



Universidad Autónoma del  
Estado de Morelos



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos, 25 de febrero de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: "DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DEL MILDIÚ (*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN MORELOS, MÉXICO" que presenta él: **ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ ACEVEDO**, mismo que fue desarrollado bajo mi Co-dirección con el **DR. SANTIAGO DOMÍNGUEZ MOGE** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*

**DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ**  
**Comité Evaluador**



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

DADOBERTO GUILLEN SANCHEZ | Fecha:2021-03-02 13:23:18 | Firmante  
 ZdvVHCA.1nfNKO3lgrFkPvMUVtBqBczRwCl9KQ5eN8qnggprRtdR+4EQH7wCtTFF7kplggesOQOjnTPwICM9dw027dRBYp7aU3kHkPd03HqCslawTb+emyb/5kqBwY1CaFQ  
 HzD0X0LUNW027kCUNDAwHHM09U1100pU8YpaU+RpodKwCVdy11v1Q8UgkTlwrN2D7beCLH44HT02ZFlcaPb+60CULkSpY94Y1+Lw4K0K0NF00jwFy4MS++8qC7  
 RH50M0UJULzFuR02vR7WYEsOCHDz7WqjFARJ58ackLzHtqU1D6KRNed11LuA\*\*

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
 accionando el código QR ingresando la siguiente clave:



12F811

<https://firma.uaem.mx/noRepucion/ANPR/mimic/FUVLyD11NaLh3024de>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 25 de febrero de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: "DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DEL MILDÍU (*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN MORELOS, MÉXICO" que presenta él: **ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ ACEVEDO**, mismo que fue desarrollado bajo mi Co-dirección con el **DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*

**DR. SANTIAGO DOMINGUEZ MONGE**  
Comité Evaluador

C.l.p. Archivo



Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

SANTIAGO DOMINGUEZ MONGE | Fecha:2021-04-22 18:16:27 | Firmante  
LzNjtdYpHghnDMNvVMVnD9VgStoyFTSpEwwoKAvocTJCCTPmM5GPVwv79DfP5d7YXDRS YyLtrDpDkmQUydEPkMMMeTAuPAwvAHP7gAWWIMgtodiDQ3aPwIIVeDwQLDvo8  
CCLvVBUkDvskZLUDQyAMCZjPAmvCAtDaukZDhnyQ22GGk99S o8nSLA+8n0m8Pee8tkm8Vv8jZDM+H LGUPzCJ2aEzjynV9aEwYGCaynoLLx427U3HvQw8wAwf3oCbef53ozfV  
E8HQvG-8zKJg0ANvYVv9G1H175TmU3K2AJU8QwvKV5qOwReaIMqTVSognumWkIH9g\*\*

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

EXP4UC



<https://firma.uaem.mx/no/Repudio/DqJ32M20PogLwYD6QaJz9RvOLH8>





Universidad Autónoma del  
Estado de Morelos



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos, 25 de febrero de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: "DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DEL MILDÍU (*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN MORELOS, MÉXICO" que presenta él: **ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ ACEVEDO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ** y el **DR. SANTIAGO DOMÍNGUEZ MOGE** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*

**DR. VÍCTOR LÓPEZ MARTÍNEZ**  
Comité Evaluador

C.I.p. Archivo

Av. universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)329 7046, 3297000 Ext. 3304. [fagropecuarias@uaem.mx](mailto:fagropecuarias@uaem.mx)

**UA  
EM**

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

VICTOR LOPEZ MARTINEZ | Fecha:2021-03-07 22:03:00 | Firmante  
m0umuevK7Pec0nComiredhqm7228-km5k7101K0H0gK1LSEUyEO30EDmCWOTG1645BxWMBUJLgD+HBCIO9p09H6vs2yOM200eU+OIPKJ63CvQkN6AX493Hr1G7TPwUe0C1  
M2UW64L1XUjCYGGe0i5HwKOnCimsAVH2hnuM0kaS+YyOnSpN0b+EtYb28ImeS EHO 75P1Xy01e0KXU000cpMroFFDO4ePUqjImR44dX28ekoNWe5PR+XN5ubey04DpOIRY  
Z3eGLU0gP+Vo8EUWVw9085QwpR0dHLE7EHE00JguV98eGKTnONry13VNEhVGR4tdEVL1A\*\*

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



1x20EF

<https://firma.uaem.mx/no/repulcoU57TZFLbawLjYDxR11Hk40jy1652eN>



Cuernavaca, Morelos, 25 de febrero de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: "DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DEL MILDIÚ (*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN MORELOS, MÉXICO" que presenta él: ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ ACEVEDO, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ y el DR. SANTIAGO DOMÍNGUEZ MOGE y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*

**DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**  
**Comité Evaluador**

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

PORRISO JUAREZ LOPEZ | Fecha:2021-03-16 11:42:28 | Firmante:  
CQwN8bdk7N8VY2Gc32xUHQYWAduT4uqHkU8baQW0CgF2WwPxxpC4Uv4eP0grC4S70VlgPTykyqYwLUVQccHGNYE0C71A0ed7WVho3cLiqueMWlydph78nu0CnY8K  
E72KicE147o5mCknaAkkY24GqbeQ7xh1c8NHT7U0GAsuubPHHTYaeckLFEEmP6Me2paV80ParC+ewKdrZLgYWln+QWQnW6uopQRTg2IGq4C7ypWqjju0CZHLJQ5x7xpc  
shbp0CgAd005aG1M0Z0+UW0L48+L3vtaLPPQm7Un9pod5NEca5nuQwYulLukvDR47caEA\*\*



