número y peso de granos por una defoliación intensa y anticipada (Carmona *et al.*, 2004). Se consideran como un complejo de enfermedades porque se presentan en la misma época y se producen dificultades en su identificación individual, (Lim, 1989; Yorinori, 1998; Carmona *et al.*, 2003b; Carmona *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2005).

Los patógenos causantes de las EFC son en su mayoría necrotróficos, aunque los hay también biotróficos, como es el caso del mildiú (*Peronospora manshurica*). Los primeros sobreviven y fructifican en semillas y rastrojos, por lo que la siembra directa y el monocultivo favorecen su multiplicación y supervivencia, los segundos sobreviven en tejido vivo y semillas infectadas, requiriendo de tejido vivo para completar su ciclo de infección (Wrather *et al.*, 2001; Carmona *et al.*, 2004).

Entre las EFC más frecuentes en Argentina se citan la mancha marrón (*Septoria glycines* Hemmi), mancha ojo de rana (*Cercospora sojina* Hara), tizón de la hoja y mancha púrpura (*Cercospora kikuchii* T. Matsu & Tomayasu), mildiú (*Peronospora manshurica* Naum.), tizón de la vaina y el tallo (*Phomopsis* spp. Leh.), pústula bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *glycines* Nakano) y tizón bacteriano (*Pseudomonas siringae* pv. *glycinea* Coerper) (Formento, 2001a, b, 2005; Ivancovich *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 2004; Bonacic Kresic, 2005, 2006; Díaz *et al.*, 2005; Ivancovich y Botta, 2006; Pérez Fernández *et al.*, 2005; Vallone *et al.*, 2003a, 2006). En la región semiárida de Córdoba se cuantificó la prevalencia de las EFC en departamentos del norte y sur en la campañas agrícolas 2004/05 y 2005/06, encontrándose entre las más frecuentes estas mismas enfermedades (Marinelli *et al.*, 2006).

Mancha marrón (*Septoria glycines*)

Es una de las enfermedades más difundida a nivel mundial, siendo descrita por primera vez en Japón en 1915, tres años más tarde se informó de su presencia en EE.UU. y posteriormente se la encontró en regiones productoras de Brasil, Canadá, China y Alemania. En Argentina ha sido detectada en todas las regiones productoras (Sinclair, 1980). Puede ocasionar defoliación severa y pérdidas de rendimiento importantes (Athow, 1987; Lim, 1980).

La enfermedad se manifiesta en las plántulas y primeros estadios de desarrollo, en cotiledones, hojas unifoliadas y trifoliadas basales, posteriormente en estadios próximos a la madurez los síntomas reaparecen. Los síntomas comienzan con manchas irregulares marrón oscuras que van desde pequeños puntos a áreas de mayor tamaño, tanto en la superficie superior como inferior de las hojas unifoliadas. Estas hojas rápidamente se vuelven amarillas y caen. En las hojas trifoliadas se forman numerosas lesiones irregulares, marrón claro. En tiempos fríos y húmedos la enfermedad progresa desde las hojas inferiores a las superiores. En el período de crecimiento las hojas se tornan rojizas y caen prematuramente, lo que puede confundirse con la senescencia normal del cultivo (Vallone y Giorda, 1997).

En tallos, vainas y pecíolos las lesiones son marrones e irregulares, variando de pequeños puntos a áreas de varios centímetros cuadrados, y pueden confundirse con los provocados por otras enfermedades, por lo que no se utilizan para el diagnóstico.

El inóculo primario, conidios o micelio, provienen de la semilla infectada o de residuos de plantas infectadas de la temporada anterior (Vallone y Giorda, 1997; Ito y Tanaka, 1993). Las infecciones resultan favorecidas por tiempo cálido y húmedo. Para que la infección ocurra son necesarias un mínimo de seis horas de hoja mojada (Picinini y Fernández, 1998) y un amplio rango de temperatura que va desde los 10 a 27°C, condiciones favorecen la esporulación del patógeno. Los conidios son diseminados por lluvia o viento, la infección y defoliación avanzan desde las hojas inferiores. La propagación de la enfermedad se detiene con tiempo cálido y seco (Sinclair, 1980).

Mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*)

Esta enfermedad se registró por primera vez en 1915 en Japón, posteriormente se la observó en EE.UU. en 1924, y actualmente se la conoce mundialmente; siendo muy común en regiones templadas, durante los períodos húmedos (Sinclair, 1980).

Es una enfermedad principalmente foliar, pudiendo observarse también síntomas en tallos, vainas y semillas. Produce reducción del área fotosintética, defoliación prematura y un menor tamaño de grano con pérdidas que se estiman del 21 al 66 % del rendimiento (Formento, 2005).

Las manchas son inicialmente pequeñas, angulares o circulares, de color castaño rojizo y presente solo en la cara superior de la hoja. A medida que avanza la enfermedad el centro de las manchas se torna grisáceo, rodeadas de un halo castaño más oscuro. La ausencia de un halo amarillento alrededor de las manchas es una característica distintiva de la enfermedad (Vallone, 2003a; Carmona *et al.*, 2004). En la cara inferior de las hojas las manchas son marrón más oscuro a gris, y se forman conidiofóros en el centro de cada lesión. Las manchas más antiguas se tornan de color blanco y se vuelven translúcidas (Sinclair, 1980; Rupe, 1989). Algunas lesiones pueden unirse y formar otras más grandes e irregulares; cuando éstas son numerosas las hojas se marchitan y caen prematuramente. A medida que las lesiones aumentan de tamaño, los centros se

tornan de color marrón a gris pálido, con un borde angosto marrón claro. En las lesiones más viejas, se forman pequeños estromas que contienen grupos de conidiofóros y numerosos conidios (Sinclair, 1980). Los síntomas en las hojas se observan generalmente en floración, mientras que en tallos y vainas se forman manchas deprimidas al finalizar el período de fructificación (Rupe, 1989).

Las semillas infectadas presentan rajaduras y manchas de color gris claro a oscuro o marrón, la calidad de la semilla disminuye tanto por decoloración como por reducción de la germinación.

El patógeno sobrevive en rastrojos y semillas. Es una enfermedad policíclica, y las infecciones se ven favorecidas por tiempo cálido (25-35°C) y húmedo, con abundantes lluvias y rocío (Vallone, 2003b).

Mildiú (*Peronospora manshurica*)

Se registró por primera vez en 1908 en Cachemira y luego en EE.UU en 1923. Actualmente su distribución es mundial, aunque rara vez constituye una amenaza para el cultivo de soja. Provoca defoliación, reduce la calidad y el tamaño de la semilla, pudiendo provocar pérdidas de cosecha de hasta un 8% (Sinclair, 1980).

Los primeros síntomas aparecen en la cara superior de las hojas como pequeñas manchas verde pálidas a amarillentas. En correspondencia con estas manchas aparecen en el envés eflorescencias de color grisáceo, constituidas por la fructificación del hongo, conidiofóros y conidios, que permiten diferenciar el mildiú de otras enfermedades foliares. Las manchas pueden estar aisladas o hacerse confluentes, produciéndose defoliación si el ataque es intenso (Dunleavy, 1984; Cabrera *et al.*, 2002; Ridaó, 2004), en cuyo caso las hojas se vuelven amarillentas y finalmente marrones, se curvan en los bordes y caen prematuramente.

El hongo también puede afectar vainas y semillas, estas últimas suelen ser más pequeñas y livianas que las normales (Vallone y Giorda, 1997), además adquieren un color blanco opaco y muestran agrietamientos en su cubierta. El cultivo de semillas infectadas puede producir plántulas infectadas sistémicamente, que permanecen

pequeñas con hojas que detienen su desarrollo, dobladas en los bordes y con un moteado de color verde grisáceo (Sinclair, 1980).

Este patógeno sobrevive en hojas y semillas infectadas. Sus infecciones se ven favorecidas por temperaturas de 20 a 22°C y elevadas lluvias acompañadas de alta humedad relativa (Cabrera *et al.*, 2002; Ridao, 2004).

Cuantificación de las enfermedades de fin de ciclo (EFC)

La importancia de la medición de las enfermedades es comparable a la importancia que tiene el diagnóstico de enfermedades. De nada serviría conocer el patógeno si no es posible cuantificar los síntomas por él causados (Horsfall y Cowling, 1978; Amorin, 1995).

La medición de las enfermedades es la base para estudiar y comparar curvas de progreso de enfermedad o epidemias, modelizar epidemias, evaluar la resistencia de cultivares en programas de mejoramiento, determinar el momento adecuado de aplicación de fungicidas para el control de enfermedades, comparar su eficiencia, determinar pérdidas en función de la intensidad de la enfermedad, y verificar el efecto de prácticas de manejo biológico y cultural sobre la intensidad de las enfermedades (Kranz, 1988; Campbell y Madden, 1990; Nutter *et al.*, 1991; Amorin, 1995; Mora Aguilera *et al.*, 2000; March *et al.*, 2007).

La intensidad de una enfermedad se mide a través de la incidencia y severidad (Kranz, 1988; Campbell y Madden, 1990; Nutter *et al.*, 1991; March *et al.*, 2007). La decisión de medir uno u otro parámetro depende de las características de la enfermedad y del objetivo de la investigación. La incidencia es el porcentaje o proporción de plantas u órganos enfermos en la población. Para evaluar la incidencia se cuenta la cantidad de individuos enfermos, con síntomas visibles en una población, ya sea muestra, parcela o cultivo. La incidencia es una variable binaria (sano-enfermo), y es más adecuada para enfermedades que afectan toda la planta, como es el caso de las enfermedades sistémicas (virus, marchitamientos, carbonos). Es un parámetro rápido y fácil de calcular, y resulta más seguro y reproducible que la severidad. La severidad cuantifica

la cantidad de tejido enfermo, por lo que es una variable continua. Se la define como el porcentaje o proporción de tejido u órgano del hospedante con síntomas de enfermedad. Resulta del número y tamaño de las lesiones, y estos dos componentes pueden variar con el progreso de la enfermedad (Kranz, 1988). La medición se basa entonces en la percepción visual de quien evalúa, Es así que se introduce la subjetividad en la evaluación, por lo que para evitar este efecto se desarrollan escalas de cuantificación de severidad de las enfermedades (March *et al.*, 2008).

Con respecto a los trabajos de evaluación de intensidad de las EFC en Argentina, además de las variables incidencia y severidad, encontramos otras variables definidas arbitrariamente por cada investigador y no según la terminología usada en epidemiología, como por ejemplo “estimador de intensidad”; “frecuencia”, “intensidad de infección”, “nivel de infección”, “estimación visual” y “área foliar afectada” (Tabla 1.1). Por otra parte, no obstante mencionarse incidencia, en algunos casos se define como porcentaje de plantas afectadas (Vallone *et al.*, 2002; Bonasic Kresic, 2005) siendo que las EFC no son enfermedades sistémicas; o se sustituye incidencia por frecuencia (Cabrera *et al.*, 2002, 2004). Con respecto a severidad, es evaluada a través de escalas matemáticas arbitrarias de distinto rango (Vallone *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 2004), por escalas nominales arbitrarias (Formento, 2001a), por índices de severidad (Vallone *et al.*, 2002), o como área foliar afectada estimada visualmente (Carmona *et al.*, 2003a, 2006a, 2006b; Díaz *et al.*, 2005; Pérez Fernández *et al.*, 2005). Incluso, se cita el empleo de algunos parámetros epidemiológicos para cuantificar las EFC, pero no se los define (Formento, 2005; Bonasic Kresic, 2006). Esta arbitrariedad en la definición y metodologías utilizadas para medir las EFC, complican su empleo, análisis y comparación por distintos investigadores a través del método científico, ya que las mediciones carecen de precisión, exactitud y reproducibilidad.

Tabla 1.1. Escalas y parámetros desarrollados en Argentina para evaluar enfermedades de fin de ciclo en soja.

Cita Bibliográfica	Parámetro	Descripción
Astegiano <i>et al.</i> , 2002.	Incidencia y Severidad	Porcentaje, sin describir el parámetro.
Bonacic, 2005.	Incidencia	Porcentaje de plantas afectadas.
Cabrera <i>et al.</i> , 2004.	Intensidad	Tejidos o plantas enfermas (0: sin síntomas, 1: 20% daños; 3: 50% daños y 4: 70% de daños).
	Frecuencia	Unidades enfermas/Unidades totales.
Formento, 2001a.	Visual	Excelente, muy bueno, bueno, regular, malo.
Formento, 2001b.	Frecuencia	Los "ataques son severos a leves".
Ivancovich y Botta. 2006.	Nivel Infección	Como % sin aclarar si se trata de incidencia o severidad.
Pérez Fernández <i>et al.</i> 2005.	Intensidad	Porcentaje de área foliar.
Vallone <i>et al.</i> 2002.	Incidencia	Porcentaje de plantas con síntomas.
	Severidad	1 planta: sin síntoma a 5 plantas: totalmente afectada.
	Índice Severidad	$\Sigma (G_i F_i)/N$, donde G_i es grado de severidad (2 a 5); F_i es la frecuencia en cada grado y N : Número de plantas por parcela.
Vallone <i>et al.</i> 2006.	Severidad	Porcentaje hojas con síntomas: 1- <30%; 2- 30 a 50% y 3: >50%.
Vázquez <i>et al.</i> 2003.	Incidencia	Incidencia: (Nº de folíolos con síntomas/Nº total de folíolos) x 100

Si bien no existe un consenso general de que un sistema de medición basado en intervalos de clase construidos en base a una escala logarítmica, supere a los calculados sobre la base de la escala original de medición, ya sea mediante la construcción de intervalos de amplitud variable o fija, existe evidencia experimental de que en forma natural las evaluaciones visuales se aproximan mejor a los sistemas de medición construidos en base a una escala logarítmica (Large, 1966; Sherwood *et al.*, 1983; Mora Aguilera *et al.*, 2000). En EE.UU. y Brasil es frecuente usar escalas logarítmicas diagramáticas para cuantificar la severidad de las EFC o de la roya en soja (Lim, 1978, 1980; Eathington *et al.*, 1993; Martins *et al.*, 2004; Godoy *et al.*, 2006).

Desarrollo de escalas de severidad

Para medir la severidad de una enfermedad se pueden utilizar escalas, diagramas de severidad o ambos. Las escalas se definen por una serie de clases que abarcan el

intervalo que se extiende desde severidad nula hasta severidad máxima, y pueden clasificarse en escalas cualitativas y cuantitativas (March *et al.*, 2008).

a-Escalas cualitativas:

Se utilizan con frecuencia para calificar el comportamiento de cultivares frente a enfermedades. Las calificaciones pueden ir desde muy susceptibles o susceptibles hasta altamente resistentes, o bien excelente, muy bueno, bueno, regular y malo. Este tipo de escalas no permite una repetición confiable para el mismo evaluador, ni el análisis cuantitativo de la información. En estas escalas se pueden utilizar números para separar diferentes categorías de síntomas (cualitativas ordinales). Este tipo de escala se utilizan para enfermedades virales, fúngicas sistémicas e incluso cuando son afectadas las raíces (March *et al.*, 2008).

b-Escalas cuantitativas:

En este caso la severidad se divide en clases, a cada una de las cuales le corresponde un determinado porcentaje de enfermedad. En muchas de estas escalas no se fijan los límites mínimos y máximos del intervalo de cada clase, o bien los intervalos se establecen arbitrariamente, lo que hace dificultoso la comparación de evaluaciones realizadas por distintos evaluadores. (March *et al.*, 2008). También pueden desarrollarse escalas con intervalos equivalentes a un mismo porcentaje (escalas aritméticas).

c-Escalas logarítmicas diagramáticas:

Las escalas logarítmicas diagramáticas permiten establecer clases con base en un sistema logarítmico, con lo que se evita su designación arbitraria, e incluye además un diagrama para cada clase (March *et al.*, 2008). Los diagramas son una representación pictórica de ciertos grados de severidad, y se corresponden con intervalos o clases de una escala de severidad, por lo que en la práctica los diagramas se transforman en escalas diagramáticas de severidad (Campbell y Madden, 1990; Bergamin Filho y Amorin, 1996; Mora Aguilera *et al.*, 2000; Michereff *et al.*, 2006 a y b).

Actualmente las escalas diagramáticas de severidad se han convertido en la principal herramienta para la medición de severidad de muchas enfermedades. Tanto las escalas como los diagramas pueden basarse en intervalos de clases de amplitud variable o fija, ya sea en la escala original de observación o en escala logarítmica. La mayoría de las escalas de severidad se elaboran con clases dadas por intervalos de igual amplitud en la escala original de medición, la eficiencia de su uso depende de la experiencia y la validación a campo. Sin embargo en epidemiología se ha propuesto un procedimiento para la selección de clases basado en intervalos de igual amplitud en la escala logarítmica. Esto resulta más conveniente, ya que se elimina la designación arbitraria de clases o categorías de enfermedad y tienen la ventaja de ser prácticas y de fácil uso (Mora Aguilera *et al.*, 2000). Este procedimiento se basa en el principio propuesto por (Horsfall y Barrat, 1945) basado en la ley del estímulo de Weber-Fechner que establece que “*la agudeza visual es inversamente proporcional al logaritmo del estímulo*”, es decir que se pierde capacidad de resolución a mayor severidad de enfermedad. Posteriormente los mismos autores propusieron escalas logarítmicas simétricas al 50% de severidad. Esto se basa en la existencia de un estímulo visual diferencial, es decir percepción de tejido enfermo cuando la severidad es inferior al 50% y percepción del tejido sano cuando la severidad es superior al 50%. Según esta hipótesis la mayor resolución se daría en los extremos 0-10% de severidad y de 90-100% de severidad, cerca del 50% la capacidad discriminatoria entre niveles de enfermedad se reduce (Osada Velásquez y Mora Aguilera, 1997).

Validación de las escalas de severidad

Como la medición de la intensidad de una enfermedad es un requisito indispensable en estudios epidemiológicos, es necesario que el sistema de medición adoptado para el patosistema en estudio, además de ser de aplicación fácil y rápida, satisfaga las propiedades de precisión, exactitud y reproducibilidad (Kranz, 1988; Campbell y Madden, 1990; Nutter y Schultz, 1995; Mora Aguilera *et al.*, 2000).

Precisión: las mediciones realizadas por un mismo evaluador deben tener un pequeño y similar rango de variación respecto a n-eventos repetibles. Se estima como la varianza dentro de cada observador.

Exactitud: las mediciones realizadas por el evaluador deben ser lo más cercanas al verdadero valor de intensidad de la enfermedad. Se estima como la varianza entre estimadores.

Reproducibilidad: las mediciones realizadas por distintos evaluadores deben tener poca variación.

Las escalas deben validarse, porque sirven de base para la toma de decisiones como son la evaluación de tratamientos químicos o comportamiento de cultivares. Para ello se debe determinar la precisión y exactitud de los evaluadores como así también la reproducibilidad entre evaluadores (Michereff, *et al.*, 2006a). La validación se realiza efectuando un análisis sobre los valores que se obtienen cuando los evaluadores aplican las escalas para evaluar la severidad de una determinada enfermedad.

A través de la validación se pueden detectar niveles no adecuados de precisión y exactitud planteando la necesidad de rehacer la escala logarítmica diagramática, teniendo en cuenta aspectos como rango de severidad, número de clases y lesiones evaluadas (Michereff *et al.*, 2006b).

Considerando lo mencionado anteriormente, se plantean los objetivos generales de los cuales se desprenden los objetivos específicos que se detallan a continuación.

Objetivos generales

1- Desarrollar escalas logarítmicas diagramáticas de severidad de enfermedades de fin de ciclo del cultivo de soja para la región semiárida de Córdoba, Argentina.

2- Validar escalas logarítmicas diagramáticas de severidad de enfermedades de fin de ciclo de soja para la región semiárida de Córdoba, Argentina.

Objetivos específicos

1- Desarrollar escalas logarítmicas diagramáticas de severidad para mancha marrón causada por *Septoria glycines*; mancha ojo de rana causada por *Cercospora sojina* y mildiú causado por *Peronospora manshurica*.

2- Evaluar la exactitud, precisión y reproducibilidad de las escalas logarítmicas diagramáticas de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú de la soja en Córdoba.