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

u83KvW

<https://firma.uaem.mx/noReputado/akYDeyRpk0Eyd4kuv48TL1W6461A00>



Cuernavaca, Morelos, 25 de febrero de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: "DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DEL MILDÍU (*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN MORELOS, MÉXICO" que presenta él: **ING. JUAN CARLOS GONZÁLEZ ACEVEDO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ** y el **DR. SANTIAGO DOMÍNGUEZ MOGE** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*

**DR. IRÁN ALÍA TEJACAL**  
Comité Evaluador

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

IRAN ALJA TELJACAL | Fecha: 2021-03-03 09:47:26 | Firmante

5SRN11CkK+Jv4K7v4M0rj0aE0mpu8GmqMFUPolygKf0CYC3a7ubv0C6kR0aTIGD0evyTard0aW0Gp@N0E1TRqCb71La0005gDowVup1EJpp0h7aWkTh0QLa0v0FrT9yVv1w0aLXyua0KUNUW3Wm5IXU0rb0FDu0a0k074lga0NPy03PN0gm050k0vR7p0EM4E5Y0A00N0h0a0z0M0hT0V0K0h0T30r0pTAD0v040Y0T0v00g0000PLnna0b0L0b0e0v0a0p00+0F0U0p0A0v0r0a0Dw0TIC0+0jPv0M0u0T0W0e00+0C0i0k0d0a0r0h0h0w0W0u0z0+0j0m0A0e0

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



10Pk0p

<http://firma.uaem.mx/Reposito/ES015w0E0m0RPM7w0Mq500g0h0Z0w0P01a>

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMATICA PARA  
EVALUAR LA SEVERIDAD DEL MILDIÚ  
(*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN  
MORELOS, MÉXICO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO  
RURAL**

**P R E S E N T A:**

**ING. JUAN CARLOS GONZALEZ ACEVEDO**

**DIRECTOR DE TESIS: Dr. Dagoberto Guillen Sánchez**

**CO-DIRECTOR DE TESIS: DR. SANTIAGO DOMINGUEZ MONGE**



**Cuernavaca, Morelos, Febrero de 2021**

**DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMTICA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DEL  
MILDIÚ (*Pseudoperonospora cubensis*) EN PEPINO EN MORELOS, MÉXICO**

Tesis realizada por **JUAN CARLOS GONZÁLEZ ACEVEDO** bajo la dirección del comité revisor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**

**Director de Tesis** \_\_\_\_\_  
**Dr. Dagoberto Guillen Sánchez**

**Co-Director** \_\_\_\_\_  
**Dr. Santiago Domínguez Monge**

**Revisor** \_\_\_\_\_  
**Dr. Víctor Martínez López**

**Revisor** \_\_\_\_\_  
**Dr. Porfirio Juárez López**

**Revisor** \_\_\_\_\_  
**Dr. Iran Alia Tejacal**

**Cuernavaca, Morelos, 2 de marzo de 2021**

## AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca proporcionada para el desarrollo del programa doctoral.

A la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos**, a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y a todo el Personal administrativo por permitir que me formara profesionalmente y brindarme una educación de calidad, así como también proporcionarme todas las facilidades necesarias para realizar la presente investigación.

Al **Dr. Dagoberto Guillén Sánchez**, por su amistad incondicional, por el valioso tiempo que invirtió en mí, por aceptarme como su estudiante en el postgrado y dirigir este proyecto, gracias por el apoyo total durante todo el postgrado.

Al **Dr. Santiago Domínguez Monge**, por el apoyo incondicional en la realización de este trabajo y todas las aportaciones que realizo para la culminación de este proyecto.

A mi comité revisor: Al **Dr. Víctor López Martínez**, **Dr. Irán Alía Tejacal** y **Dr. Porfirio Juárez López**, por su asesoría, aportaciones y valiosos comentarios para el desarrollo del trabajo de investigación en campo y laboratorio.

A mis **Amigos y compañeros** por todo el apoyo brindado durante la realización de este trabajo, les agradezco su valiosa amistad y confianza

## **DEDICATORIA**

### **A mi abuela**

#### **María del Socorro Carrillo Benítez †**

La persona que me amo, me apoyo y me motivo para ser lo que hoy soy, por haberme apoyado siempre, por regañarme, guiarme, brindarme todos sus consejos y cariño, pero sobre todo por siempre impulsarme a seguir estudiando, ya que por ella hoy me encuentro aquí.

### **A mi esposa**

#### **Jhoselin Elizabeth Andrade Ramírez**

Mi compañera de vida, por apoyarme incondicionalmente en todo, por estar cuidándome y brindándome su cariño y amor, muchas gracias por todo te amo.

### **A mis hijos María Isabela González Andrade y Christian Yoel González González**

Por ser pilares importantes en mi vida y ser mi motivación de seguir preparándome.

### **A mi Madre y Padre**

#### **Elizabeth Acevedo González y Juan Carlos González Carrillo**

Por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida, por haberme dado la vida y educado. Por haber guiado mi camino a lo largo de todo este tiempo. Ya que por todo su apoyo hoy soy lo que soy.

### **A mis tías (mamás) Tía Gris y Tía Rubí**

Porque siempre han estado para mí, me han apoyado, motivado y regañado en todo este tiempo, muchas gracias.

### **A mis abuelos Juan González Pantoja †, Rogelio Acevedo Villanueva y Ciríla González Montesinos**

Por criarme, apoyarme, amarme y estar a lo largo de mi vida brindándome sus consejos.

### **A mi hermana, primos, tíos y tías**

Por siempre creer en mí, por motivarme a seguir en la vida y ser parte esencial de esto.

## ÍNDICE

	Pág.
Índice de figuras.....	vii
índice de cuadros.....	viii
Resumen.....	01
Abstrac.....	02
<b>I. INTRODUCCION.....</b>	<b>03</b>
<b>II. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....</b>	<b>06</b>
2.1 Objetivo general.....	06
2.1.1 Objetivo particular.....	06
2.2 Hipótesis.....	06
<b>III. REVISION DE LITERATURA.....</b>	<b>07</b>
3.1 Importancia del cultivo de pepino.....	07
3.2 Manejo del cultivo de pepino.....	07
3.3 Enfermedades del pepino bajo invernadero.....	08
3.4 Mildiu de las cucurbitáceas ( <i>Pseudoperonospora cubensis</i> ).....	09
3.4.1 Importancia.....	09
3.4.2 Morfología.....	09
3.4.3 Síntomas y signos.....	09
3.4.4 Ciclo de la enfermedad.....	10
3.4.5 Manejo del Mildiu de las cucurbitáceas.....	11
3.5 Diagrama de severidad.....	12
<b>IV. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>14</b>
4.1 Sitio de muestreo.....	14
4.2 Determinación del porcentaje de daño por <i>P. cubensis</i> y numero de las clases de una propuesta de una escala diagramática.....	14
4.2.1 Toma de imágenes.....	14
4.2.2 Determinación del porcentaje de daño.....	14
4.2.3 Determinación de las clases.....	15
4.3 Diseño de la escala diagramática.....	15
4.4 Validación de la escala diagramática.....	15

4.4.1 Procedimiento para la realización de la validación .....	16
4.5 Análisis estadístico .....	16
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	18
5.1 Determinación del porcentaje de daño por <i>P.cubensis</i> en <i>C. sativus</i> y las clases de la escala.....	18
5.2 Relación entre la severidad real y la evaluada de <i>P. cubensis</i> .....	22
5.3 Evaluación de la exactitud, precisión y concordancia de las estimaciones de severidad de <i>P. cubensis</i> en <i>C. sativus</i> .....	22
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	29
<b>VII. RECOMENDACIONES</b> .....	30
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b> .....	31

## Índice de figuras

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Conjunto de diagramas de la escala desarrollados para evaluar la severidad de mildiu en las hojas de pepino. Los números en los diagramas representan el porcentaje (%) del área de la hoja con síntomas necróticos de la enfermedad.....	21
<b>Figura 2.</b> Relación entre la severidad real y evaluada del mildiu del pepino estimado por 20 evaluadores sin experiencia para un conjunto de 50 hojas (n=1000). La primera evaluación se realizó sin ayuda (SA) y, se realizaron dos evaluaciones adicionales a las dos (CA1) y cuatro semanas (CA2) después de la primera con la ayuda de una escala diagramática que representa la severidad del mildiu en pepino de 2% a 47%. La línea discontinua representa la línea de concordancia.....	24
<b>Figura 3.</b> Distribución, media y desviación estándar de cada estadístico del análisis de concordancia de Lin que representa exactitud (sesgo sistemático y constante), precisión (coeficiente de correlación de Pearson-r), y concordancia (Lin's CCC) de las estimaciones de severidad del mildiu del pepino por 20 evaluadores sin experiencia para tres evaluaciones diferentes. La primera evaluación se realizó sin ayuda (SA) y, dos evaluaciones adicionales con la ayuda de una escala diagramática dos semanas (CA1) y cuatro semanas (CA2) después de la sesión de SA.....	25

## índice de cuadros

	Pág.
<b>Cuadro 1.</b> Análisis del modelo lineal generalizado y separación de medias de los estadísticos del análisis de correlación de concordancia de Lin que representa la exactitud (tipos de sesgo), la precisión (coeficiente de correlación) y la concordancia (Lin's CCC) de las estimaciones porcentuales de la severidad del mildiú del pepino por 20 evaluadores sin experiencia durante tres evaluaciones sin y con el uso de una escala diagramática como ayuda para la evaluación de la severidad de la enfermedad: sin ayuda (SA, sin escala), y dos con ayuda, CA1 (usando la escala, dos semanas después de la evaluación sin ayuda) y CA2 (usando la escala, dos semanas después de la evaluación con ayuda 1).....	27
<b>Cuadro 2.</b> Medidas de confiabilidad entre evaluadores de las estimaciones de severidad realizadas por 20 evaluadores sin experiencia en durante tres evaluaciones sin y con el uso de una escala diagramática como ayuda para la evaluación de la severidad de la enfermedad: sin ayuda (SA, sin escala), y dos con ayuda (CA), siendo CA1 dos semanas después de la evaluación sin ayuda y CA2 cuatro semanas después de la sesión sin ayuda.....	28