Bibliografía

- Amorin, L. 1995. Avaliação de doenças. En: Manual de Fitopatología: Principios e Conceitos. Bergamin Filho, A., Kimati, H., Amorin, L. (eds.). Agronômica Ceres. 32: 647-671.
- Astegiano E., Menegón, J., Hermann, M., Sillón, M. 2002. Efecto de la protección de enfermedades de fin de ciclo en diferentes cultivares de soja. III Jornada Unidad Experimental de Cultivos Extensivos. FCA-UNL. pp. 1-2.
- Athow, K.L. 1987. Fungal diseases. En: Soybeans: Improvement, Production and Uses. B.E. Caldwell (ed.). Agronomy Monograph N° 16: 687-727. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.
- Bergamin Filho, A. y Amorin, L. 1996. Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico. Piracicaba. Agronômica Ceres. pp 299.
- Bonacic Kresic, I. 2005. Situación sanitaria de los cultivos de soja y sus problemas con enfermedades de fin de ciclo y roya de la soja en la región. Informe N° 2/05. EEA INTA Roque Sáenz Peña.
- Bonacic Kresic, I. 2006. Situación sanitaria de los cultivos de soja y sus problemas con enfermedades de fin de ciclo y roya de la soja en le región. Informe N° 1/06. EEA INTA Roque Sáenz Peña.
- Cabrera, M.G., Cundom, M. A., Álvarez, R.E., Gutiérrez, S.A. y Raimondo, M. R. 2002. Importantes ataques de mildiu (*Peronospora manshurica*) en cultivos de soja de la provincia de Chaco. Resumen A-063. Cátedra de Fitopatología.
- Cabrera, M.G., Álvarez, R.E., Raimondo, M.R., Cundom, M.A. y Gutiérrez, S.A. 2004. Importancia de las enfermedades de fin de ciclo de la soja (*Glycine max*) en el NEA. Resumen A-027. Cátedra de Fitopatología.
- Campbell, C.L., and Madden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley & Sons, New York, USA. pp. 107-128.
- Carmona, M., Barreto, D., Grijalba, P., Gally, M. y Sugía, V. 2003a. Manejo integrado de las enfermedades de fin de ciclo. Ubicación estratégica del uso de fungicidas y sus efectos sobre los componentes del rendimiento. Publicado en internet, disponible en www.agro.uba.ar/carreras/agronomia/materias/p_granos/. Activo Enero 2010.
- Carmona, M., Ploper, L.D., Grijalba, P., Gally, M. y Barreto, D. 2003b. Enfermedades de fin de ciclo del cultivo de soja. Guía para su reconocimiento y manejo. Editado por Syngenta. 20 pp.
- Carmona, M., Gally, M., Grijalba, P., Sugía, V., & Jaeggi, E. 2004. Frequency and chemical control of causal pathogens of soybean late season diseases in the Pampeana Region. VII World Soybean Research Conference, IV International Soybean Processing and Utilization Conference, III Congreso Mundial de Soja. Foz de Iguazú. Brasil. 159. I
- Carmona, M., López Achaval, P., Gally, M. y Sautua, F. 2006a. Uso de mezclas de azoxistrobina y triazoles para el control de las enfermedades de fin de ciclo en el cultivo de soja. Publicado en internet, disponible en www.agro.uba.ar/comunicacion/notas/mercosoja/carmona2. Activo Diciembre 2009.
- Carmona, M. Abello, A., Sautua, F. y Gally, M. 2006b. Fertilizantes foliares para el manejo de las enfermedades de fin de ciclo de la soja en el sur de Santa Fe. Publicado en internet, disponible en

- www.agro.uba.ar/comunicacion/notasd/mercosoja/carmona3. Activo Enero 2010.
- Devani, M., Ricci, O., Pérez, D., Ledesma, F., Lenis, J. 2006. Importancia de la producción de Soja en el mundo y en Argentina. En: Producción de Soja en el Noroeste Argentino. M.R. Devani, F. Ledesma, J.M. Lenis y L.D. Ploper, (eds.). Libro EEAOC-Aceitera General Deheza. Tucumán, Argentina. pp. 19-21.
- Díaz, C.G., Ploper, L.D., Gálvez, M.R., González, V., Zamorano, M.A., Jaldo, H.E., López, C y Ramallo, J.C. 2005. Efecto de las enfermedades de fin de ciclo en el crecimiento de distintos genotipos de soja relacionado a la fecha de siembra. *Agriscientia XXI*: 1-7.
- Dunleavy, J.M. 1984. Prevalence of soybean downy mildew in Iowa. *Plant Disease* 68: 778-779.
- Eathington, S.R., Lim, S.M., Nickell, C.D., Pataky, J.K., and Esgar, R.W. 1993. Disease pressure on soybean in Illinois. *Plant Disease* 77: 1136-1139.
- Formento, N. 2001a. Enfermedades foliares en cultivares de soja EEA Paraná. *Ciclo agrícola 200/01*. pp.1-3
- Formento, N. 2001b. Labranzas, secuencia de cultivos y enfermedades en el cultivo de soja. Serie extensión N° 21. Paraná: EEA INTA Paraná; pp.76-79.
- Formento, N. 2005. Enfermedades de fin de ciclo de la soja en Entre Ríos.
- Gaunt, R.E. 1995. New philosophies and technologies in disease measurement and appraisal, *Canadian J. of Plant Pathology* 17: 185-189.
- Ghida Dasa, C. 2002. Evolución de la producción de soja en Argentina. EEA INTA Marcos Juárez.
- Godoy, C.V., Koga, L.J., y Canteri, E.B. 2006. Diagramatic escale for assessment of soybean rust disease. *Fitopatología Brasileira* 31: 063-068.
- Horsfall, J.G. y Barrat, R.W. 1945. An improving grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 665.
- Horsfall, J.G., y Cowling, E.B. 1978. Pathometry: the measurement of plant disease. En: *Plants Disease an Advanced Treatise. How Disease Develops in Populations*. J.G. Horsfall, and E.B. Cowling, (eds.). New York, Academic Press. pp. 119-136.
- Ito, M.F. y Tanaka, M.A.S. 1993. Soja principais doenças causadas por fungos, bacterias e nematóides. Campinas: Fundação Cargill, serie Técnica 186. pp. 48.
- Ivancovich, A., Botta, G., Dandrea, F., Marchi, L., Rostagno, J. y Sillón, M. 2002. Relevamiento de las enfermedades de fin de ciclo de la soja en áreas sojeras de las provincias de Buenos Aires y Santa Fe (Argentina). Pautas para su manejo a través del uso de fungicidas. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentina, Río Cuarto. pp. 59.
- Ivancovich, A. y Botta, G. 2006. Ensayo de fungicidas para el control de enfermedades de fin de ciclo. Publicado en internet, disponible en www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0-0/agricultura/otros/roya_delasoja/fungicidas. Activo Enero 2010.
- Kranz, J. 1988. Measuring Plant Disease. En: *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*. J. Kranz, and J. Rotem, J., (eds.). Berlin, Springer-Verlag, Germany. pp. 35-50.
- Large, E. C. 1966. Measuring Plant Disease. *Annual Review of Phytopathology* 4: 9-28.
- Lim, S.M. 1978. Disease severity gradient of soybean downy mildew from a small focus of infection. *Phytopathology* 68: 1774-1778.
- Lim, S.M. 1980. Brown spot severity and yield reduction in soybean. *Phytopathology* 70: 974-977.

- Lim, S.M. 1989. Brown Spot. En: Compendium of Soybean Diseases, 3.ed. J.B. Sinclair, and P.A. Backman, (eds.). Saint Paul, APS Press. pp. 15-16.
- March, G. y Marinelli, A. 2005. Enfermedades y sistema productivo. En: Enfermedades del Maní en Argentina. G. March. y A. Marinelli, (eds.). Biglia Impresores, Córdoba. pp. 1-11.
- March, G.J., Marinelli, A. y Oddino, C. 2007. Epidemiología Aplicada al Manejo de Enfermedades de los Cultivos. Manual Curso de Especialización en Protección de Cultivos, Universidad Católica de Córdoba. pp. 22-30.
- March, G.J., Marinelli, A. y Oddino, C. 2008. Tercer Curso Internacional sobre caracterización, Diagnostico, Epidemiología y Manejo de Enfermedades Virales y Mollicutes en Plantas. Análisis del progreso de epidemias y pérdidas que causan. Instituto de Fisiología y Fitopatología Vegetal (IFFIVE) INTA. Córdoba-Argentina. pp. 13-22.
- Marinelli, A., Oddino, C., Vargas Gil, S., Zuza, M., Meriles, J., Kearney, M. , García, J. y March, G. 2006. Prevalencia de enfermedades foliares de la soja en departamentos del norte y sur de Córdoba. Actas de Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. pp. 225-226.
- Martínez, F., Cordone, G., y Gudelj, V. 2006. Fertilización en soja. Situación actual y perspectivas en Argentina, Bolivia y Uruguay. En: 3° Congreso de Soja del MERCOSUR. Bolsa de Comercio de Rosario. Rosario, 27, 28, 29 y 30 de Junio de 2006. p. 93.
- Martins, M.C., Guerzoni, R.A., Canara, G.M.S., Mattiazzi, P., Lourenço, S.A. & Amorim, L. 2004. Escala diagramática para quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia Brasileira* 29: 179-184.
- Michereff, S.J., Andrade, D.E.G.T. & Noronha, M.A. 2006 a. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade do carvão da folha do caupi. *Summa Phytopathologica* 32 (3): 51-56.
- Michereff, S.J., Noronha, M.A, Andrade, D.E.G.T., Oliveira, E.P., Xavier Filha, M.S. & Moreira, P.A.A. 2006b. Elaboração e validação de escala diagramática para a cercosporiose do pimentão. *Summa Phytopathologica* 32: 260-266.
- 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 computadorizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. En: XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola, Puerto Vallarta México. pp.19.
- Nutter, F.W., Teng, P.S., and Shokes, F.M. 1991. Disease assessment terms and concepts. *Plant Disease*. 75: 1187-1188.
- Nutter, F. W., and Schultz, P.M. 1995. Improving the accuracy and precision of disease assessments: Selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 17: 174-184.
- Nutter, F.W. 1997. Disease severity assessment training. En: *Excercises in Plant Disease Epidemiology*. L. Franck, and D. Neher, (eds.). APS Press, St. Paul, MN. pp. 1-7.
- Nutter, F.W., and Esker, P.D. 2006. The role of psychophysics in phytopathology: The Weber-Fechner law revisited. *European J. of Plant Pathology* 114: 199-213.
- O'Brien, R.D., and van Bruggen, A.H.C. 1992. Accuracy, precision and correlation to yield loss of disease severity scales for corky root of lettuce. *Phytopathology* 82: 91-96.

- Osada-Velásquez., H. K. y Mora Aguilera, G. 1997. 2LOG Programa para desarrollar escalas de severidad por el método Horsfall y Barratt. Manual del Usuario. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.
- Pérez Fernández, J., Figuerelo, A.M. y Lajarraga, M.B. 2005. Soja: Resultados del control de enfermedades de fin de ciclo. EEA INTA Anguil. Cosecha Gruesa 2005: 9-15.
- Picinini, E.C. y Fernandes, J.M. 1998. Doenças de soja: diagnose, epidemiologia e controle. Passo Fundo: Embrapa, CNTP. pp. 91
- Ploper, L. D., González, V., Gálvez, M. R., Zamorano, M. A. y Díaz, C. G. 2006. Enfermedades del cultivo de soja en el Noroeste Argentino y su manejo. En: Producción de Soja en el Noroeste Argentino. M.R. Devani, F. Ledesma, J.M. Lenis y L.D. Ploper, (eds.). Libro EEAOC-Aceitera General Deheza. Tucumán, Argentina. pp. 129-161.
- Ridao, A. 2004. El mildiú de la soja. Un problema potencial. Facultad de Ciencias Agrarias. (UNMDP-Proyecto AGR 167/03).
- Rupe, J.C. 1989. Cercospora blight and leaf spot. En: Compendium of Soybean Diseases. J.B. Sinclair, and P.A. Backman, (eds.). APS Press, The American Phytopathological Society. St. Paul. MN. EE.UU. pp. 16-17.
- SAGPyA. 2004. Hacia una agricultura sustentable. Publicado en internet, disponible en <http://www.sagpya.gov.ar>. Activo Julio 2010.
- SAGPyA. 2005. Cultivos en Argentina. Publicado en internet, disponible en <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>. Activo Julio 2010.
- SAGPyA. 2006. Cultivos en Argentina. Publicado en internet, disponible en <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>. Activo Julio 2010.
- SAGPyA. 2007. Cultivos en Argentina. Publicado en internet, disponible en <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>. Activo Julio 2010.
- SAGPyA. 2008. Cultivos en Argentina. Publicado en internet, disponible en <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>. Activo Julio 2010.
- Satorre, E.H. 2003. El cultivo de soja y la sustentabilidad de la agricultura Argentina y sus empresas. En: El libro de la Soja. pp. 23-27.
- Sherwood, R.T., Berg, C. C., Hoover, M.R., and Zeider, K.E. 1983. Illusions in visual assessment of *Stangonospora* leaf spot of orchardgrass. Phytopathology 73: 173-177.
- Sinclair, J. 1980. Compendium of Soybean Diseases. Sinclair, J. (ed). pp. 7-89.
- Torrent, M. 2003. La soja en los planteos de producción del norte de Córdoba. En: El libro de la soja. E. Satorre, (ed.). pp. 205-210.
- Vallone, S y Giorda, L. 1997. Enfermedades. En: El Cultivo de la Soja en Argentina. Giorda, L y Baigorri H., (eds.). pp. 214-244.
- Vallone, S. 2002. Enfermedades de la soja. Idia XXI. Año II, N° 3: 68-74.
- Vallone, S., Salines, L. y Masiero, B. 2002. Ensayos de fungicidas foliares para el control de enfermedades de fin de ciclo en soja, campaña 2001/2002. En: SOJA, Actualización. Informe para Extensión N° 74. pp. C-9/C-13.
- Vallone, S. 2003a. Enfermedades de Soja. En: El Libro de la Soja .E. Satorre, (ed.). pp. 123-132.
- Vallone, S., Salines, L., Gadban, L. y Masiero, B. 2003b. Comparación de la acción de una estrobirulina y un bencimidazon en distintos estadios fenológicos de soja para el control de enfermedades de fin de ciclo, campaña 2002/2003. SOJA, Actualización, EEA Marcos Juárez INTA, Informe para Extensión N° 81: pp. C-7/C-12.

- Vallone, S 2006. Situación sanitaria del cultivo de soja en Córdoba, Campaña 2005/2006. X Encuentro de Técnicos de Cooperativas. ACA. Conferencia. Rosario.
- Vázquez, G., Marcellino, J., March, G., Oddino, C y Marinelli, A. 2003. Sanidad de cultivares de soja (*Glycine max*) en Gral. Cabrera Campaña Agrícola 2002/2003. SOJA Actualización 2003. Estación Experimental Agropecuaria Marcos Juárez. Proyecto Regional-Producción Agrícola Sustentable. Información para Extensión N° 81: pp. C-13/C-18.
- Wrather, J.A., Anderson, T.R, Arsyad, D.M., Tan, Y., Ploper, L.D., Porta -Puglia, A., Ram, H.H., and Yorinori, J.T. 2001. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean- producing countries in 1998. *Can. J. Plant Path.* 23: 115-121.
- Yorinori, J. T. 1998. Controle integrado das principais doenças da soja. En: Soja: Tecnologia da Produção. G.M.S. Camara, (ed.). Piracicaba. pp. 139-192.

CAPÍTULO 2

DESARROLLO DE ESCALAS LOGARÍTMICAS DIAGRAMÁTICAS DE SEVERIDAD PARA MANCHA MARRÓN (*Septoria glycines*), MANCHA OJO DE RANA (*Cercospora sojina*) Y MILDIÚ (*Peronospora manshurica*) EN EL CULTIVO DE SOJA

Introducción

Existen diversos métodos automatizados para medir intensidad de una enfermedad, como el uso de videos, sistemas remotos y otros, sin embargo los métodos visuales y entre ellos las escalas son los más utilizados por una cuestión de costo y simpleza (Van Schoonhoven y Pastor Corrales, 1987; Jaraba *et al.*, 1999). Las escalas logarítmicas diagramáticas se basan en el principio de Weber-Fechner, el cual establece clases de severidad sobre la base de un sistema logarítmico, eliminando de esta manera la designación de clases en forma arbitraria. Este tipo de escalas se presenta como una opción para disminuir posibles fuentes de error por subjetividad, y además a éstas pueden adicionarse representaciones fotográficas asociadas a las distintas clases para asistir al evaluador en la medición de la severidad (Jaraba *et al.*, 1999; Mora Aguilera *et al.*, 2000). Estos diagramas con valores de severidad asociados, resultan útiles para medir la intensidad de una enfermedad a campo, como así también para entrenar a un evaluador potencial de la severidad de una enfermedad (Kranz, 1988). En Argentina no se han desarrollado aún escalas logarítmicas diagramáticas para cuantificar la mancha marrón, la mancha ojo de rana y el mildiú de la soja; como así tampoco se han validado las escalas *ad hoc* desarrolladas.

Las escalas diagramáticas se han transformado en una de las principales herramientas para la evaluación de enfermedades, por lo que deben ser de fácil uso, aplicables a diferentes condiciones, obtener resultados reproducibles y poseer intervalos

suficientes como para tener representados todos los estadios de desarrollo de la enfermedad (Berger, 1980). Una escala diagramática implica asociar representaciones gráficas, como fotografías o esquemas a distintas clases de severidad, de tal forma que a cada una de las clases le corresponde un determinado porcentaje de enfermedad (Mora Aguilera *et al.*, 2000).

Existen distintos métodos para cuantificar la severidad de una enfermedad, pueden ser manuales, visuales y digitalizados. Entre los dos primeros se puede mencionar la comparación de áreas sanas y enfermas conocidas mediante el uso de cuadrículas, el método gravimétrico, los sistemas remotos con fotografías aéreas, los videos, la medición con hoja milimetrada (Mora Aguilera *et al.*, 2000) y los métodos visuales donde simplemente se define el área afectada por observación visual o con una clave pictórica de la sintomatología (Navarro y Arauz, 1999). La digitalización de imágenes presenta numerosas ventajas que incluyen el rápido procesamiento de las muestras, eficiente almacenamiento y manejo de datos, y habilidad para discriminar pequeñas diferencias entre área enferma y área libre de enfermedad y determinan la severidad real en términos de porcentaje (Mora Aguilera *et al.*, 2000). Entre éstos se encuentran el método integrador de área foliar Licor 3000 y programas como AutoCAD (Autodesk, 1998) que parten de una plantilla de la hoja a evaluar cuyo contorno y lesiones son realizadas en papel o plástico transparente, y a partir de aquí se determina el porcentaje de área foliar afectada. También se han desarrollado programas como el software Assess (Lamari, 2005) que puede medir área enferma, porcentaje de área infectada, cantidad de lesiones, longitud de raíz, entre otras variables, a partir de imágenes digitalizadas. El principio de Assess es simple, se basa en dimensiones de objetos seleccionados por el usuario, y lo que se muestra en la ventana es el objeto que será sujeto de medición. Tovar-Soto *et al.*, (2002) trabajaron en la elaboración de una escala logarítmica diagramática para mancha negra en chirimoyo, y probaron métodos de áreas conocidas (método de cuadrícula) y gravimétricos, los que fueron comparados con los digitalizados.

En la elaboración de las escalas deben considerarse algunos aspectos como los límites inferior y superior de la severidad, que se corresponden con el valor mínimo y máximo de enfermedad encontrado en el campo, como así también los valores intermedios (Horsfall y Barrat, 1945; Nutter Jr. y Schultz, 1995). Para ello se debe

recolectar material sano y enfermo, siendo preciso que ese material sea variado en cuanto a tamaño de tejido (hojas grandes y pequeñas) y severidad de síntomas (distintos grados de severidad, lesiones iniciales y lesiones avanzadas). De esta manera se puede tener representados todos los prototipos de hojas enfermas para la elaboración de la escala (Hernández *et al.*, 1999; Jaraba *et al.*, 1999).

Dentro de la escala, cada clase tiene un límite mínimo, uno máximo y un punto medio de severidad, y en la representación gráfica se pueden usar los dos primeros o simplemente el valor medio. Estos límites pueden ser designados arbitrariamente, o teniendo en cuenta el principio óptico de Weber-Fechner modificado por Horsfall y Barrat (1945) (Mora Aguilera *et al.*, 2000). El principio propuesto por Weber-Fechner establece que la agudeza visual del daño es proporcional al logaritmo del estímulo. Gráficamente se genera una relación curvilínea de tipo exponencial entre severidad y niveles de daño o clases. La agudeza visual se va perdiendo con la magnitud de la severidad por lo que los rangos para los valores más altos de severidad deberían ser mayores. Una modificación al principio de Weber-Fechner fue propuesta por Horsfall y Barrat (1945) sugiriendo que la agudeza visual sigue este principio hasta el 50% de la severidad, y a partir de este valor la relación es inversamente proporcional con base al logaritmo del estímulo ocasionado por la cantidad de tejido sano remanente. Esto resulta en una función sigmoideal simétrica en 50% de la severidad, cuando el valor máximo se aproxima a 100%. De acuerdo con esta modificación la mayor agudeza visual se obtiene al estimar los valores de menor y mayor severidad mientras que en valores cercanos a 50% la capacidad de discriminar entre niveles de enfermedad se reduce (Mora Aguilera *et al.*, 2000). Por ello los rangos de una escala serán de menor amplitud para valores bajos y altos de severidad, y de mayor amplitud para valores medios de severidad. Aunque aún no se conoce si los sistemas de medición logarítmicos superan a los lineales, arbitrarios o no logarítmicos, existen evidencias experimentales de que las evaluaciones visuales son de alguna manera logarítmicas en forma natural (Large, 1966; Sherwood *et al.*, 1983).

Otro aspecto de importancia para obtener la escala es la definición del número de clases, que depende del objetivo que tenga el sistema de medición y de la capacidad discriminatoria entre clases. Si el objetivo es caracterizar temporalmente una epidemia, 5 a 7 clases son suficientes, para estudios de determinación de pérdidas se emplea un

número mayor de clases, de 7 a 10; en el extremo opuesto, si se opta por un número reducido de clases, como por ejemplo 3, se puede afectar la resolución de la evaluación (Zadoks y Schein, 1979).

Debido a la necesidad de contar con un sistema de medición automatizado en estudios epidemiológicos, se ha desarrollado un programa denominado 2 LOG ver 1.0. que permite estimar escalas logarítmicas sobre la base de ese principio óptico y permite definir automáticamente el número de clases (Osada-Velázquez y Mora Aguilera, 1997).

De acuerdo con lo descrito se plantea como objetivos:

- 1) Evaluar la severidad de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en folíolos de soja.
- 2) Obtener una escala de severidad para mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en soja, mediante representaciones gráficas de folíolos afectados.

Materiales y métodos

Evaluación de la severidad de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en folíolos de soja

Se muestrearon folíolos de soja durante las campañas agrícolas 2007-2008 y 2008-2009 en 50 lotes de los departamentos Río Cuarto ubicado al sur de la provincia de Córdoba (latitud 33° 07' y longitud 64° 56') y Río Primero al norte de la provincia de Córdoba (latitud 31° 19' y longitud 63° 37'). En el primer departamento se trabajó en las variedades Don Mario 4800, A 4613 y TJ 2055 y Don Mario 4800 en el departamento Río Primero. Con la finalidad de detectar la presencia de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú se realizaron monitoreos semanales a partir del estadio vegetativo V8 y concluyeron en el estadio reproductivo R7-R8, momento en que comenzó la senescencia natural de las hojas, indicado por el cambio de su color a amarillo (Fehr and Caviness, 1977). En cada monitoreo los lotes se recorrieron siguiendo la diagonal más larga y se realizó un número variable de estaciones en la búsqueda de folíolos con distintos grado de severidad.

La recolección del material se inicio en los primeros estadíos reproductivos, y se incrementó particularmente de R5 a R7, en los que las tres enfermedades alcanzaron su máxima incidencia y severidad. Se recolectaron en total 1200 folíolos con la finalidad de generar una muestra representativa de los diferentes grados de severidad y se determinó el valor máximo de severidad para cada una de las enfermedades. Se colectaron también folíolos sanos.

Medición de severidad: La severidad de las tres enfermedades se midió en condiciones de laboratorio utilizando el programa digital Assess (Lamari, 2005). Para poder trabajar con el programa se necesita una superficie de tamaño conocido que sirva como referencia en la medición dado que el programa trabaja con pixeles, por lo que es necesario hacer la conversión a unidades físicas. Para generar las imágenes los folíolos se escanearon individualmente, sin pecíolo, sobre fondo azul en un escáner HP Scanjet 8350 con 200 dpi de resolución y se generó un archivo jpg para cada uno de ellos. En cada archivo las variables que se estimaron fueron el área total del folíolo (AT), el área enferma (AE) y a partir de la relación entre ambas se estimó la severidad expresada como porcentaje de área afectada por folíolo según: $severidad = AE/AT * 100$ (Fig. 2.1).