## Resumen

El mildiu, causado por *Pseudoperonospora cubensis*, es una importante enfermedad del pepino en el estado de Morelos. Debido a la falta de métodos estandarizados para cuantificación de esta enfermedad, se elaboró una escala diagramática con los niveles 2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 y 47% de área foliar dañada, evaluándose la exactitud, precisión y reproducibilidad de las estimaciones de severidad de la enfermedad. La escala diagramática fue validada por 20 evaluadores que utilizaron 50 hojas con síntomas de la enfermedad con diferentes niveles de severidad, medidos previamente con el programa Assess®. Fueron realizadas tres evaluaciones, en las que diferentes secuencias de las mismas hojas fueron estimadas visualmente por los mismos evaluadores. La primera evaluación se realizó sin ayuda (SA, sin escala). Se realizaron dos evaluaciones adicionales a las dos (CA1, con escala) y cuatro semanas (CA2, con escala) después de la primera. La precisión de las estimaciones, de acuerdo al coeficiente de correlación de Pearson, mejoró significativamente cuando se utilizó la escala (CA1:  $r=0.91$  y CA2:  $r=0.93$ ) en comparación que sin escala (SA:  $r=0.34$ ). De la misma manera, el sesgo generalizado (Cb) se vio afectado significativamente por que las estimaciones sin ayuda fueron poco precisas (Cb=0.35). La concordancia general (pc) mejoró significativamente para CA1 y CA2 en comparación con SA ( $pc>0.9$ ). Por lo tanto, la escala propuesta en este estudio resultó ser de utilidad en la estimación de la severidad de mildiú del pepino en campo.

**Palabras claves:** *Cucurbitaceae sativus*, enfermedad foliar, epidemiología, fitopatometría.

## Abstract

Downy mildew, caused by *Pseudoperonospora cubensis*, is an important cucumber disease in the state of Morelos. Due to the lack of standardized methods for quantification of this disease, a diagrammatic scale was elaborated with levels 2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 and 47% of damaged leaf area, evaluating the accuracy, precision and reproducibility of estimates of disease severity. The diagrammatic scale was valid for 20 evaluators who used 50 sheets with symptoms of the disease with different levels of severity, previously measured with the Assess® program. Three evaluations were carried out, in which different sequences from the same leaves were visually estimated by the same evaluators. The first evaluation was carried out without help (SA, without scale). Two additional evaluations were performed at two (CA1, with scale) and four weeks (CA2, with scale) after the first. The precision of the estimates, according to the Pearson correlation coefficient, significantly improved when the scale (CA1:  $r = 0.91$  and CA2:  $r = 0.93$ ) was used compared to without scale (SA:  $r = 0.34$ ). Likewise, generalized bias (Cb) was significantly affected because unaided estimates were imprecise (Cb = 0.35). Overall agreement (pc) was significantly improved for CA1 and CA2 compared to SA ( $pc > 0.9$ ). Therefore, the scale proposed in this study turned out to be useful in estimating the severity of cucumber mildew in the field.

**Key words:** *Cucumis sativus*, leaf disease, epidemiology, phytopathometry.

## I. INTRODUCCION

El pepino (*Cucumis sativus* L) pertenece a la familia Cucurbitácea y tiene su origen en el sur del Himalaya (Naegele y Wehner, 2017). Se considera uno de los vegetales de mayor importancia económica en el mundo. Esta planta produce frutos ricos en nutrientes donde se incluyen proteínas, multivitaminas, cucurbitacinas, calcio, hierro, diácido propanóico y otros elementos esenciales para la dieta humana (Li *et al.*, 2015). La cucurbitacina C localizada en los frutos, inhibe la proliferación de varios tumores y también previene la inflamación del hígado (Zhang *et al.*, 2012). Además de esto, los frutos silvestres de pepino se utilizan como medicina natural para tratar diversas enfermedades (Zhang *et al.*, 2012; Paucar *et al.*, 2018).

En sus formas de uso, se declara que ha sido una fuente importante de alimento por más de 5,000 años, utilizado en la cocina y en otros usos no culinarios. Los frutos son consumidos comúnmente en estado fresco como ensaladas, encurtidos, cocidos y utilizados como productos cosméticos donde se incluyen lociones, perfumes y jabones (Ayala-Tafoya *et al.*, 2015).

Se puede cultivar tanto en campo a cielo abierto como en invernadero. La producción en ambientes protegidos es una de las prácticas agrícolas utilizadas para la protección de cultivos (Alhasnawi *et al.*, 2020) aunque debido a las altas temperaturas que se producen dentro de los invernaderos, se incrementa la proliferación de hongos fitopatógenos que provocan enfermedades en el cultivo. Los géneros de hongos más comunes que inciden sobre el cultivo del pepino son *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Pseudoperonospora* (Almándoiz *et al.*, 2016; Ramezani *et al.*, 2017).

La especie *Pseudoperonospora cubensis* (Berck & Curt) Rost. (Peronosporales: Peronosporaceae) es un patógeno que causa la enfermedad comúnmente conocida como mildiu de las cucurbitáceas. Esta enfermedad ataca a más de 40 plantas hospedantes agrupadas dentro de 20 géneros. La infección ocurre en los cotiledones y en las hojas verdaderas. Esta enfermedad foliar altamente destructiva de las cucurbitáceas, se considera como una de las más importantes en la producción de pepino en México, pues su desarrollo es favorecido por las condiciones de alta humedad durante el periodo de lluvias (Ruiz *et al.*, 2008). Estudios recientes demuestran que el patógeno puede ser transmitido por las semillas y frutos de cucurbitáceas (Cohen *et al.*, 2019).