Del total de folíolos recolectados se escanearon 610 de las tres variedades, los que fueron seleccionados teniendo en cuenta la presencia de una sola de las enfermedades y la definición clásica de los síntomas correspondientes. Los folíolos provenían de los departamentos Río Cuarto y Río Primero, en las dos campañas agrícolas. En la evaluación de la severidad, el programa marca las zonas enfermas del folíolo que son consideradas para el cálculo, las que pueden precisarse mediante el uso de una barra donde se seleccionan los diferentes colores de las manchas. De esta forma se aumenta la cantidad de folíolos escaneados susceptibles a ser medidos.

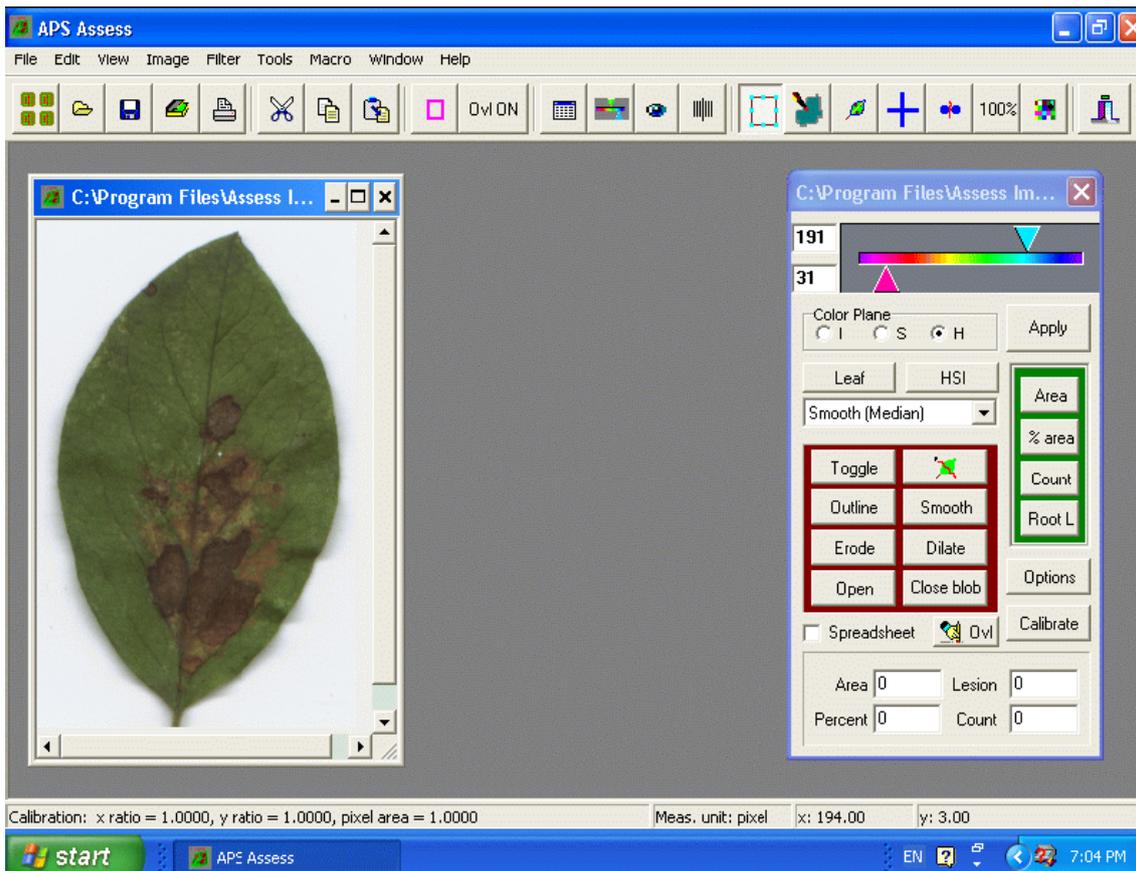


Fig. 2.1. Ventana de software Assess para medir área foliar total, área foliar enferma y severidad expresada como porcentaje de área foliar afectada para evaluar la severidad de mancha marrón (*Septoria glycines*), mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) y mildiú (*Peronospora manshurica*).

En el caso del mildiú se empleó además, el método de la hoja milimetrada, para lo cual se colocó la impresión de una hoja milimetrada transparente sobre la figura escaneada e impresa de cada folíolo (Fig. 2.2). Se evaluó manualmente el total de milímetros cuadrados de cada folíolo (AT) y la cantidad de milímetros cuadrados afectados por el mildiú de la soja (AE) y a partir de ellos se calculó la severidad como porcentaje de área afectada según $severidad = AE/AT * 100$. Debido a que esta operación requería mucho tiempo, se midió además el tiempo promedio requerido para evaluar la severidad de cada hoja.

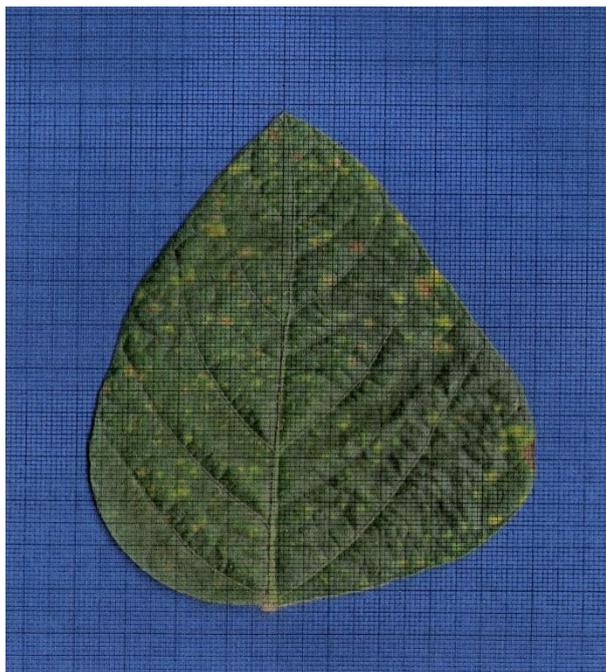


Fig. 2.2. Hoja milimetrada utilizada para la medición de área foliar de mildiú (*Peronospora manshurica*) en folíolos de soja.

Elaboración de una escala de severidad para mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en soja, mediante representaciones gráficas de folíolos afectados

Se utilizó el programa 2.LOG ver. 1.0 (Mora Aguilera, 2000); para lo que se identifico el valor máximo de porcentaje de severidad real y ese valor se introdujo en el programa como límite máximo de la escala de severidad con el objeto de restringir la distribución de clases dentro del rango que abarcó entre severidad nula y máxima observable en el campo. Para la obtención del número de clases se utilizó la opción Horsfall y Barrat ajustado en el programa, y para cada una de las tres enfermedades se probaron escalas con 4, 5, 6, 7 y 8 clases. Se seleccionó la opción de Horsfall y Barrat ajustado, dado que corresponde a la aproximación matemática correcta de la propuesta original de Horsfall y Barrat, aunque para los fines prácticos, entre Horsfall y Barrat y Horsfall y Barrat ajustado las diferencias de cálculo pueden no ser significativas (Tovar Soto *et al.*, 2002)

El programa 2.LOG ver. 1.0 (Fig. 2.3) calcula los valores de limite superior (L.S.), limite inferior (L.I.) y punto medio (P.M.) de cada clase, a partir del valor de severidad máxima real obtenido por el medidor de área foliar, y del número de clases

seleccionado. También genera un gráfico utilizando la transformación logarítmica de los datos de severidad en función del número de clases seleccionado.

Para incluir los diagramas en la escala, se seleccionaron foliolos cuya severidad estaba más próxima a los puntos medios de cada clase.

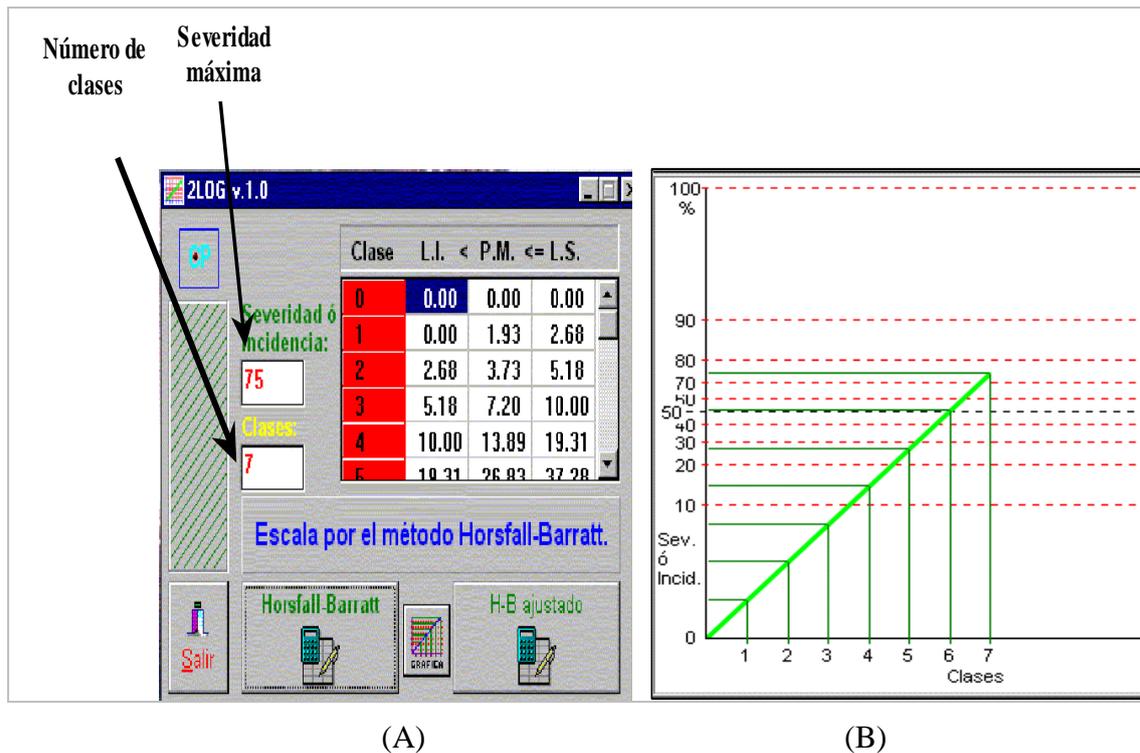


Fig. 2.3. Ventanas del programa 2.LOG ver 1.0 para el cálculo de una escala logarítmica.

A) Ventana de especificación de severidad máxima, número de clases y valores de clase obtenidos con el método Horsfall-Barratt ajustado.

B) Gráfico generado mediante la linearización logarítmica de la severidad y su división en clases.

Resultados

Evaluación de la severidad real de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en folíolos de soja

Del total de los 610 folíolos escaneados, 92 presentaron síntomas característicos y bien definidos de mancha marrón (*Septoria glycines*). Todos los folíolos utilizados eran de un cultivo comercial de la variedad Don Mario 4800 sembrado en el departamento Río Cuarto.

En 79 folíolos se midieron sin dificultad el área foliar y el área afectada, y a partir de estas se calculó la severidad mediante el programa Assess en 79 folíolos. En los restantes folíolos con esta enfermedad, la presencia de gamas de un mismo color en los folíolos, por ejemplo el amarillo, impidió abarcar con precisión el área lesionada en forma completa, incluso ajustando la barra de colores del programa. El valor máximo de severidad encontrado fue de 99,41% (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Número de folíolos de soja var. Don Mario 4800 y severidad¹ de mancha marrón (*Septoria glycines*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

Folíolo	Severidad	Folíolo	Severidad	Folíolo	Severidad
1	32,3	28	3,10	55	75,0
2	36,4	29	7,00	56	14,9
3	75,3	30	27,3	57	53,1
4	40,0	31	26,3	58	33,7
5	9,95	32	49,3	59	65,8
6	7,57	33	36,1	60	20,9
7	79,3	34	38,3	61	91,8
8	22,0	35	88,3	62	99,4
9	52,4	36	41,6	63	51,2
10	69,9	37	19,9	64	46,6
11	56,4	38	11,0	65	56,6
12	14,2	39	8,40	66	34,2
13	40,9	40	31,4	67	63,8
14	12,9	41	11,2	68	82,6
15	16,9	42	51,2	69	16,6
16	20,6	43	54,1	70	39,9
17	16,1	44	45,4	71	79,8
18	94,7	45	17,8	72	99,3
19	42,7	46	68,4	73	17,0
20	37,8	47	28,1	74	16,9
21	57,6	48	7,43	75	13,0
22	30,4	49	35,7	76	37,1
23	32,5	50	68,9	77	97,3
24	8,90	51	28,1	78	81,2
25	42,4	52	27,4	79	66,0
26	5,02	53	29,6		
27	11,1	54	13,7		

¹ Porcentaje de área foliar afectada medida por el programa Assess para mancha marrón.

En el caso de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) se midieron el área foliar y afectada por la enfermedad en 476 folíolos de la variedad Don Mario 4800 recolectados en las dos campañas del estudio, en los departamentos Río Cuarto y Río Primero. Se logró seleccionar 265 folíolos de la variedad Don Mario 4800 por la homogeneidad de su forma y tamaño, recolectados en 2007-2008 ya que los de 2008-2009 no aportaron aumentos en los niveles de severidad.

En esta enfermedad, el color castaño de los bordes de las lesiones y su definición nítida no ocasionaron dificultad para la medición con el programa Assess. La severidad máxima obtenida fue de 11,55 %. (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Número de folíolos de soja var. Don Mario 4800 y severidad¹ de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

Folíolo	Severidad	Folíolo	Severidad	Folíolo	Severidad
1	1,70	20	2,40	39	2,55
2	7,50	21	1,37	40	0,92
3	6,20	22	2,16	41	0,89
4	4,30	23	0,51	42	1,81
5	2,10	24	1,12	43	1,05
6	2,90	25	1,91	44	1,02
7	10,6	26	1,58	45	0,80
8	1,12	27	0,33	46	0,33
9	3,60	28	1,13	47	0,87
10	3,01	29	1,06	48	0,56
11	2,27	30	0,53	49	1,51
12	1,08	31	0,27	50	1,72
13	7,54	32	1,44	51	0,56
14	0,66	33	2,49	52	0,87
15	7,43	34	1,01	53	0,60
16	1,02	35	1,45	54	1,01
17	1,31	36	1,38	55	1,08
18	11,5	37	0,93	56	1,86
19	2,16	38	1,51	57	1,36

1 Porcentaje de área foliar afectada medida por el programa Assess para mancha ojo de rana

En el mildiú (*Peronospora manshurica*), si bien se intentó medir el área foliar y afectada de 42 folíolos de la variedad don Mario 4800, esta última no se pudo evaluar con el programa Assess. Esta dificultad se debió al tamaño pequeño de las lesiones y a que su color verde pálido a amarillento se confundió con el color de las nervaduras y de la propia lámina foliar, principalmente en los primeros estados de la enfermedad; lo que motivó que esas áreas sanas se sumaran a las afectadas. Este inconveniente no se pudo solucionar aun ajustando la barra de colores del programa. Por el contrario, el uso del método de la hoja milimetrada transparente permitió cuantificar el área foliar de todas

las lesiones y en todos los folíolos, obteniéndose un valor máximo de severidad de 13,4% (Tabla 2.3).

No obstante la posibilidad de medir el área afectada por mildiú mediante la hoja transparente milimetrada, la implementación de esta metodología insumió mayor tiempo que la digitalizada. Así, cuando se usó el papel milimetrado se necesitaron entre 18 y 25 minutos por hoja para obtener evaluaciones precisas; mientras que con el método digitalizado sumado al computarizado, en las otras dos enfermedades que pudieron ser medidas, se necesitó solamente entre 30 segundos a un minuto y medio por hoja.

Tabla 2.3. Número de folíolos de soja var. Don Mario 4800 y severidad¹ de mildiú (*Peronospora manshurica*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

Folíolo	Severidad	Folíolo	Severidad
1	2,24	11	3,16
2	1,44	12	2,07
3	2,11	13	6,42
4	7,46	14	2,04
5	5,82	15	13,4
6	6,16	16	12
7	2,15	17	7
8	2,87	18	3,34
9	2,34	19	6,68
10	4,11		

¹ Porcentaje de área foliar afectada medida por el programa Assess para mildiú.

Obtención de una escala de severidad para mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en soja, mediante representaciones gráficas de folíolos afectados

Para mancha marrón se obtuvo una escala de seis clases (Tabla 2.4). La amplitud de clases fue mayor que para mancha ojo de rana y para mildiú debido a que en mancha marrón se obtuvieron los valores más altos de severidad. La clase de mayor frecuencia fue la clase número 2 con 43 folíolos con 13,11% a 52.8% de la superficie foliar afectada y las de menor frecuencia las clases 0, 4 y 5 con 1, 3 y 2 folíolos

respectivamente (Fig. 2.4). En los diagramas obtenidos para esta escala se observan las áreas afectadas donde las lesiones marrones son definidas y las áreas cloróticas son más difusas, sin embargo en los folíolos seleccionados esta característica no impidió al programa captarlas y diferenciarlas de las áreas sanas. Cada una de las clases fue definida por sus límites inferior, superior y punto medio (Fig. 2.5).

Tabla 2.4. Límite inferior, punto medio y límite superior de la escala logarítmica de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*), con seis clases y 99,41% de severidad máxima. Variedad Don Mario 4800, departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

Clases	L. Inferior (%)	P. Medio (%)	L. Superior (%)
0	0	0	0
1	0	5,25	13,11
2	13,11	29,14	52,85
3	52,85	75,33	89,27
4	89,27	95,78	98,41
5	98,41	99,41	

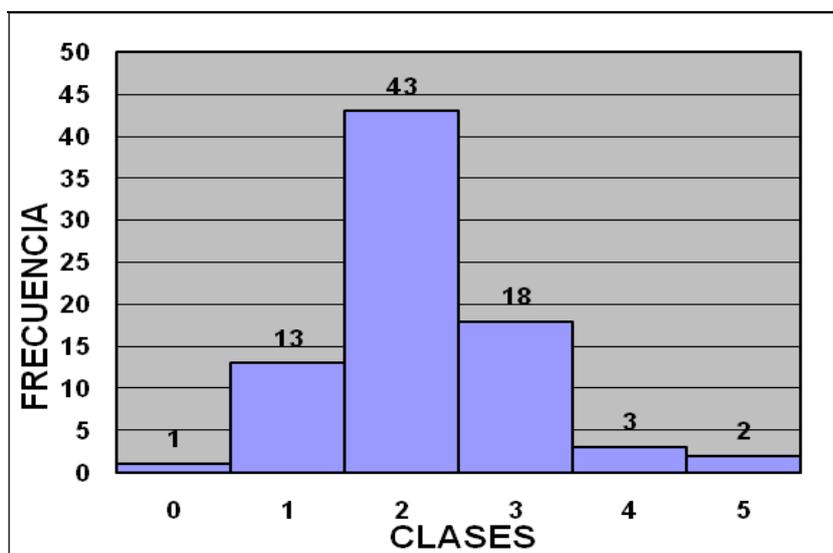


Fig. 2.4. Distribución de frecuencias de severidad de 79 folíolos de soja var. Don Mario 4800 en seis clases de una escala logarítmica diagramática de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

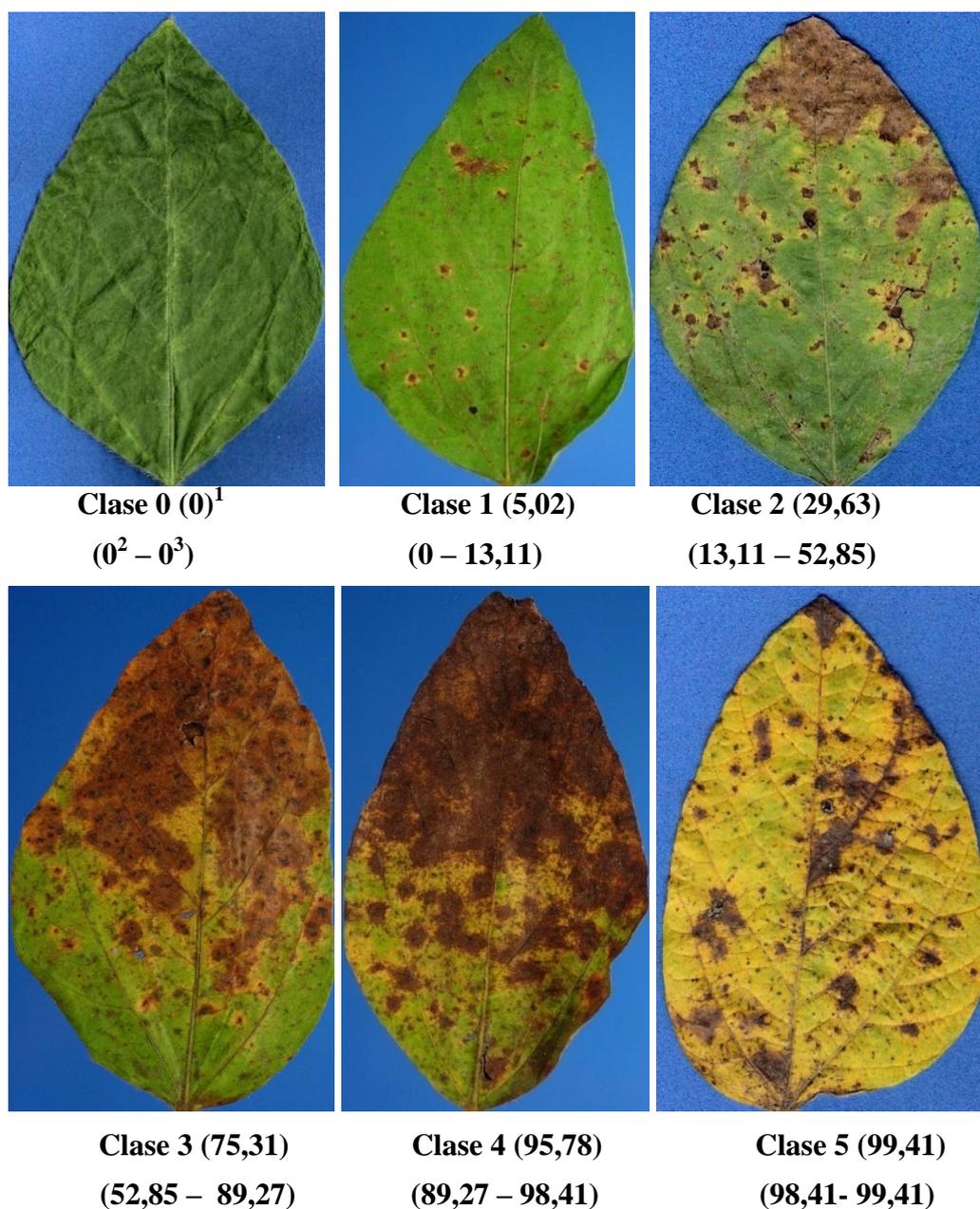


Fig. 2.5. Escala logarítmica diagramática de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja de la variedad Don Mario 4800. Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

1: Punto medio de clase, 2: Límite inferior de clase, 3: Límite superior de clase.