Para el manejo adecuado de la epidemia es indispensable el monitoreo de parámetros como la incidencia y severidad de la enfermedad. En este sentido, la cuantificación de la incidencia es de suma importancia para el diseño de estrategias de control. Por tal efecto, los estudios para conocer el nivel de daño y prevalencia de una enfermedad son el primer paso para comprender las pérdidas causadas por la misma (Silva *et al.*, 2016).

Sobre esta línea se desarrolla una rama de la Fitopatología denominada Patometría. Ésta es la encargada de estimar en forma cuantitativa o cualitativa una enfermedad en el campo o en condiciones controladas (Vivas *et al.*, 2012). La herramienta fundamental de la patometría son las escalas de medición. Éstas aproximan a investigadores, técnicos y agricultores a dimensionar el efecto del patógeno en el detrimento de una enfermedad o patosistema.

La cuantificación de una enfermedad puede ser por incidencia y severidad. La incidencia es más simple, precisa y fácil de cuantificar (Meirelles y Cardoso, 2012), pues indica la cantidad de plantas o partes de plantas con enfermedad con relación al total. Sin embargo, para determinar la severidad, la cual representa la cantidad de área con un síntoma en una cantidad de observación, el evaluador necesita de escalas diagramáticas descriptivas de los daños para realizar una estimación visual y establecer el nivel de daño del agente causal. Ello conlleva a la preparación o experticia del evaluador respecto al uso de la escala y sintomatología de la enfermedad (Alves *et al.*, 2015). De forma general, este parámetro está influenciado por la subjetividad del evaluador al cuantificar el daño (Meirelles y Cardoso, 2012).

El uso de los sistemas computacionales de alta precisión, así como el desarrollo de cámaras fotográficas digitales, ha impactado sustancialmente la rama de la Patometría (Meirelles y Cardoso, 2012). Actualmente, con el uso de estas tecnologías se diseñan las conocidas “Escala Diagramáticas”. Dichas escalas son representaciones ilustradas de una serie de plantas o partes de ellas con diferentes niveles de severidad. Han sido desarrolladas para enfermedades en distintos cultivos y usadas para estimar síntomas de severidad en raíces, hojas, frutos y panículas (Meirelles y Cardoso, 2012).

Hoy en día, las escalas diagramáticas se han convertido en la principal herramienta de evaluación de severidad para muchas enfermedades, siendo de fácil uso, aplicables a

un gran número de condiciones, y poseen un gran intervalo para representar todos los estados de desarrollo de la enfermedad, lo cual permite su evaluación inmediata (Acco *et al.*, 2020).

Este tipo de escala permite la normalización de la estimación visual, por lo que la evaluación es más precisa y exacta entre los evaluadores y reduce el error en la estimación visual (Alves *et al.*, 2015; Acco *et al.*, 2020). La propuesta de establecer un sistema estandarizado para orientar la evaluación de la severidad de una determinada enfermedad es de gran responsabilidad, pues, si el sistema es deficiente, el costo de su utilización puede ser mayor que los beneficios alcanzados con su uso (Cristiane-Delmadi, 2018). Por tal razón antes de utilizarlas en la práctica, tienen que ser sometidas a validación a fin de mejorar la exactitud y precisión de las evaluaciones de severidad (Capucho *et al.*, 2011). Actualmente, la evaluación de la severidad de *P. cubensis* en el cultivo de pepino se dificulta debido a que las metodologías o escalas existentes no son lo suficientemente exactas para la cuantificación adecuada de la misma. Por tal motivo, resulta necesario el diseño de una escala diagramática que permita realizar una adecuada evaluación de la severidad de esta enfermedad foliar sobre el cultivo del pepino bajo las condiciones edafoclimáticas del estado de Morelos, México, y que contribuya como una herramienta para el manejo integrado de la enfermedad.

## II. OBJETIVOS E HIPOTESIS

### 2.1 Objetivo general

- ✓ Diseñar y validar el uso de una escala diagramática para evaluar la severidad de *P. cubensis* en el cultivo del pepino en el estado de Morelos.

#### 2.1.1 Objetivo particular

- Generar, evaluar y validar una escala diagramática para la severidad del mildiu de las cucurbitáceas en el cultivo del pepino en el estado de Morelos.

### 2.2 Hipótesis

- El empleo de la escala diagramática para determinar la severidad de *P. cubensis* en el cultivo del pepino permitirá hacer estimaciones del daño de forma precisa y exacta.

### III. REVISION DE LITERATURA

#### 3.1 Importancia del cultivo de pepino

El pepino (*Cucumis sativus* L.), es considerado como una hortaliza de fruto inmaduro, en México se consume como fruta fresca (pepino) y en algunos casos como encurtidos (pepinillos). El pepino tiene un período vegetativo corto, tiene gran adaptabilidad de siembra, puede prosperar incluso en el clima invernal. Sin embargo, se produce más durante la estación de primavera, pues en los meses de febrero, marzo y abril es cuando se levanta el 44% de la cosecha total del año. Sinaloa es el estado que más produce y exporta pepino. Mientras que Michoacán, Morelos, Veracruz, Baja California, Guanajuato y Jalisco, se dedican a satisfacer la demanda interna nacional. México en el 2020 produjo 26,772 ton se ha colocado como el octavo lugar mundial en producción de pepino, siendo sus principales competidores España y Holanda (SIAP, 2020)