Para mancha ojo de rana se obtuvo también una escala de seis clases (Tabla 2.5). La clase de mayor frecuencia fue la clase número 1 donde se registraron 36 folíolos con severidad entre 1,3% y 1,73%, seguida por la clase 2 con 13 folíolos; en las restantes clases sólo se encontraron entre 1 y 4 folíolos (Fig. 2.6). En los diagramas obtenidos para esta escala se observan las áreas afectadas como lesiones claramente definidas por sus bordes y las variaciones que se reflejan en las mediciones de esas áreas están dadas

por su tamaño. El programa pudo captarlas y diferenciarlas sin inconvenientes y sin necesidad de implementar variaciones en la barra de colores (Fig. 2.6).

Tabla 2.5. Límite inferior, punto medio y límite superior de la escala logarítmica de severidad para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) con seis clases y 11,55 % de severidad máxima Variedad Don Mario 4800, departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

Clases	L. Inferior (%)	P. Medio (%)	L. Superior (%)
0	0	0	0
1	0	1,3	1,73
2	1,73	2,29	3,03
3	3,03	3,99	5,24
4	5,24	6,86	8,93
5	8,93	11,55	

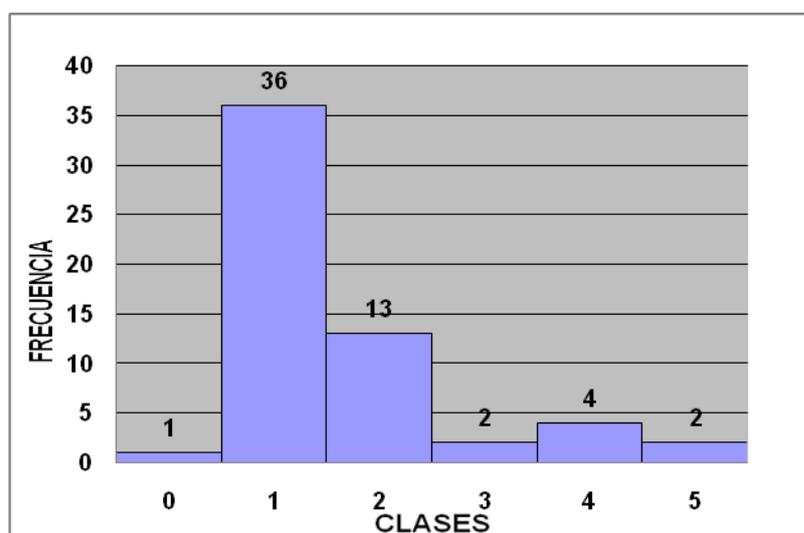


Fig. 2.6. Distribución de frecuencias de severidad de 57 folíolos de soja variedad Don Mario 4800 en seis clases de una escala logarítmica diagramática de severidad para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

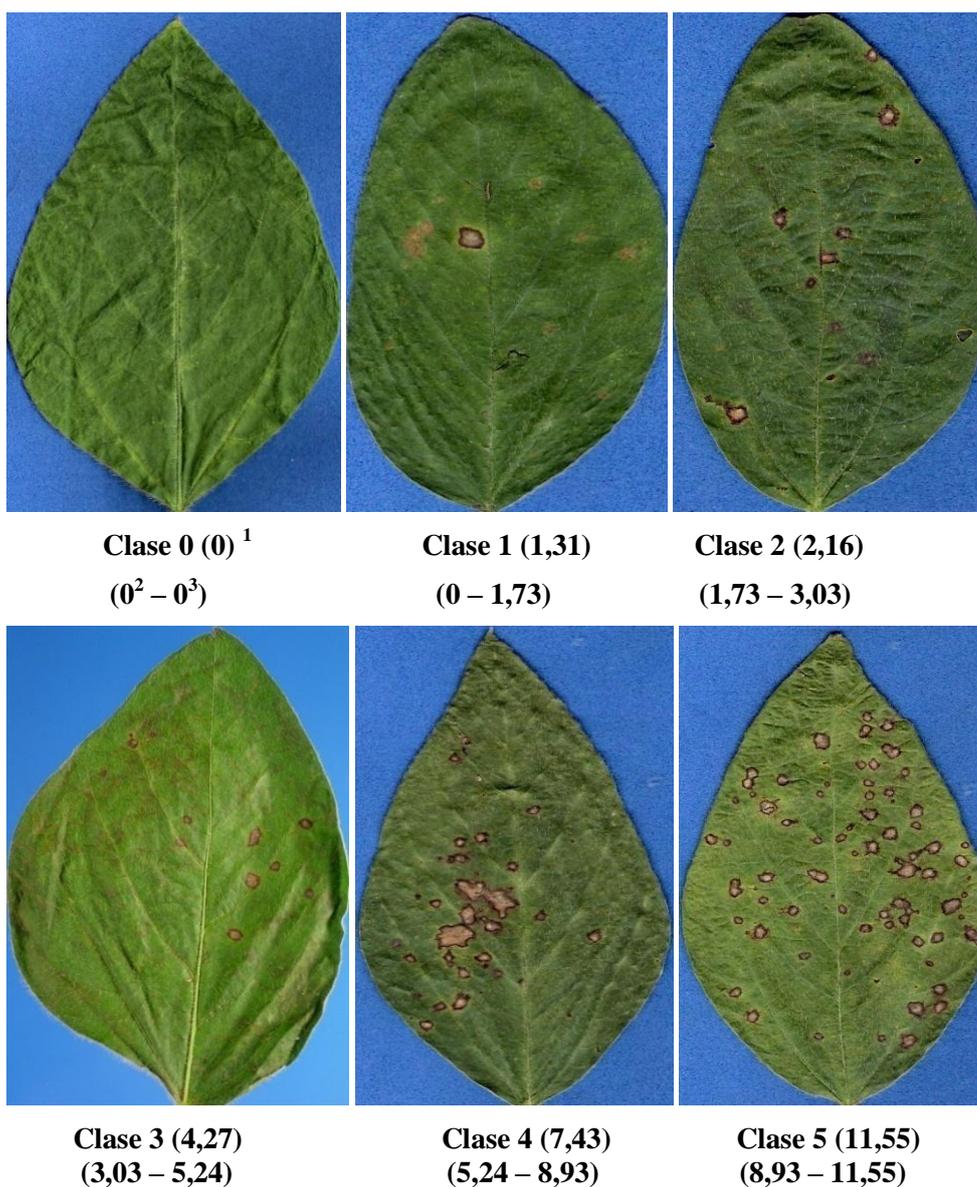


Fig. 2.7. Escala logarítmica diagramática de severidad para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja de variedad Don Mario 4800. Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

1: Punto medio de clase, 2: Límite inferior de clase, 3: Límite superior de clase.

Para mildiú se obtuvo también una escala de seis clases (Tabla 2.6), en la que la clase de mayor frecuencia fue la número 2 con 8 folíolos entre 1,82 y 3,49% de severidad, seguida por la clase 4 con 5 folíolos; mientras que en las restantes clases se encontraron entre 1 y 3 folíolos (Fig. 2.8).

En los diagramas obtenidos para esta escala se observan las áreas afectadas como lesiones pequeñas, numerosas, agrupadas y poco definidas por el color. Para su

medición el programa no pudo captarlas y diferenciarlas aún implementando variaciones en la barra de colores; la escala se confeccionó con las imágenes escaneadas y el área foliar se pudo medir con el método de la hoja milimetrada (Fig. 2.9).

Tabla 2.6. Límite inferior, punto medio y límite superior de la escala logarítmica de severidad para mildiú (*Peronospora manshurica*) con seis clases y 13,42 % de severidad máxima, Variedad Don Mario 4800, departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

Clases	L. Inferior (%)	P. Medio (%)	L. Superior (%)
0	0	0	0
1	0	1,35	1,82
2	1,82	2,45	3,49
3	3,49	4,4	5,87
4	5,87	7,79	10,27
5	10,27	13,42	

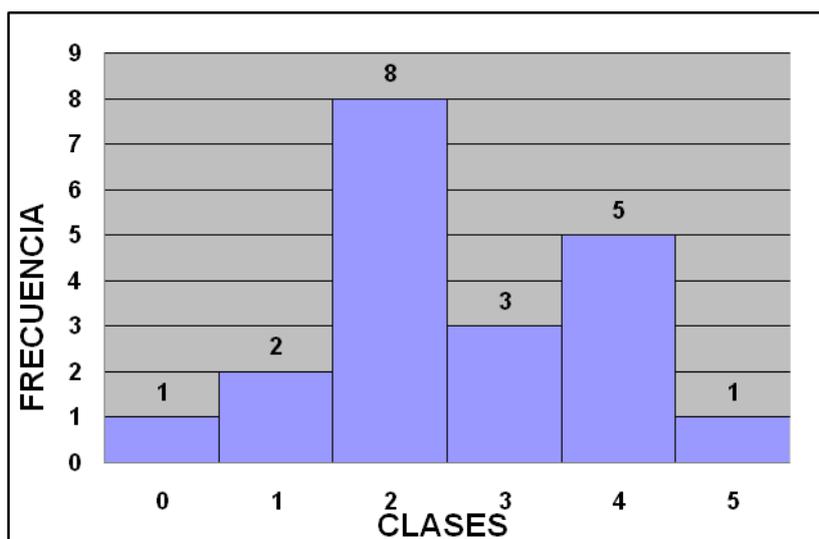


Fig. 2.8. Distribución de frecuencias de severidad de 19 folíolos de soja var. Don Mario 4800 en seis clases de una escala logarítmica diagramática de severidad para mildiú (*Peronospora manshurica*). Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

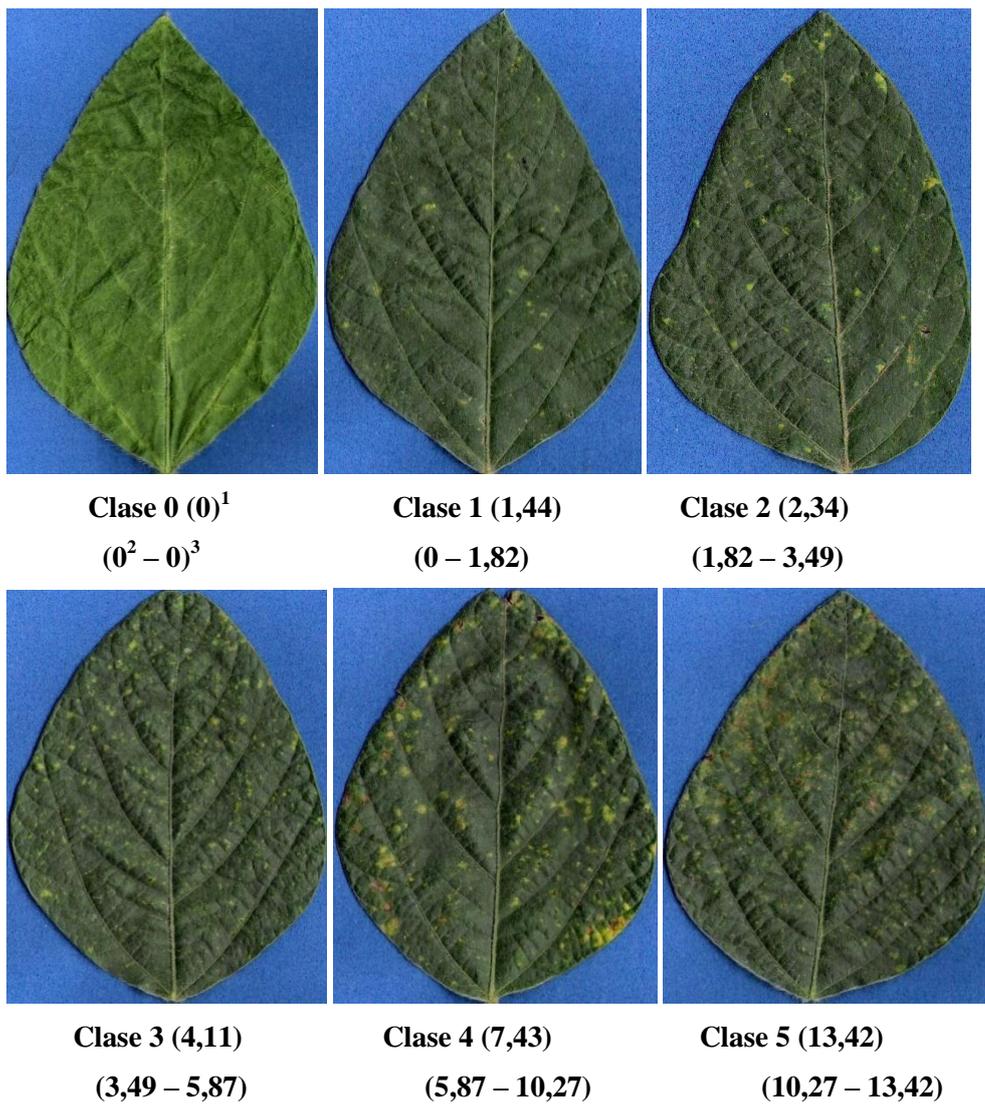


Fig. 2.9. Escala logarítmica diagramática de severidad para mildiú (*Peronospora manshurica*) en folíolos de soja de variedad Don Mario 4800. Departamento Río Cuarto, Córdoba, 2007-2008.

1: Punto medio de clase, 2: Límite inferior de clase, 3: Límite superior de clase.

Discusión

La utilización del método digitalizado mediante el uso del software Assess, permitió medir la severidad de la mancha marrón y mancha ojo de rana en folíolos de soja; sin embargo, no fue posible evaluar la severidad de mildiú a través de esta tecnología. Para esta enfermedad fue necesario utilizar el método de la hoja milimetrada.

La digitalización de imágenes permite un procesamiento rápido de muestras y mayor capacidad para discriminar entre área sana y enferma (Tovar-Soto *et al.*, 2002). Estos autores observaron además mayor precisión en los métodos digitalizados que en los métodos gravimétricos y de áreas conocidas para realizar una escala diagramática para mancha negra en chirimoyo. En el presente trabajo, la discriminación entre el área sana y enferma mediante el uso del programa Assess, pudo concretarse con mayor claridad en la evaluación de la severidad de mancha ojo de rana cuyas lesiones presentan colores bien diferenciados y de bordes definidos (Vallone y Giorda, 1997; Vallone, 2003; Carmona *et al.*, 2004). En la mancha marrón, si bien las áreas afectadas son de mayor tamaño y su coloración va desde el amarillo en la parte externa de las lesiones al marrón en la parte interna (Vallone y Giorda, 1997), también se pudo discriminar entre áreas sanas y enfermas, aunque se necesitó mayor regulación en la barra de colores del programa y sólo en algunos folíolos no pudo medirse con precisión el área afectada. A pesar de ello y de acuerdo con Tovar-Soto *et al.*, (2002), en ambas enfermedades se pudo realizar un procesamiento rápido de las muestras, confirmando que la digitalización de imágenes y el uso del programa Assess, permite una evaluación precisa y rápida de la severidad de mancha marrón y mancha ojo de rana en folíolos de soja.

Al contrario de los resultados obtenidos con mancha marrón y mancha ojo de rana, en el caso de mildiú no fue posible para el programa Assess discriminar adecuadamente entre áreas sanas y enfermas, por lo que fue necesario recurrir al método de la hoja milimetrada que insumió un tiempo considerablemente mayor. Este método, de acuerdo con lo observado por Kranz, (1988), puede estar sujeto a errores en el conteo de las cuadrículas que contienen las lesiones de mildiú, debido a que son muy pequeñas

y dispersas en toda la hoja, y haber disminuido en consecuencia la precisión de las mediciones. Sin embargo, este hecho se minimizó volviendo a evaluar algunos folíolos aunque con un aumento considerable del tiempo de evaluación. Si bien estos procedimientos convierten el método en poco práctico y engorroso, principalmente si hay que evaluar muchas muestras, resulta una alternativa viable y valiosa cuando los síntomas de la enfermedad no permiten el uso de los métodos digitalizados sumado a los métodos computarizados. Si bien la digitalización de imágenes presenta ventajas (Bock *et al.*, 2010), para ponerla en uso, se debe contar con equipamiento y programas que, según lo observado en este trabajo, resultan en una metodología de mayor costo; mientras que con el uso del método de la hoja milimetrada, el único costo elevado fue la impresión de las imágenes digitalizadas.

Las escalas desarrolladas para las tres enfermedades, mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú, tienen seis clases incluyendo la clase de severidad nula. La selección del número de clases de una escala diagramática de severidad, depende según Tovar-Soto *et al.* (2002) de los objetivos del sistema de medición como así también de la capacidad discriminatoria entre clases, que surge de la combinación del número de clases y la severidad máxima. Una de las razones para considerar seis clases fue la finalidad del presente trabajo, en el que se pretende la comprobación del método de desarrollo y validación de escalas y la elaboración de una escala, sin el propósito particular de estimar pérdidas o caracterizar epidemias, donde según Mora Aguilera *et al.* (2000) se necesitan entre 7 y 10 clases en el primer caso y de 5 a 7 en el segundo. La otra razón para la selección del número de clases respondió a la capacidad discriminatoria de cada una de ellas, lo que significa que su amplitud permite al evaluador ubicar fácilmente cada folíolo observado en su respectiva clase.

Después de hacer algunas pruebas preliminares con diferentes números de clases, se observó que el número seleccionado permitía discriminar adecuadamente en el momento de evaluar la severidad para las tres enfermedades. Teniendo en cuenta que una escala debe tener un número suficiente de clases como para poder diferenciar los distintos grados de severidad (Campbell y Madden, 1990), un número menor a seis clases no permitía una correcta discriminación entre folíolos afectados, dado que la amplitud de cada una de ellas resultaba excesiva y generaba una alta concentración de muestras en pocas clases. Por el contrario, no se seleccionó un mayor número de clases,

porque de acuerdo con lo observado por Tovar-Soto *et al.* (2002), no sólo resulta poco práctico y confuso su uso, sino que también, implica poca amplitud de cada una de las clases, y dificulta la tarea de evaluación.

Por otra parte, al analizar los resultados obtenidos en este trabajo y por otros autores en el desarrollo de escalas similares, surge que la mayoría de las escalas propuestas para evaluar severidad de enfermedades en hojas de vid, girasol, lechuga, pimiento, frutilla y chirimoyo entre otras, tienen también entre cinco y siete clases, y logran evaluar exitosamente la enfermedad correspondiente (Leite *et al.*, 2002; Tovar-Soto *et al.*, 2002; Nita *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2005; Michereff *et al.*, 2006). Particularmente en soja, (Martins *et al.* 2004) usaron una escala con cinco clases para evaluar la severidad de macha marrón y tizón de la hoja y mancha púrpura de la soja, sin incluir la clase correspondiente a severidad nula, a diferencia de este trabajo, donde sí es incluida. Posiblemente, este número de clases seleccionado esté relacionado con el valor máximo de severidad alcanzado por las enfermedades que fue de 66.6 %. Para la roya de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*) también se desarrolló una escala de seis clases (Godoy *et al.*, 2006), con un valor máximo de severidad de 78,5% y tampoco, como en el caso de las escalas desarrolladas por Martins *et al.* (2004); se incluyó la clase de severidad nula. Si bien la severidad máxima de mancha ojo de rana y mildiú en este trabajo fue menor a las encontradas por estos autores en soja en las enfermedades señaladas. Se estimó que sería posible trabajar con un menor número de clases. Es importante destacar que se trabajó con seis clases considerando que el porcentaje de defoliación que provoca disminuciones en los rendimientos es bajo, por lo que se necesitan mayor número de clases para poder discriminar eficientemente los distintos grados de severidad. Por otra parte, es común trabajar con escalas de severidad entre cinco y siete clases, aun con valores bajos de severidad, como lo describen Mora Aguilera *et al.* (2000) en una revisión que agrupa distintas escalas desarrolladas por diferentes autores.

Considerando lo analizado, se estima que el número de clases seleccionado en este trabajo fue adecuado.

Conclusiones

- La medición precisa de la severidad de mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú en folíolos de soja depende del tipo de síntomas que presenta cada enfermedad.
- La forma, color y tamaño de las lesiones son las principales características a tener en cuenta para la selección del método para cuantificar la severidad.
- La digitalización de imágenes y el programa Assess permitieron una evaluación precisa y rápida de la severidad de mancha marrón y mancha ojo de rana en folíolos de soja, ya que pueden diferenciar claramente el área foliar afectada por las enfermedades de la sana.
- El programa Assess no fue eficiente para evaluar la severidad de mildiú en folíolos de soja.
- El uso del método de la hoja milimetrada permitió la evaluación precisa de la severidad del mildiú en folíolos de soja, aunque fue más lento y dificultoso que el programa computarizado.
- El número de clases seleccionadas para las escalas de las tres enfermedades, mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú, en folíolos de soja permitió discriminar correctamente entre distintos grados de severidad.