Los mercados cada vez exigen calidad, inocuidad, presentación y certificación de los productos agrícolas. Por ello en la producción se ha incrementado el uso de cubiertas en la agricultura, no siendo la excepción el cultivo del pepino, ya que esta herramienta permite modificar parcial o totalmente las condiciones climáticas y del ciclo del cultivo, además de contrarrestar los efectos negativos derivados del ambiente en forma de lluvias, vientos, heladas o plagas. Los rendimientos de cultivos bajo cubierta son superiores a los obtenidos al aire libre, puesto que la planta trabaja mejor en ambientes más idóneos donde las temperaturas fluctúan con moderación, las corrientes de aire son moderadas y la incidencia de plagas (Casilimas *et al.*, 2012).

#### 3.2 Manejo del cultivo de pepino

El cultivo de pepino se puede cultivar en la mayoría de los tipos de suelo. Los niveles de pH pueden oscilar entre 5.8 y 8.6. Sin embargo, el cultivo es sensible a las bajas temperaturas; pueden dañarse fácilmente con las heladas, y el crecimiento es lento a temperaturas por debajo de 10°C. La temperatura del suelo óptima para el cultivo oscila de los 21 a 27°C. Mientras que la del ambiente debe ser de 21 a 29°C. El cultivo de pepino en estos últimos años se ha establecido con el uso de acolchados lo que ha favorecido que las temperaturas del suelo se eleven y las plantas presentan un mayor desarrollo y por ende se presenta la fructificación temprana. Además, evita el crecimiento de malezas,

ayuda a hacer más eficiente al riego y al manejo de fertilizantes. Por otro lado, las desventajas de estos sistemas incluyen los altos costos de producción y la necesidad de desechar el acolchado de plástico al finalizar cada estación. La densidad de siembra puede variar, depende de la región y de las condiciones edafoclimáticas. En sistemas protegidos se deben utilizar densidades de 3.1 a 4.9 plantas por metro cuadrado, con distancias de 40 cm entre hileras y 25 a 40 cm entre plantas. Para la nutrición de la planta se recomienda realizar análisis de suelo y agua para determinar la fertirrigación. Los riegos deben ser constantes desde la germinación y/o trasplante hasta el final de cultivo. La nutrición se realiza al inicio al 50% con una solución de los nutrientes minerales N-P-K-Ca-Mn-B-Cu-Zn en la dosis de 250-50-250-20-50-0.5-0.1-0.1 respectivamente. Posteriormente es necesario realizar el tutoreo en forma individual con rafias o se pueden utilizar espalderas (mallas) de 15 x 15 cm. Conforme crece la planta se realizan podas las cuales favorecen el crecimiento y desarrollo del cultivo, ayuda a regular la temperatura, humedad relativa y disminuye la incidencia de las enfermedades. Se deben eliminar las hojas y plantas enfermas con frutos deformes. Es muy importante mantener el equilibrio entre el número de frutos y hojas para no afectar el rendimiento. Para lograr una polinización eficiente se deben colocar de 6 a 8 colmenas de abejas o abejorros por hectárea, cuando se presente la apertura floral. Evitar la aplicación de agroquímicos que promuevan la mortalidad de los polinizadores. La cosecha inicia entre los 50 a 55 días después de la siembra en verano y de 60 a 75 días en invierno. Se cosechan los frutos inmaduros de color verdes oscuro, pulpa blanca y de forma cilíndrica, con peso aproximado de 250 a 400 gr y de 25 a 30 cm de longitud por 5 a 7 cm de diámetro (Boyhan *et al.*, 2014; Larson *et al.*, 2014; Reiners *et al.*, 2019).

### **3.3 Enfermedades del pepino bajo invernadero**

Las enfermedades producidas por hongos, bacterias y virus son muy comunes dentro de las cucurbitáceas, sobre todo cuando las condiciones ambientales son muy favorables. En muchas ocasiones el manejo agronómico no es suficiente para minimizar el impacto negativo de estos microorganismos (Obregón, 2017).

Las principales enfermedades que se tienen reportadas en México que atacan al cultivo de pepino bajo invernaderos son pudrición de raíces ocasionadas por *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum*, la gomosis *Didymella bryoniae* y

en el follaje *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., el moho gris *Botrytis cinerea*, la cenicilla polvorienta *Sphaerotheca fuliginea*, y el mildiú veloso *Pseudonospora cubensis*, siendo este último el de mayor importancia en los invernaderos de producción en Cuautla, Morelos. Debido a que pueden ocasionar severos daños al atacar a la planta (Almándoiz *et al.*, 2016; Ramezani *et al.*, 2017).

### **3. 4 Mildiu de las cucurbitáceas (*Pseudoperonospora cubensis*)**

#### **3.4.1 Importancia**

El mildiu (*Pseudoperonospora cubensis*) es uno de los hongos fitopatógenos más comunes que atacan al cultivo de pepino, de forma muy agresiva cuando las condiciones climáticas son favorables puede ocasionar pérdidas del 80% al 100% de la producción al disminuir el rendimiento y calidad de los frutos (Lebeda y Cohen, 2010). *P. cubensis* es un parásito obligado por lo que su supervivencia depende de la presencia de cucurbitáceas y otras plantas hospederas. Las altas temperaturas y la humedad relativa favorecen el desarrollo de esta enfermedad, desafortunadamente los estados donde se produce (Oaxaca, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Morelos y Colima) predominan estas condiciones lo que hacen que esta enfermedad sea devastadora. Este hongo afecta a las plantas hospedantes en todas las etapas fenológicas ataca principalmente a las hojas (Colucci y Holmes, 2010).