Bibliografia

- AutoCAD Drawing Viewer ver.2.0. 1998 . SkySof Software Inc.
- Berger, R. 1980. Measuring disease intensity. En: Proc. E. C. Stakman Commemorative Symposium on Crop Loss Assessment. P.S. Teng, and S.V. Krupta, (eds.). Univ. of Minnesota Misc. Publ. 7. St Paul. pp. 28-31.
- Bock, C., Poole, G., Parker, P., and Gottwald, T. 2010. Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 29(2): 59-107.
- Campbell, C.L. and Madden, L.V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons, New York, USA. pp. 532.
- Carmona, M., Gally, M., Grijalba, P., Sugia, V., & Jaeggi, E. 2004. Frequency and chemical control of causal pathogens of soybean late season diseases in the Pampeana Region. VII World Soybean Research Conference, IV International Soybean Processing and Utilization Conference, III Congreso Mundial de Soja. Foz de Iguazú. Brasil. 159.I.
- Fehr, W.R., and Caviness, C.E. 1977. Stages of soybean development. Iowa St. Univ. Special Report 80. pp.11
- Gomes, A.M.A., Michereff, S.J. & Mariano, R.L.R. 2004. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alfaca. *Summa Phytopathologica, Botucatu*, 30 (1): 39-43.
- Godoy, C., Koga, L. & Canteri, M. 2006. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatologia Brasileira* 31: 063-068.
- Hernández-Martínez, M., Tovar- Soto A., Cristóbal-Alejo, J., Romero- Hijo, R. y Mora Aguilera, G. 1999. Escala diagramática de severidad para el patosistema chirimoyo (*Annona cherimola*)- mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides*). En: *Memorias X Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. Guadalajara, Jalisco, México. pp. 288.
- Horsfall, J.G., and Barrat, R.W. 1945. An improving grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 665.
- Jaraba, N.J., Aguilar, R.G., Gutiérrez, A.H., Chavarin, P.J. y Mora Aguilera G. 1999. Elaboración y validación de una escala diagramatizada para la roya blanca del crisantemo (*Puccinia horiana* Henn) en Crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). En: *Memorias X Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. Guadalajara, Jalisco, México. pp. 292.
- Kranz J. 1988. Measuring plant disease. En: *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology* J Kranz, and J. Rotem J., (eds.). Springer-Verlag, New York. pp. 35-50.
- Lamari, L. 2005. *ASSESS: Image Analysis Software for Plant Diseases*. St Paul, MN, USA: APS Press. pp.1-119.
- Large, E.C. 1966. Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 4: 9:28
- Leite, R.M.V.B.C. & Amorim, L. 2002. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. *Summa Phytopathologica, Botucatu*, 28 (1): 14-19.
- Martins, M.C., Guerzoni, R.A., Câmara, G.M.S., Mattiazzi, P., Lourenço, S.A. & Amorim, L. 2004. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia Brasileira, Fortaleza*, 29 (2): 179-184.

- Michereff, S.J., Andrade, D.E.G.T. & Noronha, M.A. 2006. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade do carvão da folha do caupi. *Summa Phytopathologica* 32 (3): 51-56.
- 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 computadorizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. En: XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola, Puerto Vallarta México. pp. 1-9.
- Nascimento, A.R.P., Michereff, S.J., Mariano, R.L.R. & Gomes, A.M.A. 2005. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 31 (1): 59-64.
- Navarro, J.R. y Arauz, L.F. 1999. Exactitud y repetibilidad de dos métodos para la evaluación de la severidad de enfermedades fungosas en el fruto de la papaya (*Carica papaya*). *Agronomía Costarricense* 23(1): 89-96.
- Nita, M., Ellis, M.A. and Madden, L.V. 2003. Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology* 93 (8): 995-1005.
- Nutter, F.W., and Schultz, P.M. 1995. Improving the accuracy and precision of disease assessments: Selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 17: 174-184.
- Osada-Velásquez., H. K. y Mora Aguilera, G. 1997. 2LOG Programa para desarrollar escalas de severidad por el método Horsfall y Barratt. Manual del Usuario. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.
- Sherwood, R. T., Berg, C.C., Hoover, M.R., and Zeider, K.E. 1983. Illusions in visual assessment of *Stangonospora* leaf spot of orchardgrass. *Phytopathology* 73: 173-177.
- Tovar-Soto, A., Hernández-Martínez, M., Cristóbal-Alejo, J., Romero, Hijo, R. y Mora-Aguilera, G. 2002 Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill). *Revista Mexicana de Fitopatología*, Sonora, 20 (1):103-109.
- Vallone, S y Giorda, L. 1997. Enfermedades. En: El Cultivo de la Soja en Argentina. Giorda, L y Baigorri H., (eds.). pp. 214-244.
- Vallone, S. 2003. Enfermedades de Soja. En: El Libro de la Soja. E. Satorre, (ed.). pp. 123-132.
- Van Schoonhoven, A y Pastor Corrales, M.A. 1987. Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de Frijol. Publicación especial. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. pp. 56.
- Zadoks J.C., and Schein R.D. 1979. *Epidemiology and Plant Disease Management*, Oxford University Press, New York. pp. 427.

CAPÍTULO 3

VALIDACIÓN DE ESCALAS LOGARÍTMICAS DIAGRAMÁTICAS DE SEVERIDAD PARA MANCHA MARRÓN (*Septoria glycines*), MANCHA OJO DE RANA (*Cercospora sojina*) y MILDIÚ (*Peronospora manshurica*) EN EL CULTIVO DE SOJA

Introducción

Las escalas para evaluación de severidad deben ser validadas antes de ser propuestas como un método de cuantificación de enfermedades, y en caso que los resultados sean insatisfactorios, deberán ser corregidas (Martins *et al.*, 2004). Las escalas de severidad de EFC de la soja usadas en Argentina son escalas *ad hoc*, desarrolladas con un objetivo específico, evaluar el comportamiento de cultivares, monitoreos o cuantificar la eficiencia de fungicidas (Formento 2001; Astegiano *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 2004; Pérez Fernández *et al.*, 2005; Ivancovich y Botta, 2006; Pérez Fernández *et al.*, 2005; Vallone *et al.*, 2002, 2006) pero nunca extendidas a un uso general o incluso validadas formalmente. Esto dificulta marcadamente las comparaciones entre estudios similares efectuados por el mismo o distintos investigadores e incluso por el mismo investigador. No se han desarrollado en Argentina escalas de severidad para las EFC de soja que hayan sido validadas por la concurrencia de grupos de evaluadores.

Además de la correcta elaboración de las escalas, es importante tener en cuenta que la utilización de las mismas depende de la experiencia y de la percepción visual de cada evaluador, por lo que la precisión y la exactitud variarán con cada evaluador. Por este motivo, las evaluaciones pueden estar sujetas a cierto grado de subjetividad, que puede ser minimizado con el entrenamiento de los evaluadores (James y Teng, 1979).

Una manera de disminuir el grado de subjetividad, es seleccionando un sistema de medición que permita aproximar el valor de severidad estimada al valor de severidad real (Mora Aguilera *et al.*, 2000). La severidad real es aquella que se obtiene mediante métodos digitalizados o visuales, que determinan la relación exacta entre área enferma y área total, y se expresa como porcentaje. La severidad estimada es aquella que obtienen los evaluadores mediante el análisis de imágenes o folíolos vivos con o sin el auxilio de una escala.

Para que una escala sea validada, se deben considerar tres parámetros, exactitud, precisión y reproducibilidad. La exactitud implica que las estimaciones realizadas por el evaluador deben ser lo más cercanas al valor verdadero de intensidad de la enfermedad. La precisión hace referencia a que las estimaciones efectuadas por un mismo evaluador deben tener un pequeño y similar rango de variación respecto a un número repetible de eventos. La reproducibilidad significa que las mediciones realizadas por distintos evaluadores deben tener poca variación (Campbell y Madden, 1990). Para poder evaluar estas tres propiedades se recurre a la regresión lineal, que proporciona un poderoso método para cuantificar el grado de error debido a los evaluadores o al propio método de valoración. El análisis de la regresión lineal, se utiliza para determinar la precisión y exactitud relativa de una valoración visual (Nutter *et al.*, 1993)

Mediante el uso de la severidad real y estimada por distintos métodos, diversos autores han elaborado y validado escalas en girasol (Leite, 2002), chirimoyo (Tovar-Soto *et al.*, 2002), frutilla (Nita *et al.*, 2003), soja (Martins *et al.*, 2004), lechuga (Gomes *et al.*, 2004), vid (Nascimento *et al.*, 2005) y pimiento (Michereff *et al.*, 2006), que han sido empleadas con éxito para evaluación de cultivares, pérdidas de cosecha y evaluación de fungicidas.

De acuerdo con lo expresado, en este trabajo se planteó como objetivo validar las escalas diagramáticas de severidad para mancha marrón (*Septoria glycines*), mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) y mildiú (*Peronospora manshurica*) de la soja, mediante la valoración de la exactitud, precisión y reproducibilidad de los evaluadores.

Materiales y métodos

Validación de escalas logarítmicas diagramáticas de severidad para mancha marrón, mancha ojo de rana y mildiú

Para validar las escalas se seleccionó un grupo de 10 evaluadores, algunos de los cuales tenían experiencia en la utilización de escalas, aunque no específicamente de las tres enfermedades en estudio. Los evaluadores estimaron visualmente la severidad de las tres enfermedades, a partir de imágenes individuales y coloridas de folíolos donde se mostraban los síntomas de cada enfermedad, con distintos grados de severidad real.

Severidad real: se utilizaron los datos de la severidad real de cada folíolo medida con el programa Assess (Lamari, 2005), en el caso de mancha marrón y mancha ojo de rana, y con el método de la hoja milimetrada en el caso de mildiú (ver Capítulo II).

Se usaron las imágenes de 49 folíolos para mancha marrón y mancha ojo de rana y de 19 folíolos para mildiú, cuyos valores de severidad real figuran en las Tablas 2.1, 2.2 y 2.3 respectivamente.

Severidad estimada sin escala: Para obtener estos datos, se usaron las imágenes de los folíolos con severidad real conocida, pero oculta para los evaluadores. Cada imagen se proyectó individual y sucesivamente sobre una pantalla ubicada en frente de los evaluadores. Cada uno de ellos realizó entonces una primera estimación sin el auxilio de la escala, adjudicándole un valor de severidad a cada folíolo.

Severidad estimada con escala: A continuación de la evaluación sin escala, a cada evaluador se le entregó una copia de la escala de mancha marrón y se proyectaron nuevamente las imágenes de folíolos con esa enfermedad y el evaluador estimó la primera evaluación con escala. El mismo procedimiento se siguió para las restantes enfermedades.

La segunda evaluación con escala se realizó a los cinco meses de la primera y a cada evaluador se les entregó una copia de cada escala dos días antes para que pudieran observarla detenidamente y familiarizarse con los distintos grados de severidad.

Una vez obtenidos los valores de severidad real y estimada se determinó la exactitud, precisión y reproducibilidad de cada evaluador mediante el uso de regresiones lineales simples, metodología propuesta por distintos investigadores (Nutter y Schultz, 1995; Mora Aguilera *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2004; Michereff *et al.*, 2006). El modelo de relación lineal se expresa como $Y = a + bx$, donde Y es la variable dependiente, en este caso representada por la severidad estimada; x es la variable independiente, representada por la severidad real. Los parámetros a , b y el coeficiente R^2 de la regresión lineal son utilizados para comparar los métodos de evaluación y los evaluadores.

El parámetro a representa el intercepto de la regresión lineal, para verificar la hipótesis nula $H_0: a=0$; el parámetro b que es el coeficiente angular de la recta, para verificar hipótesis nula $H_0: b=1$ y el coeficiente de determinación R^2 mide la proporción de la variación en los valores de Y que es explicada por su relación con x y su valor debe ser lo más próximo a uno. También se tiene en cuenta como parámetro la varianza de los errores absolutos (severidad estimada-severidad real) (Michereff *et al.*, 2006; Infostat, 2008). Si los valores de a están por encima de cero, indican que los evaluadores tienen tendencia a sobreestimar los valores de severidad real, y si están por debajo de cero indican que la tendencia es a subestimar. Si los valores de a difieren significativamente de cero, implica que los evaluadores están incurriendo en desvíos constantes (Gomes *et al.* 2004; Nascimento *et al.*, 2005; Michereff *et al.*, 2006). Por otro lado, si los valores del parámetro b difieren de uno, indican sobreestimación si están por encima de dicho valor, y subestimación si están por debajo, y que dicho desvío es de tipo sistemático y en todos los niveles de severidad de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990; Nutter y Schultz, 1995; Michereff *et al.*, 2006). El valor de R^2 igual a uno indica que cada valor de severidad estimado por cada evaluador se corresponde exactamente con el valor de la severidad real. En lo que respecta a los errores absolutos, expresan la diferencia entre la severidad estimada y la real, estos desvíos deben encontrarse dentro de la franja del 10% para considerar que un evaluador es bueno, y deben ser menores de 5% para considerarlo excelente (Nutter y Worawitlikit, 1989).

Para determinar la exactitud de cada evaluador se utilizó el test T aplicado al coeficiente lineal a , y al coeficiente angular b de la recta de regresión lineal obtenida entre la severidad real como variable independiente y la severidad estimada como variable dependiente, para cada evaluador (Infostat, 2008).

La precisión de cada evaluador se estimó mediante el coeficiente de determinación R^2 de la recta de regresión obtenida entre la severidad real y la severidad estimada, por la varianza de los errores absolutos y por la repetitividad de las estimaciones. La repetitividad de las estimaciones de cada evaluador se determinó mediante una regresión lineal entre la severidad estimada por los evaluadores en la segunda evaluación con escala en función de la primera evaluación con escala, y trabajando sobre una misma unidad muestral, es decir sobre un mismo folíolo. Para medir la repetitividad se utilizó una prueba T aplicada a los coeficiente lineal a y al coeficiente angular b estimados por la regresión lineal, y el coeficiente de determinación R^2 (Infostat, 2008).

La reproducibilidad entre evaluadores se determinó mediante el coeficiente de determinación R^2 que surgió de las regresiones lineales entre la severidad estimada de una misma unidad muestral, o folíolo, por los diferentes evaluadores comparados de a pares. La reproducibilidad se midió en las instancias de evaluación de la severidad sin escala, primera evaluación con escala y segunda evaluación con escala, para mancha marrón y mancha ojo de rana.

Resultados

Validación de escalas logarítmicas diagramáticas de severidad para mancha marrón

Exactitud: Los valores de a obtenidos para la regresión entre severidad real y severidad estimada sin escala variaron de 0,86 a 14,46, con un valor promedio de 8,7; el valor de b varió de 0,59 a 0,96 con un valor promedio de 0,72; los valores de R^2 variaron de 0,39 a 0,86 con un valor promedio de 0,68 (Tabla 3.1).

Los valores de a obtenidos en la regresión entre los valores de severidad real y la primera evaluación con escala variaron de 26,95 a 6,55 con un valor promedio de 14,9; los valores de b variaron de 0,94 a 0,72 con un valor medio de 0,82, y los valores de R^2 variaron de 0,69 a 0,85 y el valor promedio 0,77 (Tabla 3.1).

Los valores de a para la segunda evaluación con escala variaron de 0,56 a 12,14 con un valor promedio de 6,31, los valores de b variaron de 0,80 a 1,09 con un valor promedio de 0,97 y R^2 varió de 0,65 a 0,9 con un promedio de 0,82 (Tabla 3.1).

En los valores del intercepto de la regresión lineal a , entre la severidad real y el valor de severidad estimada sin escala, se observa que dicho valor fue significativamente diferente de cero en el 80% de los casos (Tabla 3.1). Dicho patrón se repitió en todos los evaluadores cuando utilizaron la escala en la primera evaluación, donde 100% de los casos a fue diferente de cero, mientras que en la segunda evaluación con escala, el 60% de los evaluadores obtuvieron valores de a significativamente distintos de cero. Esto implica una corrección respecto a las dos evaluaciones anteriores, con valores promedios de a de 8,7; 14,9 y 6,31 para las evaluaciones sin escala, primera evaluación con escala y segunda evaluación con escala, respectivamente. La mayoría de los evaluadores tuvo una marcada tendencia a sobreestimar la severidad, fundamentalmente para valores bajos de severidad real, aunque en algunos casos la tendencia se mantuvo a lo largo de toda la evaluación. Muchos evaluadores sobreestimaron hasta el 50% de la severidad y a partir de ese punto subestimaron los valores de severidad. Solo el evaluador 2 y el 5 subestimaron la severidad cuando no utilizaron escala (Fig. 3.1).

Con respecto al valor de coeficiente angular de la recta b , en el 100% de los casos y para las tres evaluaciones, sin escala y con escala primera y segunda evaluación, dicho coeficiente no difirió significativamente de uno, se advirtió además una corrección cuando las evaluaciones fueron realizadas con escala, con valores medios de 0,82 y 0,97 para la primera y segunda evaluación respectivamente, comparada con la evaluación sin escala, que tuvo un valor promedio de 0,72 (Tabla 3.1).

Precisión: El coeficiente de determinación de la regresión lineal, R^2 , mostró que en las evaluaciones sin escala, 40% de los evaluadores alcanzaron valores superiores al 75%, en la primera evaluación con escala 60% de ellos lo superaron y en la segunda evaluación 80% de los evaluadores superó dicho valor. Los valores promedio para dicho coeficiente fueron 0,68, 0,77 y 0,82; respectivamente, para cada una de las evaluaciones (Tabla 3.1). Estos resultados indican el mejor comportamiento de los evaluadores en las sucesivas evaluaciones al utilizar la escala como herramienta de evaluación.

Tabla 3.1. Intercepto (a), coeficiente angular (b) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simples obtenidas a partir de la estimación visual de 10 evaluadores sin y con el auxilio de la escala diagramática de severidad para la mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja.

Evaluador	Sin Escala			Con Escala					
	a	b	R^2	1ª Evaluación			2ª Evaluación		
	a	b	R^2	a	b	R^2	a	b	R^2
1	8,01 *	0,96	0,85	26,27*	0,91	0,74	3,46	1,07	0,88
2	0,86	0,60	0,83	6,55*	0,70	0,80	6,10*	0,92	0,9
3	7,61*	0,77	0,82	11,14*	0,81	0,85	12,0*	0,93	0,85
4	14,46*	0,63	0,39	26,95*	0,94	0,70	2,76	1,09	0,88
5	2,08	0,80	0,72	14,35*	0,75	0,69	11,87*	0,85	0,76
6	9,71*	0,56	0,59	8,24*	0,80	0,81	12,14*	1,04	0,85
7	10,05*	0,64	0,61	15,5*	0,87	0,81	2,55	1,08	0,87
8	14,21*	0,83	0,86	15,09*	0,72	0,79	8,35*	0,91	0,87
9	10,37*	0,59	0,43	9,19*	0,81	0,81	10,0*	0,96	0,72
10	9,27*	0,87	0,65	15,84*	0,91	0,70	0,56	0,80	0,65
Media	8,70	0,72	0,68	14,9	0,82	0,77	6,31	0,97	0,82

* Representa situaciones donde la hipótesis nula ($H_0: a=0$ o $H_0: b=1$) fueron rechazadas por el test T ($p=0,05$)

Los gráficos a continuación muestran los resultados de las regresiones lineales entre la severidad real como variable independiente y la severidad estimada como variable dependiente con línea continua, representándose con línea discontinua la

situación ideal, es decir con un valor de $a=0$ y un valor de $b=1$, para las tres instancias de evaluación (Fig. 3.1, 3.2, 3.3, 3.4).

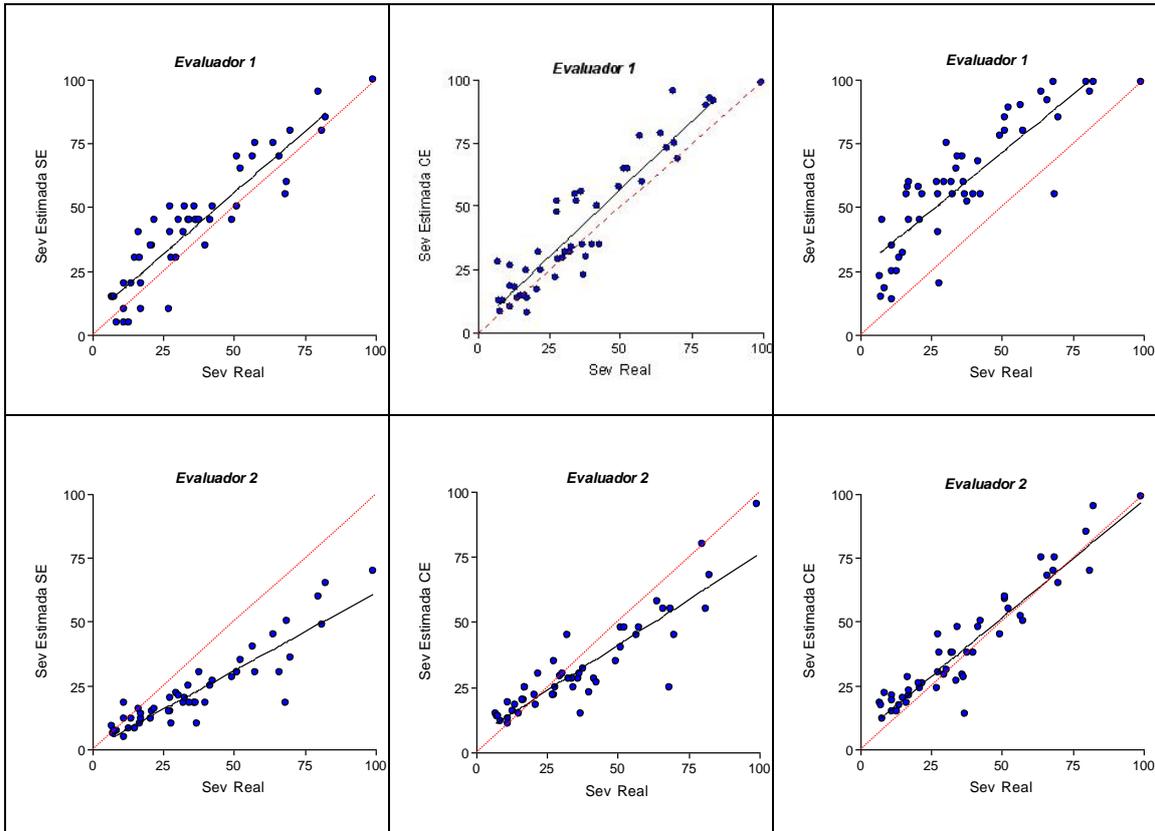


Fig. 3.1. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 2 de los 10 evaluadores, para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