#### **3.4.2 Morfología**

El hongo presenta micelio hialino, no tabicado. Esporangióforos ramificados dicotómicamente en su tercio superior y en sus extremos se insertan los esporangios de forma individual. Esporangios de color gris violáceo, de forma ovoide a elipsoide, de 20-40 x 14-25  $\mu\text{m}$ , de pared delgada y no papilados. Zoosporas biflageladas, de 10-13  $\mu\text{m}$  de diámetro. Oosporas globosas, de 22-42  $\mu\text{m}$  de diámetro, de color amarillo claro o hialinas (Martínez *et al.*, 2006).

#### **3.4.3 Síntomas y signos**

Los primeros síntomas aparecen sobre el haz de las hojas más viejas y se manifiestan como pequeñas manchas de color verde pálido y de forma irregular conforme pasa el tiempo se tornan de color amarillo brillante. Por el envés de las hojas el color amarillo es menos brillante y en condiciones de alta humedad se pueden observar lesiones de

aparición lanosa de una tonalidad gris pálido a púrpura que corresponden a fructificaciones del patógeno (Esporangios y esporangióforos). Eventualmente estas manchas pueden aumentar en tamaño o unirse formando grandes áreas necróticas causando la muerte de la hoja. El ataque generalmente ocurre en el follaje próximo al centro de la planta, posteriormente se forman las áreas necróticas que llegan a cubrir todo el follaje y causan una defoliación. Los frutos no alcanzan a madurar, se reduce el grado de azúcar y calidad. La falta de follaje puede causar daños de sol (Cohen *et al.*, 2013).

Se pueden observar esporangios y esporangióforos que son más evidentes en condiciones de alta humedad, en horas de la madrugada o después de la lluvia, en el envés de la hoja. En infecciones muy severas, la esporulación puede ocurrir también en el haz. El color de la esporulación va desde incoloro a castaño grisáceo o púrpura, dependiendo de la densidad y la edad de los esporangios (Arauz *et al.*, 2010).

#### **3.4.4 Ciclo de la enfermedad**

El mildiu es una enfermedad policíclica que puede permanecer en el suelo o sobre restos de plantas. Las infecciones primarias son originadas por los esporangios, los cuales son diseminados por el agua de lluvia o riego, viento, por herramientas contaminadas y por insectos (Martínez *et al.*, 2006). La temperatura óptima para la esporulación es de 15° C con 6-12 horas de humedad. Las plantas sintomáticas con lesiones cloróticas poseen gran capacidad de esporulación. Los esporangios y los esporangioforos son afectados por las variaciones en humedad y temperatura. Cuando el esporangio entra en contacto con un hospedante susceptible y en presencia de humedad libre, de cada esporangio se liberan de 5-15 zoosporas. La humedad es también importante para el movimiento de las zoosporas, el desarrollo del tubo germinativo y la penetración en los tejidos del hospedante. Un exceso de humedad puede reducir la duración de la viabilidad del esporangio (Cohen, 1977).

Las zoosporas pueden liberarse en un rango de temperaturas de 5-28 °C. La temperatura óptima para la liberación de las zoosporas depende de la duración del periodo de mojado de la hoja, si la hoja permanece mojada durante 1 hora, la temperatura mínima para la liberación de las zoosporas es de 10° C y la temperatura óptima para el enquistamiento de las zoosporas es de 25° C. En las zoosporas enquistadas se forma el tubo germinativo que penetra en el hospedante por los estomas. Luego de lo cual a partir

del crecimiento intercelular el patógeno forma haustorios que proveen los nutrientes necesarios para la supervivencia y la reproducción asexual (Cristóbal *et al.*, 2006).

A partir de la diferenciación del micelio emergen, generalmente a través de los estomas, nuevos esporangioforos simples o agrupados. Los nuevos esporangios se producen 4-12 días después de iniciada la infección, dependiendo de la temperatura y la duración del día. La emergencia de los esporangioforos se produce en presencia de condiciones de elevada humedad. Los síntomas aparecen 3-12 días después de la infección, dependiendo de la temperatura, alta humedad y nivel de inóculo. Las temperaturas elevadas (35° C) son desfavorables para el desarrollo de la enfermedad (Lebeda y Widrlechner, 2004).