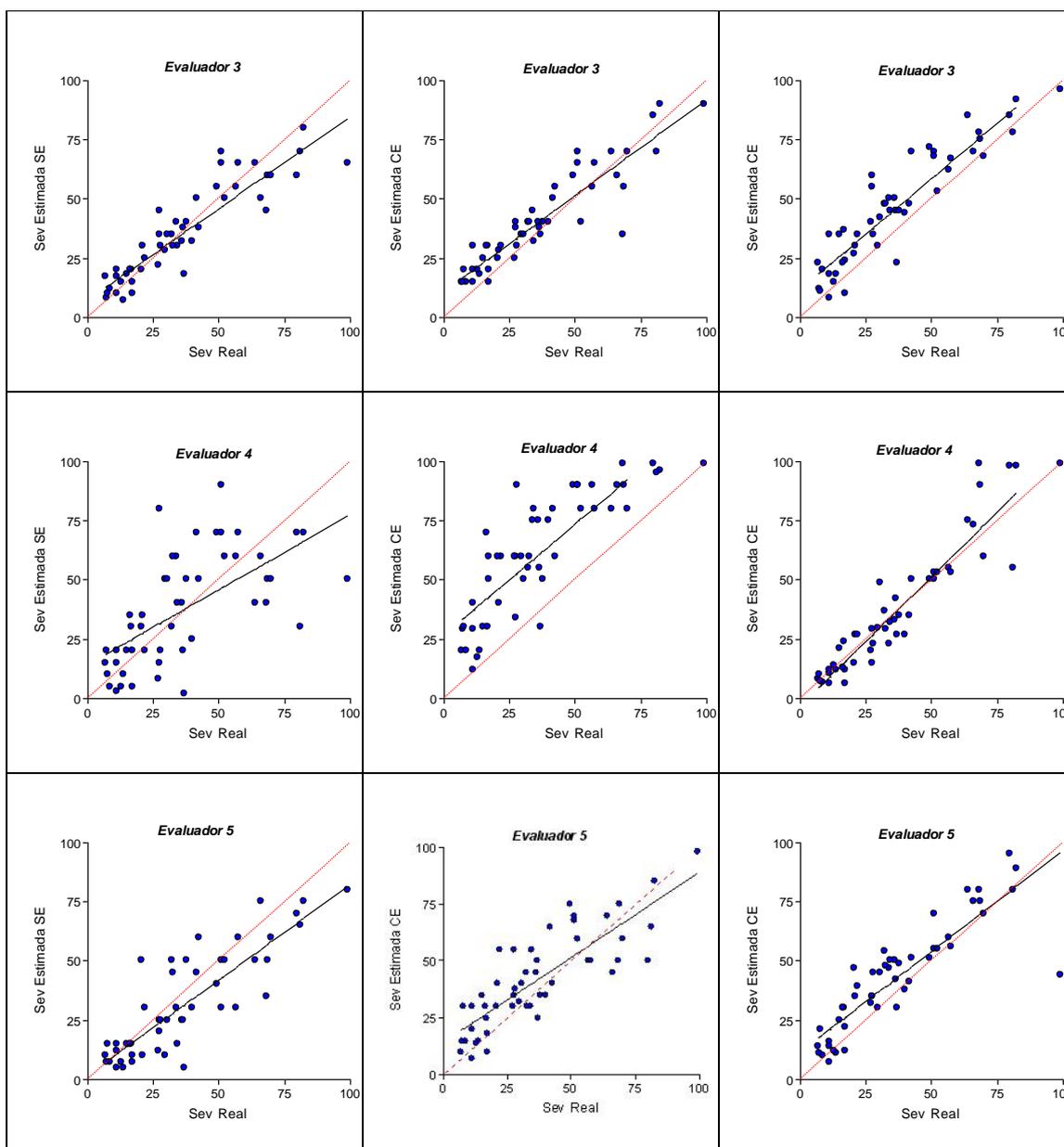


Fig. 3.2. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 3 de los 10 evaluadores, para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

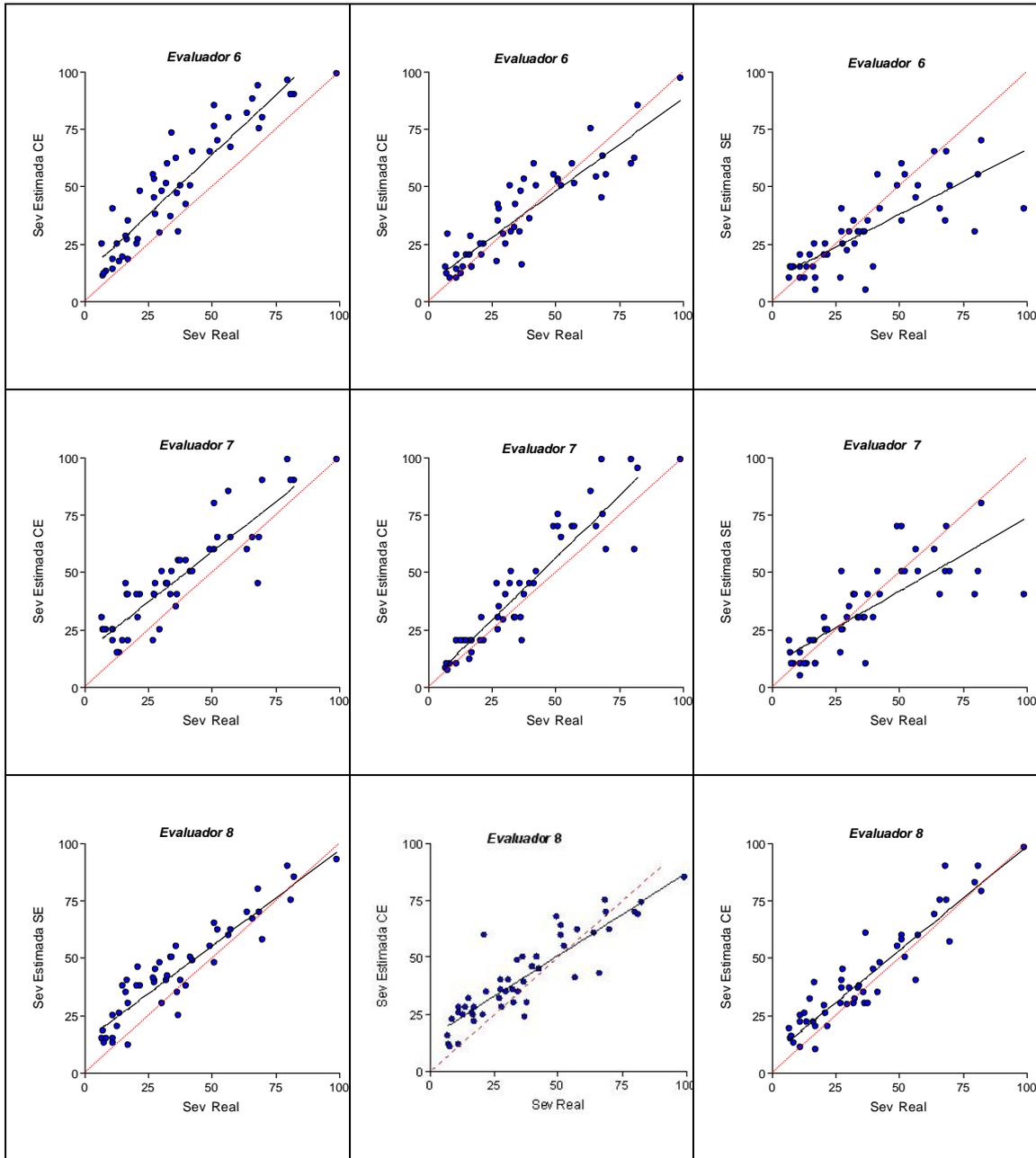


Fig. 3.3. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 3 de los 10 evaluadores, para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

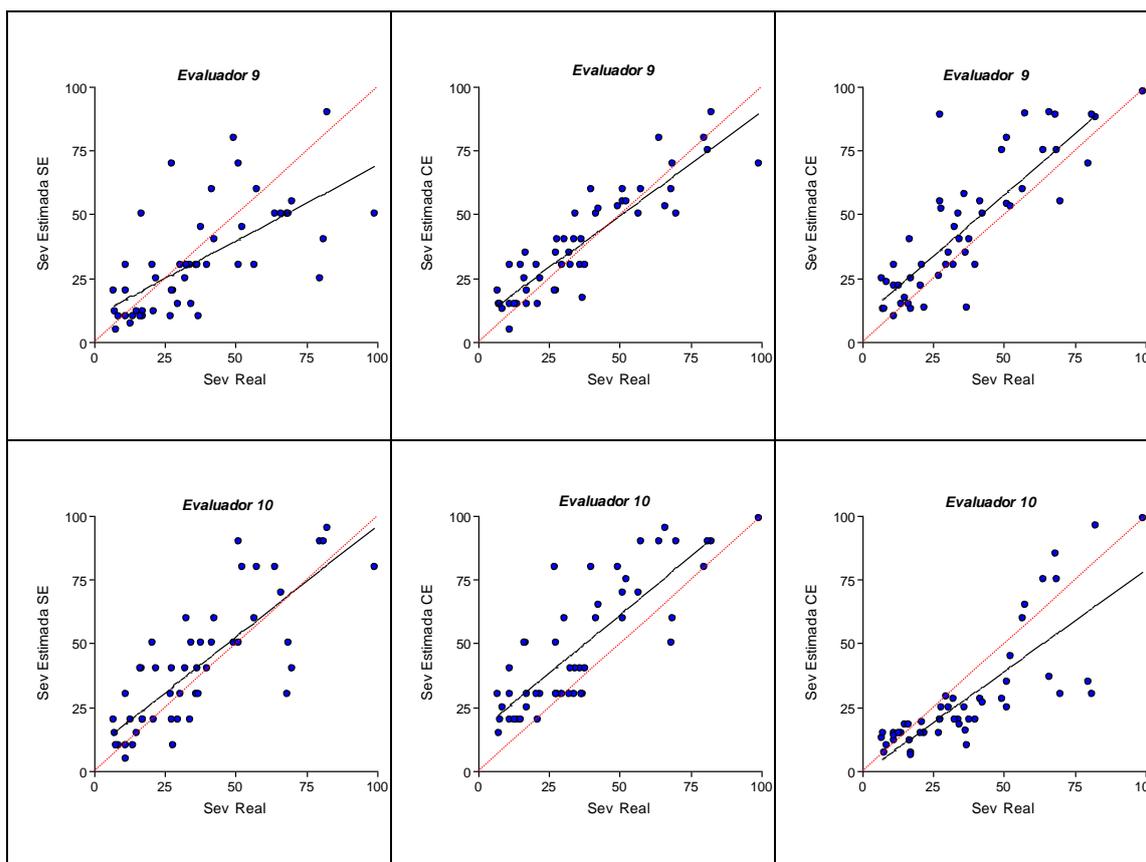


Fig. 3.4. Regresiones lineales entre la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 2 de los 10 evaluadores para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

En lo referido a la repetitividad de los evaluadores, los valores de a variaron entre -11,14 y 8,99, con un valor medio de 5,55; los valores de b variaron entre 0,58 y 1,12 con un valor medio de 0,90. Los valores de R^2 variaron entre 0,41 y 0,85, con un valor promedio de 0,63 (Tabla 3.2). Teniendo en cuenta estos resultados, los evaluadores no evidenciaron buena repetitividad en las evaluaciones con escala, sin embargo, 90% de los evaluadores obtuvieron valores de a que no difirieron significativamente de cero y 100% valores de b que no difirieron de uno.

Tabla 3.2. Intercepto (a), coeficiente angular (b) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simple, relacionando la segunda y primera evaluación, por un mismo evaluador con el auxilio de la escala diagramática para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja.

Evaluador	a	b	R^2
1	-7,82	0,61	0,43
2	4,01	1,12	0,8
3	2,89	1,06	0,85
4	8,99	0,81	0,58
5	10,07*	1,07	0,57
6	-11,14	0,79	0,71
7	-3,34	0,96	0,64
8	-0,67	1,02	0,72
9	6,34	1	0,63
10	0,23	0,58	0,41
Media	5,55	0,902	0,634

* Representa situaciones donde la hipótesis nula ($H_0: a=0$ o $H_0: b=1$) fueron rechazadas por el test T ($p=0,05$)

Los errores absolutos o residuos que son la diferencia entre la severidad estimada y la real, varían de 59,58 a 52,7 con la evaluación sin escala. En la primera evaluación con escala los residuos variaron entre -43,39 y 61,89, y para la segunda evaluación entre -55,28 y 61,56 (Fig. 3.5). Se observa además que los errores de los evaluadores en la evaluación sin escala se concentraron fundamentalmente en la franja del 30% de los residuos; mientras que en la primera y segunda evaluación con escala se advierte una menor dispersión de los residuos, concentrándose principalmente en la franja del 20% de los residuos.

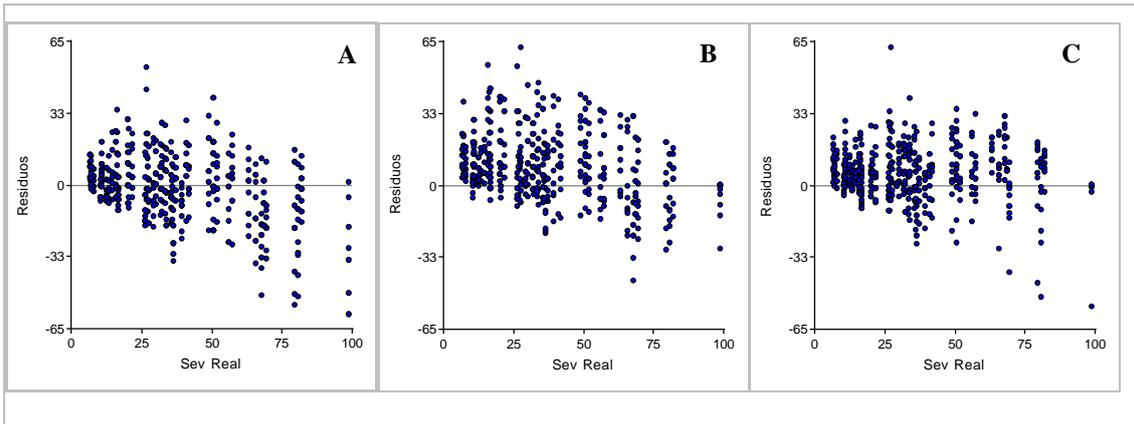


Fig. 3.5. Distribución de los residuos (severidad estimada-severidad real) en función de la severidad real, obtenidos sin el auxilio de la escala diagramática, y con el auxilio de la escala diagramática en la primera y segunda evaluación para mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja: **A**: Evaluación sin escala. **B**: 1ª Evaluación con escala. **C**: 2ª Evaluación con escala.

Reproducibilidad: Al comparar las estimaciones de severidad entre pares de evaluadores se obtuvieron valores de R^2 que variaron entre 0,38 y 0,87 para la evaluación sin escala (Tabla 3.3). En la primera evaluación con escala los valores de R^2 variaron de 0,53 a 0,82 (Tabla 3.4) y en la segunda evaluación con escala los valores de R^2 variaron de 0,44 a 0,89. Sólo un 16% de las comparaciones presentó valores mayores de 0,75 sin el uso de la escala (Tabla 3.3), en la primera evaluación con escala también un 16% arrojó valores por encima de 0,75 (Tabla 3.4), por lo que no se evidenciaron correcciones de este parámetro con respecto a la evaluación realizada sin escala. Sin embargo en la segunda evaluación con escala la reproducibilidad aumento y 26% de evaluadores obtuvieron valores por encima de 0,75. (Tabla 3.5).

Tabla 3.3. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión simple entre pares de evaluadores de mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad sin auxilio de la escala diagramática.

Evaluador	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,76	0,78	0,49	0,74	0,6	0,59	0,81	0,42	0,69
2		0,75	0,4	0,67	0,57	0,55	0,73	0,38	0,67
3			0,62	0,67	0,8	0,83	0,74	0,61	0,7
4				0,44	0,57	0,7	0,48	0,58	0,45
5					0,58	0,56	0,66	0,51	0,68
6						0,87	0,6	0,7	0,5
7							0,62	0,73	0,53
8								0,42	0,58
9									0,58

Tabla 3.4. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión simple entre pares de evaluadores de mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja para evaluaciones de severidad, para la primera evaluación con auxilio de la escala diagramática.

Evaluador	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,6	0,67	0,69	0,56	0,6	0,65	0,63	0,66	0,63
2		0,8	0,53	0,62	0,77	0,74	0,73	0,67	0,58
3			0,61	0,71	0,82	0,82	0,72	0,79	0,69
4				0,6	0,61	0,61	0,63	0,72	0,55
5					0,8	0,6	0,73	0,65	0,47
6						0,72	0,64	0,78	0,58
7							0,56	0,7	0,65
8								0,71	0,53
9									0,68

Tabla 3.5. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión simple entre pares de evaluadores de mancha marrón (*Septoria glycines*) en folíolos de soja para evaluaciones de severidad, para la segunda evaluación, con auxilio de la escala diagramática.

Evaluador	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,85	0,86	0,81	0,74	0,85	0,82	0,8	0,82	0,65
2		0,86	0,86	0,74	0,84	0,86	0,8	0,72	0,69
3			0,8	0,76	0,85	0,84	0,78	0,81	0,6
4				0,76	0,79	0,89	0,81	0,65	0,75
5					0,79	0,75	0,67	0,61	0,44
6						0,85	0,73	0,7	0,54
7							0,77	0,71	0,71
8								0,71	0,59
9									0,56

Validación de escalas logarítmicas diagramáticas de severidad para mancha ojo de rana

Exactitud: En lo relacionado a este parámetro, y los valores de a para la evaluación sin escala, variaron de 0,94 a 4,45 con un valor promedio de 2,2, el valor de b fue de 0,91 a 3,62 con valor promedio de 2. Para la primera evaluación con escala los valores de a variaron entre 0,99 a 1,59 con un valor promedio de 1,3; los valores de b de 0,77 a 0,90 con un promedio de 0,85. En la segunda evaluación con escala los valores de a variaron de 0,83 a 2,66 y un promedio de 1,3, los valores de b variaron de 0,76 a 0,98 con un valor promedio de 0,88. (Tabla 3.6). Al aplicar el test T al intercepto de la regresión lineal simple a , se encontró que en 90% de los casos el valor de a fue significativamente distinto de cero cuando no se utilizó escala y en la primera y segunda evaluación con escala el 100% de los casos a fue significativamente diferente de cero (Tabla 3.6). Sin embargo, si se comparan las tres evaluaciones y si bien no se cumple la $H_0: a = 0$, es posible advertir gráficamente que todos los evaluadores a excepción del evaluador 2 y 5, mejoraron el valor de a cuando estimaron la severidad con el auxilio de la escala, acercando los valores del intercepto a cero (Fig. 3.6, 3.7, 3.8, 3.9).

Para el valor de b , cuando no se utilizó escala solo 20% de los evaluadores lograron valores que no difirieron significativamente de uno ($p < 0,05$), mientras que en la primera y segunda evaluación con escala, 90% y 100% de los evaluadores

respectivamente, obtuvieron valores que no difirieron de uno ($p < 0,05$) (Tabla 3.6). Esto significa que todos los evaluadores si bien sobrestimaron la severidad en las tres instancias de evaluación, cuando emplearon las escalas, dicha tendencia a sobrestimar se redujo.

Precisión: El valor de R^2 osciló entre 0,47 a 0,84 con un valor promedio de 0,71 para la evaluación sin escala, aumentó a valores entre 0,79 y 0,9 con un promedio de 0,84 para la primera evaluación con escala y a valores de 0,53 y 0,91 con un promedio de 0,80 para la segunda evaluación con escala (Tabla 3.6). Los resultados evidencian que los evaluadores aumentaron la precisión de las estimaciones de la severidad mediante la utilización de la escala. La mayor diferencia en la precisión de las estimaciones se presentó entre utilizar y no utilizar escala, y no entre las evaluaciones con escala.

Tabla 3.6. Intercepto (a), coeficiente angular (b) y coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresión lineal simples obtenidas a partir de la estimación visual de 10 evaluadores sin y con el auxilio de escala diagramática de severidad para la mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja.

Evaluador	Sin Escala			Con Escala					
	a	b	R^2	1ª Evaluación			2ª Evaluación		
	a	b	R^2	a	b	R^2	a	b	R^2
1	4,45*	3,62*	0,47	1,55*	0,84	0,81	0,90*	0,87	0,87
2	0,97*	0,91	0,63	1,27*	0,84	0,79	1,00*	0,90	0,83
3	2,09*	1,04	0,71	1,13*	0,90	0,89	1,22*	0,87	0,90
4	3,64*	1,98*	0,60	1,53*	0,82	0,84	0,94*	0,95	0,89
5	1,00*	1,72*	0,80	1,56*	0,90	0,85	2,66*	0,76	0,53
6	4,41*	1,56*	0,61	1,59*	0,77	0,80	1,71*	0,86	0,73
7	2,85*	2,41*	0,68	1,05*	0,86	0,88	0,92*	0,95	0,91
8	0,98*	1,58*	0,82	1,33*	0,90	0,80	1,41*	0,98	0,80
9	1,74*	1,96*	0,76	0,99*	0,89	0,90	2,07*	0,76	0,58
10	0,94	2,71*	0,84	1,13*	0,84	0,88	0,83*	0,89	0,93
Media	2,2	2	0,71	1,3	0,85	0,84	1,3	0,88	0,80

*Representa situaciones donde la hipótesis nula ($H_0: a=0$ o $H_0: b=1$) fueron rechazadas por el test T ($p=0,05$)

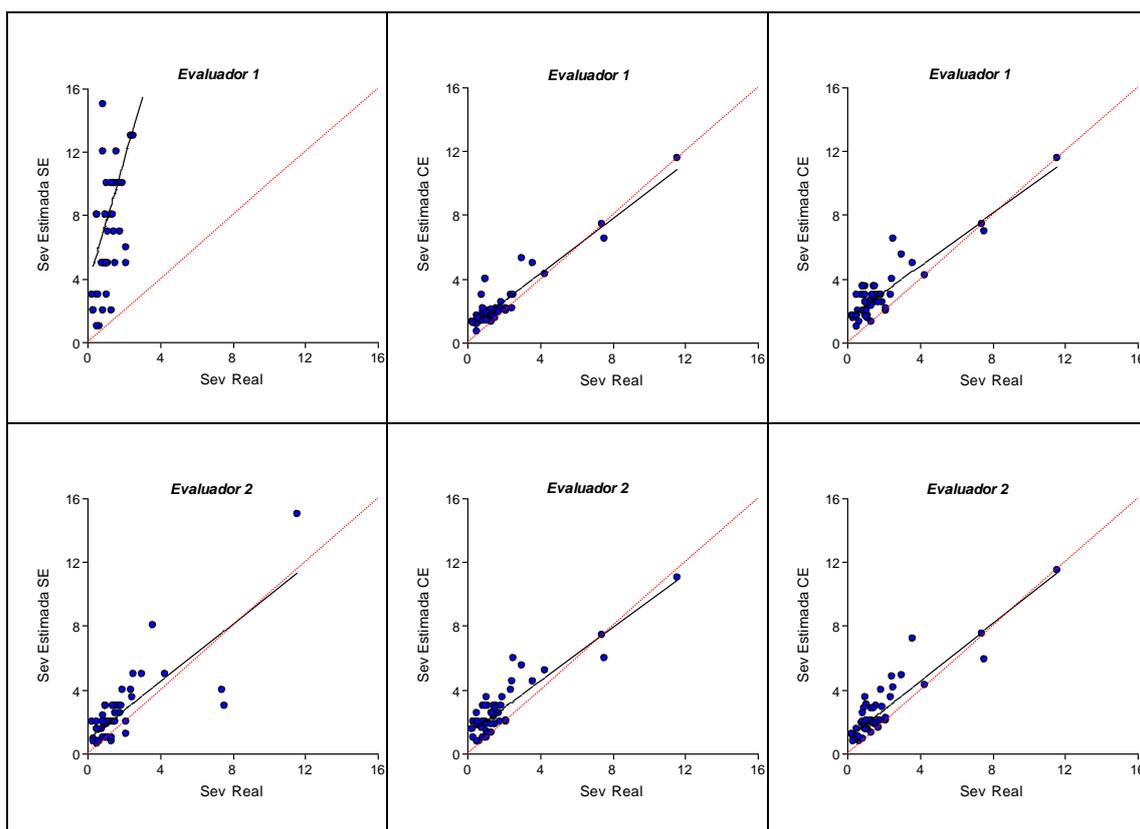


Fig. 3.6. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) de 2 de los 10 evaluadores para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

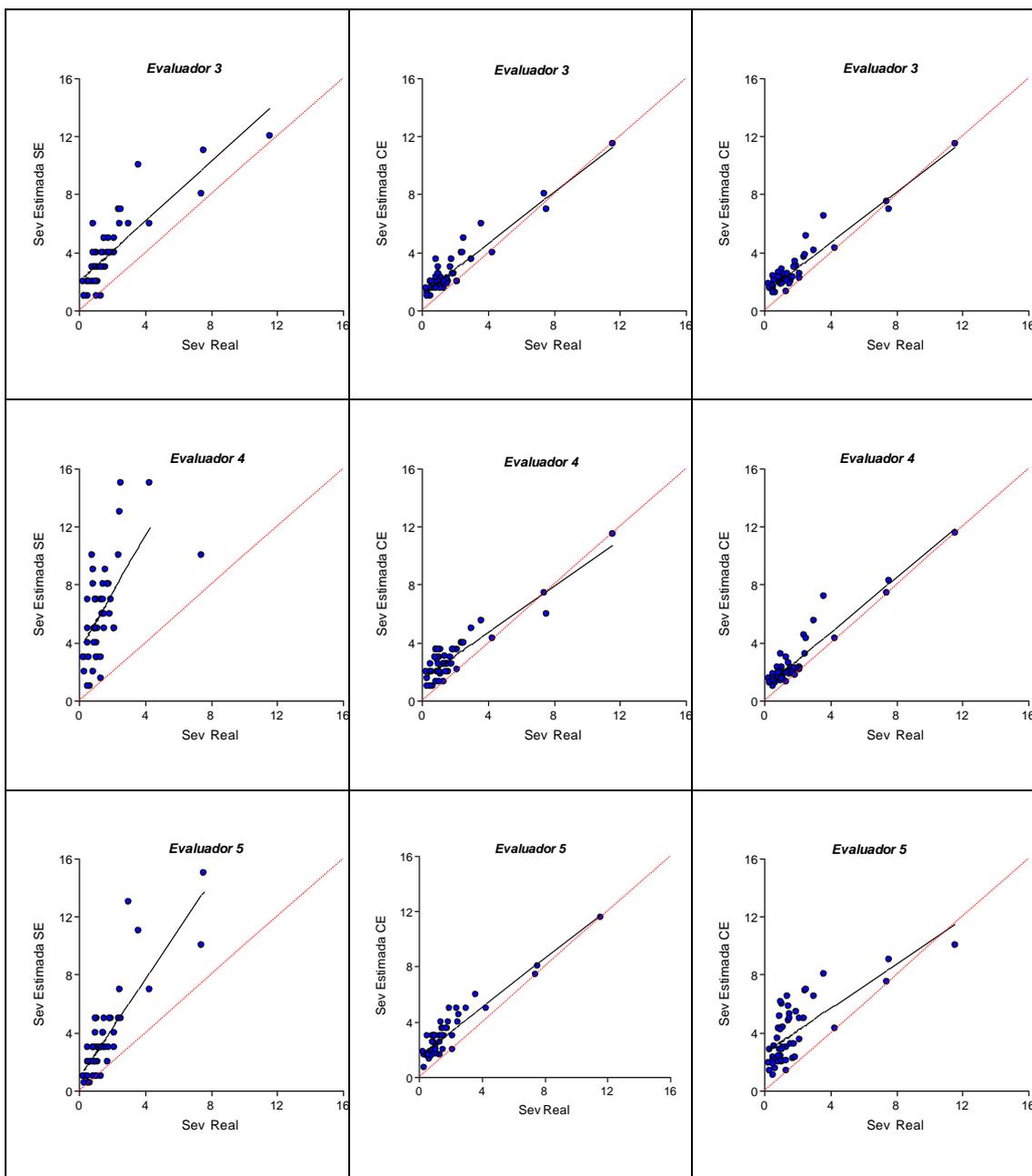


Fig. 3.7. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) 3 de los 10 evaluadores, para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

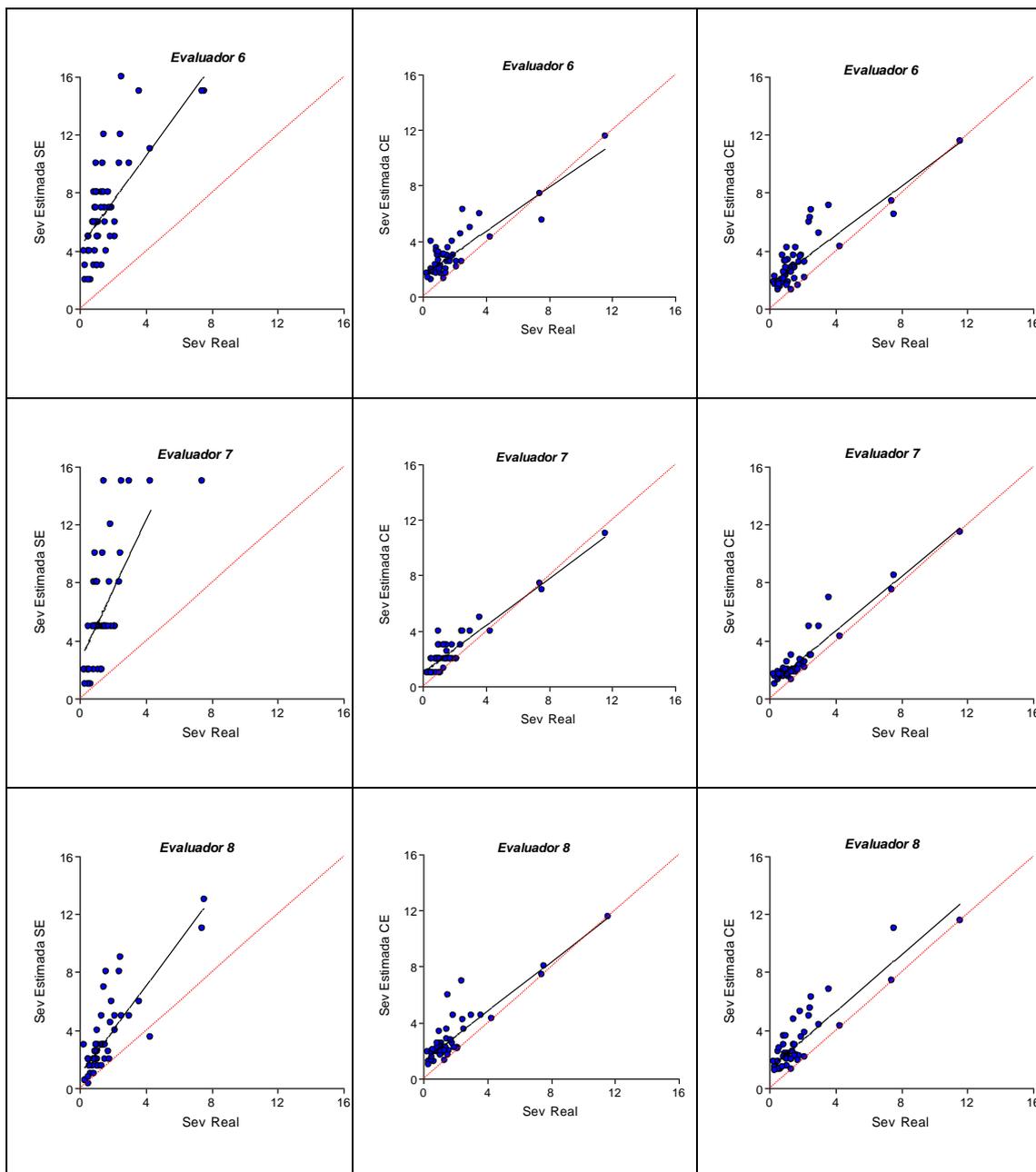


Fig. 3.8. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) 3 de los 10 evaluadores, para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

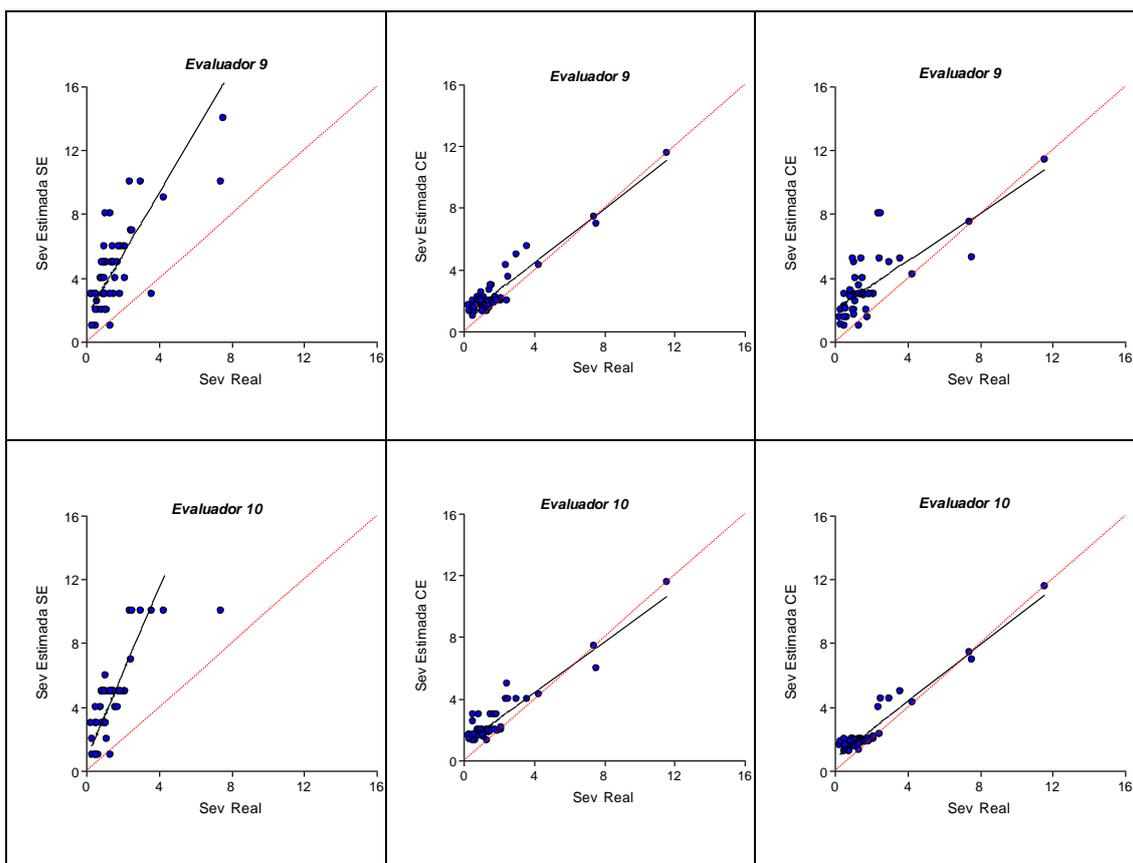


Fig. 3.9. Regresiones lineales de la severidad estimada sin escala (1ª columna) y con el auxilio de la escala diagramática de severidad (2ª y 3ª columna) en función de la severidad real (línea continua) 2 de los 10 evaluadores, para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja. Línea discontinua representa la situación ideal.

Con relación a la repetitividad entre la primera y segunda evaluación se observa que los valores de a variaron de -0,07 a 0,83 con un valor promedio de 0,367, los de b de 0,72 a 0,99 con un promedio de 0,84 y los de R^2 de 0,61 a 0,94 con un promedio de 0,813 (Tabla 3.7). Estos resultados demuestran que la escala proporcionó a cada evaluador tuvo buena repetitividad en las sucesivas estimaciones de mancha ojo de rana.

Tabla 3.7. Intercepto (*a*), coeficiente angular (*b*) y coeficiente de determinación (*R*²) de ecuaciones de regresión lineal simple, relacionando la segunda y primera evaluación, por un mismo evaluador con el auxilio de la escala diagramática para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja.

Evaluador	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>R</i>²
1	0,81*	0,88	0,86
2	0,47*	0,87	0,84
3	-0,07	0,99	0,94
4	0,83*	0,81	0,86
5	0,26	0,72	0,61
6	0,39*	0,81	0,79
7	0,36*	0,84	0,86
8	0,34	0,81	0,80
9	-0,07	0,77	0,68
10	0,41*	0,90	0,89
Media	0,367	0,84	0,81

* Representa situaciones donde la hipótesis nula ($H_0: a=0$ o $H_0: b=1$) fueron rechazadas por el test T ($p=0,05$)

Cuando los evaluadores no utilizaron la escala, los valores de los residuos para *C. sojina* variaron entre -4,54 y 45,73; en la primera evaluación con escala los residuos disminuyeron notablemente a valores entre -2,04 y 4,49 y en la segunda evaluación mantuvieron también un rango bajo, entre -2,29 y 5,45 (Fig. 3.10). Analizando gráficamente los resultados se puede ver que en la evaluación sin escala existe una mayor dispersión de los puntos, extendiéndose en la franja de 20% de los residuos (severidad real-severidad estimada), mientras que en las evaluaciones con escala, los puntos se ubicaron concentrados dentro de la franja del 10% de los residuos.

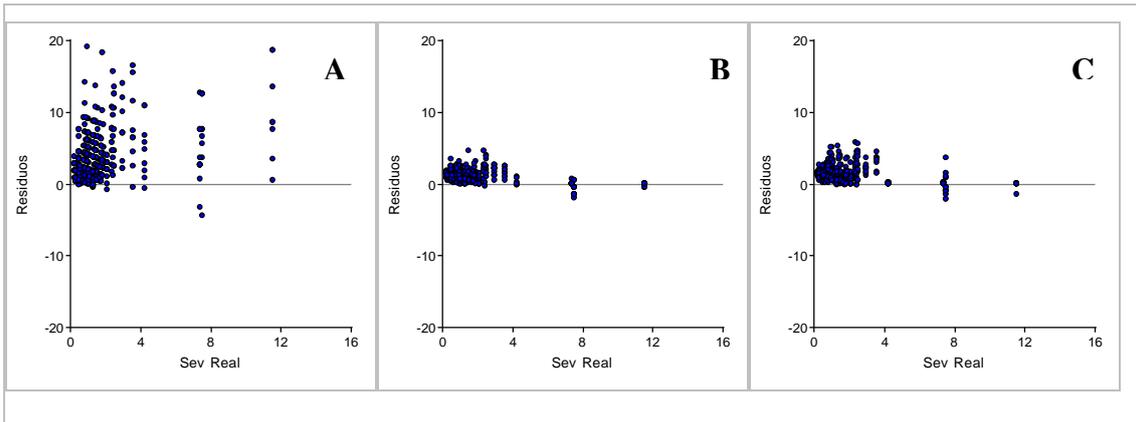


Fig. 3.10. Distribución de los residuos (severidad estimada- severidad real) en función de la severidad real, obtenidos sin el auxilio de la escala diagramática, y con el auxilio de la escala diagramática en la primera y segunda evaluación para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja: A: Evaluación sin escala. B: 1ª Evaluación con escala. C: 2ª Evaluación con escala.

Reproducibilidad: Cuando los evaluadores trabajaron sin escala el R^2 estimado entre pares varió entre 0,41 y 0,9 y sólo el 10% de las comparaciones superó 0,75 (Tabla 3.8). Cuando emplearon la escala por primera vez, el R^2 se elevó entre 0,71 y 0,89 y 98 % de los evaluadores superaron 0,75 (Tabla 3.9). En la segunda evaluación con escala los valores de R^2 variaron entre 0,49 y 0,93 y 60% de los pares de evaluadores superaron un R^2 de 0,75. (Tabla 3.10). Si bien los valores de R^2 no variaron significativamente en las tres evaluaciones, aumentó la cantidad de pares de evaluadores con valores de R^2 por encima de 0,75 en las evaluaciones con escala.

Tabla 3.8. Coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresiones simples entre pares de evaluadores de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad, sin auxilio de la escala diagramática.

Evaluador	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,54	0,59	0,74	0,70	0,53	0,66	0,41	0,45	0,52
2		0,60	0,70	0,66	0,60	0,70	0,58	0,66	0,78
3			0,79	0,79	0,74	0,71	0,64	0,59	0,68
4				0,79	0,76	0,79	0,58	0,61	0,69
5					0,67	0,78	0,72	0,72	0,79
6						0,78	0,54	0,57	0,62
7							0,56	0,62	0,72
8								0,70	0,72
9									0,90

Tabla 3.9. Estimación del coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresiones simples entre pares de evaluadores de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad, para la primera evaluación, con auxilio de la escala.

Evaluador	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,85	0,88	0,83	0,82	0,87	0,88	0,75	0,84	0,84
2		0,84	0,87	0,81	0,85	0,83	0,77	0,84	0,86
3			0,89	0,85	0,86	0,89	0,79	0,89	0,90
4				0,85	0,86	0,88	0,78	0,86	0,87
5					0,82	0,84	0,77	0,83	0,82
6						0,83	0,71	0,84	0,82
7							0,81	0,85	0,86
8								0,82	0,79
9									0,86

Tabla 3.10. Estimación del coeficiente de determinación (R^2) de ecuaciones de regresiones simples entre pares de evaluadores de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) en folíolos de soja, para evaluaciones de severidad, para la segunda evaluación, con auxilio de la escala.

Evaluador	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,81	0,85	0,89	0,49	0,74	0,86	0,72	0,56	0,88
2		0,91	0,87	0,66	0,86	0,86	0,8	0,72	0,84
3			0,93	0,6	0,85	0,92	0,86	0,7	0,94
4				0,61	0,84	0,96	0,83	0,65	0,94
5					0,68	0,56	0,66	0,66	0,55
6						0,78	0,77	0,78	0,78
7							0,83	0,62	0,93
8								0,64	0,8
9									0,68

Discusión

La escala para mildiú se desarrolló sólo hasta la instancia de la primera evaluación con escala, debido a que al analizar los resultados de las estimaciones realizadas por los evaluadores durante el proceso de validación, los valores de los parámetros estadísticos R^2 , a y b , no fueron los que correspondían para validar una escala de severidad, con valores de R^2 que variaron entre 0,05 y 0,73 cuando no se utilizó escala y de 0,0023 a 0,66 cuando se utilizó la escala, mientras que los valores de a para las evaluaciones sin escala fueron de -3,42 a 5,93 y con escala de -0,82 a 4,28 y los valores de b variaron de 0,09 a 5,11 en las evaluaciones sin escala y de -0,17 a 0,75 en las evaluaciones con escala.

La sobreestimación del mildiú efectuada por la mayoría de los evaluadores, triplicó los valores reales de severidad. Esta particularidad de sobreestimar severidad de una enfermedad es un denominador común, para distintos patosistemas, inclusive en la validación de las escalas de mancha marrón y mancha ojo de rana de este trabajo.

Se pudieron desarrollar escalas logarítmicas diagramáticas validadas de acuerdo a la metodología recomendada para la mancha marrón (*S. glycines*) y para la mancha ojo de rana (*C. soja*); no ocurriendo lo mismo para el mildiú (*P. manshurica*).

La no validación de la escala de severidad desarrollada para el mildiú, debido fundamentalmente a la sobreestimación de los valores de severidad, puede explicarse por el hecho de que los síntomas de esta enfermedad fueron poco distinguibles a simple vista, pues se trata de manchas pequeñas y numerosas, de color verde amarillento que se confunden con los colores propios de la hoja y con los pixeles propios de la fotografía de los folíolos, lo que dificulta las evaluaciones de los evaluadores.

En general, esta situación coincide con lo planteado por otros autores como Shokes *et al.* (1987) y Kranz, (1988), que establecieron que la calidad de las estimaciones de los valores de severidad puede ser afectada por varios factores que incluyen la complejidad de la unidad muestral, la forma, tamaño, color y número de lesiones. Incluso, se afirma que los errores en las estimaciones son mayores cuando las

lesiones son numerosas y pequeñas, y la sobreestimación disminuye con el incremento de la intensidad y el decrecimiento del número de manchas (Sherwood *et al.*, 1983). En el caso del mildiú de la soja ocurre exactamente lo primero, la severidad de la enfermedad máxima (13,4%) estuvo determinada por manchas numerosas y pequeñas.

En el caso de la escala para mancha marrón, el análisis de la exactitud de los evaluadores indica que hubo sobreestimación de la severidad observada en la mayoría de los evaluadores a través del coeficiente a , lo cual coincidió con los resultados encontrados en las EFC para la soja en Brasil (Martins *et al.*, 2004), ya que los evaluadores también tuvieron una marcada tendencia a sobreestimar. Esta particularidad de sobreestimar la severidad de las enfermedades también se ha reportado con el uso de escalas diagramáticas desarrolladas para mancha negra causada por *Alternaria helianthi* en girasol (Leite *et al.*, 2002), el tizón de la hoja causada por *Phomopsis obscurans* en frutilla (Nita *et al.*, 2003), y roya de la soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* (Godoy *et al.*, 2006). Estos autores, coinciden en señalar que esa tendencia se mantiene aun luego de emplear la escala diagramática, aunque dicha sobreestimación decrece; los resultados obtenidos en este trabajo con la escala desarrollada para *Septoria glycines* confirman también la disminución de la sobrestimación de la severidad de mancha marrón de la soja. Por el contrario, los resultados del presente trabajo contrastan con los obtenidos en otros estudios donde se emplean escalas diagramáticas para evaluar severidad de enfermedades, como es en el caso del cancro bacteriano de la vid (Nascimento *et al.*, 2005) y la cercosporiosis de la lechuga (Gomes *et al.*, 2004), en los que todos los evaluadores tuvieron una marcada tendencia a subestimar los valores de severidad. En este estudio para mancha marrón, sólo dos evaluadores subestimaron la severidad, particularmente en los valores más bajos.

En lo que respecta al valor de coeficiente angular de la recta (b), los resultados indicaron la ausencia de desvíos sistemáticos en las evaluaciones, dado que en las tres evaluaciones y en el 100% de los casos, dicho parámetro no difirió significativamente de uno. Resultados semejantes encontraron Halfeld y Nechet (2006) en melón al desarrollar la escala para evaluar mancha foliar causada por *Cercospora citrullina*. Sin embargo, el análisis de este parámetro evidencia que existió sobrestimación y que esta tendencia se mantuvo en prácticamente todos los evaluadores a lo largo de toda la evaluación.

El coeficiente de determinación de la recta R^2 , que permite evaluar la precisión de los evaluadores, debe ser lo más próximo a uno. Esto ocurrió especialmente cuando los evaluadores utilizaron la escala diagramática de severidad desarrollada para la mancha marrón; en coincidencia con el trabajo de Martins *et al.* (2004) donde se desarrollan escalas diagramáticas para mancha marrón y tizón de la hoja y mancha púrpura de la soja. Estos autores registraron coeficientes de determinación cuyos valores estuvieron entre 0,65 y 0,84; semejantes a los encontrados en este caso donde los valores variaron en promedio entre 0,68 y 0,82. Estas evidencias indican que, evaluadores de Argentina y de Brasil tienen una precisión similar al evaluar la mancha marrón de la soja, no obstante usar escalas de severidad formalmente diferentes en cuanto al rango de la enfermedad, número de clases, variedad del cultivo.

Considerando la repetitividad como otra medida de precisión, se encontró que el valor promedio de R^2 fue de 0,63 y los valores promedios de a y b , 5,5 y 0,90 respectivamente (Tabla 3.2), y que de los 10 evaluadores nueve (90%) registraron valores de a que no difirieron significativamente de cero, y todos (100%) valores de b que no difirieron de uno. Comparando estos resultados con otros trabajos (Gomes *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2005; Michereff *et al.*, 2006) se puede advertir que el valor de R^2 es bajo, ya que estos autores encontraron valores de R^2 de 90, 89 y 85, respectivamente. Sin embargo, comparando los valores de a y b obtenidos en esos trabajos se encuentra una mayor repetitividad con la escala de *S. glycines* donde sólo el 10% y el 0% de los evaluadores obtuvieron valores que difirieron significativamente de cero y de uno, respectivamente.

Según se ha señalado, los residuos o errores absolutos que representan la diferencia entre la severidad estimada y la real, deben encontrarse dentro de la franja del 10% para considerar que un evaluador es bueno, y excelente si están por debajo del 5% (Nutter y Worawistlikit, 1989). En este trabajo la mayor concentración de los errores se ubicó fundamentalmente en la franja del 30%, valores que concuerdan con los encontrados por Martins *et al.* (2004) en evaluaciones de EFC. Estos resultados podrían explicarse por el hecho que en algunos casos los síntomas de la mancha marrón no son marcadamente definidos, ya que en numerosas oportunidades las manchas muestran zonas de coloración marrón, rojiza y amarillo de acuerdo a la evolución de la

enfermedad; concordando con estos autores en que ello puede confundir al evaluador con menos experiencia en definir el área enferma. Como la mayoría de los evaluadores sobreestimó la severidad de esta enfermedad, algunos autores como Nutter y Schultz (1995) y Godoy *et al.* (1997), plantean que una solución a esto y según sea la magnitud del error, puede ser corregido mediante el entrenamiento de los evaluadores. Además, Stonehouse (1994) remarca que la presencia de algún nivel de error absoluto en las evaluaciones puede ser compensada por la rapidez y la estandarización que resulta al utilizar escalas diagramáticas.

La reproducibilidad también puede ser utilizada como parámetro indicativo de precisión, porque diferentes evaluadores utilizan la misma escala para evaluar el mismo material, por lo que deberán estimar los mismos valores o valores semejantes de severidad (Nutter y Schultz 1995). Las regresiones lineales de la severidad estimada indicaron que la reproducibilidad entre evaluadores mejoró con el uso de la escala ya que en sólo 16% de los pares de evaluadores confrontados los valores de los coeficientes de determinación (R^2) estuvieron por encima de 0,75 en las evaluaciones sin escala y la primera evaluación con escala, y se incrementó a 26% en la segunda evaluación con escala. Si bien los valores de R^2 no variaron significativamente en las tres evaluaciones, si hubo aumento en el porcentaje de pares de evaluadores con R^2 por encima de 0,75, en la segunda evaluación con escala respecto a la primera evaluación con escala y sin escala, lo que indica un aumento de la precisión. A pesar de ello, otros autores encontraron mayores diferencias entre las evaluaciones sin escala y con escala, como es el caso de la escala desarrollada por Martins *et al.*, (2004) para EFC, o la escala desarrollada para vid por Nascimento *et al.* (2005), donde la severidad estimada por los diferentes evaluadores estuvo próxima a una concordancia perfecta, indicando esto alta precisión. Esto puede deberse a que en los casos mencionados, los evaluadores recibieron entrenamiento en el uso de la escala; si bien los evaluadores de la escala desarrollada recibieron una copia dos días antes de la segunda evaluación, este período pudo haber sido insuficiente o pudo haber sido necesario para un mejor entrenamiento entregar copias de folíolos con distintos grados de severidad, además de la escala.

En el caso de la escala para mancha ojo de rana causada por *C. sojina*, los evaluadores tendieron a sobreestimar la severidad de la enfermedad ya que se encontró que de los 10 evaluadores, 9 presentaron valores de a significativamente mayores de

cero cuando no se utilizó escala, mientras que en la primera evaluación con escala los 10 evaluadores obtuvieron valores de a diferentes de cero, ocurriendo lo mismo en la segunda evaluación con escala. Estos resultados se oponen a los encontrados por Martins *et al.* (2004) para EFC, en que la totalidad de los evaluadores obtuvo valores de intercepto de la regresión que no difirieron de cero, lo que indica una elevada exactitud de los evaluadores. Por el contrario en la escala desarrollada para evaluar la roya de la soja y en concordancia con nuestros resultados, todos los evaluadores, con y sin experiencia en la utilización de la escala, mostraron valores de a diferentes de cero, tanto en la evaluación sin y con escala (Godoy *et al.*, 2006).

Estos resultados muestran que el 100% de los evaluadores tuvieron una marcada tendencia a sobreestimar la severidad en los niveles bajos de severidad, tendencia que se acentuó en el caso en que no utilizaban escala. Sin embargo, debe destacarse que en valores promedios y comparando las tres evaluaciones, se advierte que los valores de a para las dos evaluaciones con escala se aproximaron más a cero respecto a la evaluación sin escala.

Para el valor de b , cuando no se utilizó escala sólo el 20% de los evaluadores obtuvo valores que no difirieron significativamente de uno, mientras que en la primera y segunda evaluación con escala el 90% y 100% de los evaluadores lograron respectivamente valores que no difirieron de uno. Estos resultados implicaron un mejoramiento en las evaluaciones cuando se utiliza la escala, dado que los valores de b se aproximaron a uno y en consecuencia la severidad estimada se aproximó a la severidad real. En trabajos donde se desarrollaron escalas para evaluar la cercosporiosis del pimiento, Michereff *et al.* (2006) encontraron que al trabajar sin escala aproximadamente el 50% de los evaluadores obtuvo valores que difirieron de uno, y en mediciones posteriores con escala, el 100% arrojó valores de b que no difirieron significativamente de uno. En evaluaciones para la roya de la soja, se encontraron resultados semejantes, con un 60% de evaluadores que difirieron de uno cuando no emplearon escala, y un 10% cuando emplearon la escala desarrollada (Godoy *et al.*, 2006). Estos resultados demuestran que existe un notable mejoramiento en los valores de b al emplear las escalas, con lo cual se reduce la tendencia a sobreestimar la severidad y mayor acercamiento a la severidad real.

En cuanto a la precisión, evaluada por el coeficiente de determinación de la regresión lineal (R^2), fue de 0,71, 0,84, 0,80 como valores medios, para las evaluaciones sin escala, primera evaluación con escala y segunda evaluación con escala respectivamente (Tabla 3.6). Cuando no se utilizó escala, varió entre 0,47 y 0,84, en la primera evaluación entre 0,79 y 0,90 y en la segunda evaluación con escala entre 0,53 y 0,93 (Tabla 3.6). Similares resultados se encontraron en escalas desarrolladas para la roya de la soja (Godoy *et al.*, 2006), con la particularidad que los evaluadores fueron divididos en dos grupos, con y sin experiencia en el manejo de la escala. Los valores de R^2 de los evaluadores sin experiencia con y sin escala, se asemejan a los obtenidos para mancha ojo de rana en este trabajo cuando los evaluadores no utilizaron la escala y en la primera evaluación con escala. Los valores de R^2 en la segunda evaluación de mancha ojo de rana con escala son similares a los que obtuvieron los evaluadores con experiencia al utilizar la escala (Godoy *et al.*, 2006). Estas evidencias demuestran la importancia que tiene el contacto previo con la escala y con la sintomatología de la enfermedad. Solo 2 de los 10 evaluadores no mejoró en la estimación de la severidad, si comparamos la evaluación de la severidad sin escala y la segunda evaluación con escala.

En el caso de la mancha ojo de rana, y a diferencia de la evaluaciones de mancha marrón, la repetitividad fue óptima; es decir, que la cantidad de variación media de la primera evaluación explicada por la segunda evaluación representada por el valor de R^2 fue de 81,3% y valores de a y b de 0,367 y 0,84 respectivamente. (Tabla 3.7). De los diez evaluadores, el 60% mostró valores de a que no difirieron significativamente de cero, y 100% valores de b que no difirieron significativamente de uno. Estos resultados son coincidentes con los encontrados por otros autores que desarrollaron escalas para, frutilla (Nita *et al.*, 2003), lechuga (Gomes *et al.*, 2004) y pimiento (Michereff *et al.*, 2006) e indican que la mayoría de los evaluadores pueden evaluar con la misma precisión y exactitud en evaluaciones consecutivas.

Los desvíos para mancha ojo de rana se ubicaron dentro de la franja del 10% cuando los evaluadores utilizaron la escala, no así cuando no la emplearon, ubicándose los desvíos en una franja mucho más amplia, que fue de 0 al 20%, aunque estos valores están dentro de los valores de error aceptables (Nutter y Worawistlikit, 1989). Si comparamos estos resultados con los obtenidos para mancha marrón en este mismo

trabajo, se advierte que en este último caso la franja de error fue más amplia, posiblemente como consecuencia del tipo de sintomatología de una y otra enfermedad. Los resultados encontrados para la mancha ojo de rana pueden asimilarse a los obtenidos por Gomes *et al.* (2004), quién observó en la cercosporiosis de la lechuga, que los errores al utilizar la escala se concentran fundamentalmente en la franja del 10%, no superando nunca el 15%, o los encontrados por Martins, *et al.* (2004), quien afirma que los errores no superan el 10% al utilizar la escala.

Al analizar la reproducibilidad de los evaluadores, podemos observar que cuando los evaluadores trabajaron sin escala, solo el 10% de las confrontaciones de a pares generaron valores de R^2 de 0,75 (Tabla 3.8), mientras que cuando emplearon la escala por primera vez, 98% de las confrontaciones superaron el valor de 0,75 en el R^2 (Tabla 3.9). En la segunda evaluación con escala; 60% de los evaluadores presentaron valores de R^2 superiores a 0,75. (Tabla 3.10). En concordancia con los resultados encontrados por otros autores, la reproducibilidad de las estimaciones de la severidad de mancha ojo de rana aumentó con la utilización de la escala. En escalas desarrolladas para el cancro bacteriano de la vid (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*), cuando no se utilizó escala sólo el 8,9% de los valores de R^2 estuvo por encima de 0,75, por el contrario, en las evaluaciones con escala, el 84,4% y el 86,7% de los evaluadores superó el valor de 0,75 de R^2 (Nascimento *et al.*, 2005). Resultados similares se encontraron con la escala desarrollada para la roya del crisantemo (*Puccinia horiana*), ya que la reproducibilidad medida mediante R^2 fue baja, con solo un 2,2% de evaluadores con valores de R^2 por encima de 0,75, mientras que con la utilización de la escala estos porcentajes aumentaron a un 80% y 91% de los evaluadores con coeficientes de determinación por encima de 0,75, para la primera y la segunda evaluación; respectivamente (Jaraba *et al.*, 1999). Estos resultados son también similares a los encontrados para otros patosistemas (Godoy *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2002; Martins *et al.*, 2004).

Claramente el uso de escalas diagramáticas favorece las estimaciones de la intensidad de las enfermedades, más aún si los evaluadores reciben un adecuado entrenamiento y son seleccionados a partir de sus capacidades de evaluación.

Conclusiones

- Síntomas poco definidos respecto al color de la lámina foliar, como es el caso del mildiú (*Peronospora manshurica*) de la soja, dificultan el desarrollo y la validación de escalas de severidad.

- Los evaluadores generalmente triplicaron los valores reales de severidad del mildiú, por ser una enfermedad cuya sintomatología se manifiesta con manchas pequeñas, numerosas y con baja intensidad.

- Para mancha marrón (*Septoria glycines*), las evaluaciones con escala mostraron un incremento de exactitud, precisión y reproducibilidad, aunque este último parámetro es el que evidenció menor respuesta al uso de la escala

- Las evaluaciones mejoraron con el uso de las escalas.

- Si bien hubo tendencia a la sobreestimación, este comportamiento se redujo al utilizar la escala, tanto en la primera como en la segunda evaluación.

- Para mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) los evaluadores mostraron tendencia a sobreestimar la severidad.

- La mayoría de los evaluadores, mostraron mejor respuesta al uso de la escala en los parámetros de exactitud, precisión y reproducibilidad.

- La calidad de la validación fue mayor entre usar y no usar la escala, que entre las dos evaluaciones con escala, lo que nos señala la rápida adaptación de los observadores al uso de escalas de severidad sin preparación previa.

Bibliografía

- Astegiano E., Menegón, J., Hermann, M., Sillon, M. 2002. Efecto de la protección de enfermedades de fin de ciclo en diferentes cultivares de trigo. III Jornada Unidad Experimental de Cultivos Extensivos. FCA-UNL. pp. 1-2.
- Cabrera, M.G., Álvarez, R.E., Raimondo, M.R., Cundom, M.A. y Gutiérrez, S.A. 2004. Importancia de las enfermedades de fin de ciclo de la soja (*Glycine max*) en el NEA. Resumen A-027. Cátedra de Fitopatología.
- Campbell, C.L. and Madden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley & Sons, New York, USA. pp. 532.
- Díaz, C.G., Bassanezi, R.B. & Bergamin Filho, A. 2001. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. Summa Phytopathologica, Jaboticabal, 27 (1): 35-39.
- Infostat version 2008. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. Grupo Infostat, F.C.A, Universidad Nacional de Córdoba
- Formento, N. 2001. Enfermedades foliares en cultivares de soja EEA Paraná. Ciclo agrícola 200/01.
- Godoy, C.V., Carneiro, S.M.T.P.G., Iamuti, M.T., Dalla Pria, M., Amorim, L., Berger, R.D. and Bergamin Filho, A. 1997. Diagramatic scale for bean: development and validation. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten and Pflanzenschutz, Stuttgart, 104 (4): 336-345.
- Godoy, C., Koga, L. and Canteri, M. 2006. Diagrammatic Scale for Assessment of Soybean Rust Severity. Fitopatologia Brasileira 31:063-068.
- Gomes, A., Michereff, S. y Mariano, R. 2004. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alfaca. Summa Phytopathologica, Botucatu, 30 (1): 39-43.
- Halfed-Vieira, B. y Nechet, K. 2006. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da mancha de cercospora em melancia. Fitopatologia Brasileira 31:046-050.
- Ivancovich, A. y Botta, G. 2006. Ensayo de fungicidas para el control de enfermedades de fin de ciclo. Publicado en Internet, disponible en http://www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0-0/agricultura/otros/roya_delasoja/fungicidas. Activo Julio 2010.
- James, W.C., and Teng, P.S. 1979. The quantification of production constraints associated with plant disease. Applied Biology 4: 210-267.
- Jaraba, N.J., Aguilar, R.G., Gutiérrez, A.H., Chavarin, P.J. y Mora Aguilera G. 1999. Elaboración y validación de una escala diagramatizada para la roya blanca del crisantemo (*Puccinia horiana* Henn) en Crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). En: Memorias X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco, México. pp. 292.
- Kranz, J. 1988. Measuring Plant Disease. En: Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology. J. Kranz, and J. Rotem, J. (eds.). Berlin, Springer-Verlag, Germany. pp. 35-50.
- Lamari, L., 2005. ASSESS: Image Analysis Software for Plant Diseases. St Paul, MN, USA: APS Press.
- Leite, R.M.V.B.C. & Amorim, L. 2002. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. Summa Phytopathologica, Botucatu, 28 (1): 14-19.

- Martins, M.C., Guerzoni, R.A., Câmara, G.M.S., Mattiazzi, P., Lourenço, S.A. & Amorim, L. 2004. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, 29 (2): 179-184.
- Michereff, S.J., Noronha, M.A, Andrade, D.E.G.T., Oliveira, E.P., Xavier Filha, M.S. & Moreira, P.A.A. 2006. Elaboração e validação de escala diagramática para a cercosporiose do pimentão. *Summa Phytopathologica* 32: 260-266.
- 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 computadorizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. En: XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola, Puerto Vallarta México. pp. 1-9.
- Nascimento, A.R.P., Michereff, S.J., Mariano, R.L.R. & Gomes, A.M.A. 2005. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 31 (1): 59-64.
- Nita, M., Ellis, M.A. and Madden, L.V. 2003. Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology* 93:995-1005.
- Nutter FW, Jr., and Worawitlikit, O. 1989 Disease. Pro: A computerized disease assessment training program for evaluating and improving a persons ability to assess disease proportion. *Phytopathology* 79:1135.
- Nutter FW, Jr., Gleason M.L., Jenco J.H., and Christians N.C. 1993. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability and inter-rater reliability of disease assessment systems. *Phytopathology* 83: 806-812.
- Nutter, F.W., and Schultz, P.M. 1995. Improving the accuracy and precision of disease assessments: Selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17: 174-184.
- Pérez Fernández, J., Figuerelo, A.M. y Lajarraga, M.B. 2005. Soja: Resultados del control de enfermedades de fin de ciclo. EEA INTA Anguil. Cosecha Gruesa 2005: 9-15.
- Sherwood, R. T., Berg, C.C., Hoover, M.R., and Zeider, K.E. 1983. Illusions in visual assessment of Stagonospora leaf spot of orchardgrass. *Phytopathology* 73: 173-177.
- Shokes, F. M., Berger, R. D., Smith, D. H., and Rasp, J. M. 1987. Reliability of disease assessment procedures—A case-study with late leafspot of peanut. *Oleagineux* 42:245-251.
- Stonehouse, J. 1994. Assessment of Andean bean diseases using visual keys. *Plant Pathology*. v.43, n.4, pp.519-527.
- Tovar-Soto, A., Hernández-Martínez, M., Cristóbal-Alejo, J., Romero, Hijo, R. y Mora-Aguilera, G. 2002 Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill). *Revista Mexicana de Fitopatología*, Sonora, 20 (1):103-109.
- Vallone, S., Salines, L. y Masiero, B. 2002. Ensayos de fungicidas foliares para el control de enfermedades de fin de ciclo en soja, campaña 2001/2002. En: SOJA, Actualización. Informe para Extensión N° 74. pp. C-9/C-13.
- Vallone, S 2006. Situación sanitaria del cultivo de soja en Córdoba, Campaña 2005/2006. X Encuentro de Técnicos de Cooperativas. ACA. Conferencia. Rosario.

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES GENERALES

En el presente trabajo se confirma que es posible utilizar un sistema de medición de severidad para enfermedades de la soja en Córdoba, Argentina. Las escalas logarítmicas diagramáticas de severidad resultaron una herramienta adecuada para cuantificar la mancha marrón causada por *Septoria glycines* y en mancha ojo de rana causada por *Cercospora sojina* en folíolos de soja. Las escalas construidas para estas dos enfermedades aumentaron la exactitud y la precisión de la severidad estimada y fueron de rápida y fácil implementación.

Quedó demostrada la necesidad de conocer el sistema a evaluar, la sintomatología de la enfermedad, ya que en aquellas donde los síntomas se diferenciaban poco claramente de las zonas sanas en los folíolos de soja, con manchas pequeñas, numerosas y en baja intensidad como el caso de mildiú, resultó imposible la validación de la escala.

Todos los evaluadores mostraron una marcada tendencia a la sobreestimación de la severidad real en las evaluaciones de mancha marrón y mancha ojo de rana sin escala y con escala, pero esta conducta se redujo al utilizar la escala.

La precisión y la exactitud de una evaluación dependen del grado de entrenamiento y de la práctica que tenga el evaluador sobre la enfermedad a evaluar.

Los métodos de evaluación digitalizados sumados a los sistemas computarizados para determinar severidad, representan una herramienta de utilidad respecto a los métodos visuales de estimación de la severidad, aunque cabe destacar, que por las características sintomatologías de algunas enfermedades (tamaño, forma, color de manchas) no pueden ser puestos en práctica, por lo que se hace necesario recurrir a estos últimos para estimar eficientemente la severidad.

Este estudio sirve de base para continuar con líneas de investigación orientadas a:

Desarrollar y validar escalas logarítmicas diagramáticas de severidad, tanto para enfermedades del cultivo de soja como de otros cultivos de importancia económica para el país.

Desarrollar y validar escalas logarítmicas diagramáticas de severidad como herramienta epidemiológica para evaluar severidad y que sirvan como base para la toma de decisiones, disminuyendo la subjetividad en las mediciones y contribuyendo a una mayor precisión en las mediciones de severidad.