#### **3.4.4 Manejo del Mildiu de las cucurbitáceas**

Los parámetros usados en la prevención de la enfermedad incluyen el monitoreo de la aparición y el movimiento del patógeno (Ojiambo *et al.*, 2009). Algunas prácticas culturales, como la fecha de siembra, densidad de cultivo, modo y frecuencia de riegos y nutrición mineral, ejercen cierto efecto en el control de *P. cubensis* (Cohen *et al.*, 2013). En cuanto a las variedades algunas presentan cierta tolerancia a esta enfermedad. Sin embargo, no se han evaluado a detalle por la falta de una escala diagramática establecida en pepino que facilite su evaluación y clasificación de las variedades comerciales que se liberan. Por lo tanto, el control químico ha sido el más efectivo en el manejo de esta enfermedad. Los fungicidas sistémicos protegen y tienen un efecto curativo, pueden detener el desarrollo de la enfermedad luego de la infección. Este tipo de fungicidas tienen un alto riesgo de generar resistencia en el patógeno. Sin embargo, desde años atrás se utilizan fungicidas sistémicos principalmente las fenilamidas (metalaxil y oxadixil). Actualmente se recomienda dimetomorf y el Fosetil-AI (Thornidis y Elena, 2001). Barlett *et al.* (2002), recomiendan al azoxystrobin para manejar enfermedades pertenecientes a los Deuteromycetes. En el control biológico ha funcionado al tratar a las semillas de pepino y la pulverización de hojas con *Pythium oligandrum*, se ha encontrado que hay un retraso en la infección primaria. Lebeda y Cohen (2011), recomiendan el extracto de *Inula viscosa* y la sustancia alicina para reducir la severidad de *P. cubensis* en pepino

## 4.5 Diagramas de Severidad

Los métodos adecuados para la evaluación de la enfermedad deben permitir un mayor grado de exactitud, precisión y repetitividad, por lo que tales métodos varían según el agente causal de la enfermedad. La severidad es la variable utilizada en el caso de enfermedades foliares y la cuantificación de esta variable es crucial para dar subsidios a diversas acciones en la agricultura, como los estudios epidemiológicos, evaluar las estrategias de control, seleccionar genotipos resistentes y realizar pruebas con productos agroquímicos (Campbell y Madden, 1990). La evaluación de la severidad se lleva a cabo normalmente de manera subjetiva por medio de análisis visuales, por lo tanto, la escala diagramática se ha convertido en una herramienta importante en estos estudios (Nutter *et al.*, 2006). Las escalas se usan en la normalización de la estimación visual, por lo que la evaluación es más precisa y exacta entre los evaluadores y reduce el error en la estimación visual (Campbell y Madden, 1990).

Entre las características más importantes en una escala diagramática se encuentran: facilidad de uso, aplicabilidad ante una amplia gama de condiciones con resultados reproducibles y la existencia de intervalos que representan todas las etapas de desarrollo de la enfermedad (Berger, 1980; Bergamin y Amorim, 1996).

La propuesta de establecer un sistema estandarizado para orientar la evaluación de la severidad de una determinada enfermedad es de gran responsabilidad, pues, si el sistema es deficiente, el costo de su utilización puede ser mayor que los beneficios alcanzados con su uso (Leite y Amorim, 2002; Nutter y Schultz, 1995). Sin embargo, la estandarización es altamente deseable, pues la uniformización de la metodología de evaluación de enfermedades permite comparaciones entre los resultados obtenidos en diferentes instituciones y localidades (Bergamin y Amorim, 1996).

La utilidad de los diagramas estándar es mostrar en forma real, varios niveles de severidad tomando en consideración el tamaño, forma y distribución de la lesión. Los diagramas muestran típicamente los síntomas de la enfermedad para un rango de severidades, frecuentemente hasta un 50% del área total (Gaunt, 1987). La severidad puede ser estimada por técnicas indirectas como es el uso de la incidencia. Sin embargo, el análisis de imágenes permite evaluar la severidad de enfermedades en forma objetiva, además de que el proceso puede ser automatizado (Bock *et al.*, 2008) con programas de

dominio público para el análisis de imágenes, como es el programa ImageJ 1.48r (Rasband, 2014). Barbedo (2013) considera que la estimación visual es preferida porque la medición mediante procesamiento de imágenes requiere de cierto grado de intervención del usuario, y porque el precio de los programas especializados es elevado. Sin embargo, en el cultivo de pepino no existe una escala diagramática que nos ayude evaluar la severidad de la enfermedad de los diferentes genotipos que se siembran en Morelos.

## **IV. MATERIALES Y METODOS**

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc y en el laboratorio de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

### **4.1 Sitio de muestreo**

Se colectaron hojas de pepino que exhibían una variedad de severidades de mildiú. Los muestreos se realizaron en los meses de septiembre y octubre del 2019 en una plantación comercial a cielo abierto en la localidad “Los Girasoles” perteneciente al municipio de Cuautla, ubicada en las coordenadas (18°50'58.7" N de latitud y 98°55'31.1" O de longitud) y en la localidad de “Nacatongo” en el municipio de Tlayacapan, ubicada en las coordenadas (18°56'21.4" N de latitud y 98°58'39.3" O de longitud), estado de Morelos, a una altitud de 1397 y 1543 m, respectivamente. Para desarrollar la escala diagramática, se seleccionaron 150 hojas pepino, con distintos niveles de severidad del mildiú.

### **4.2. Determinación de porcentaje de daño por *P. cubensis* y número de las clases de una propuesta de una escala diagramática**

#### **4.2.1 Toma de imágenes**

Se tomaron fotografías de 150 hojas en total con diferentes niveles de severidad de mildiú (cobertura total de la hoja por los síntomas). Las fotos se tomaron con la cámara de un celular Huawei mate 20 pro con una resolución de 40 megapíxeles, por el haz con un fondo de tela color azul y todas a una misma distancia (30 cm de espaciamiento desde la cámara) montado sobre un tripie a una altura de 50 cm. (Del Ponte *et al.*, 2017).

#### **4.2.2 Determinación del % de daño**

Cada imagen fue analizada utilizando el software Asses V2.0 (The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA). Se utilizó el modelo de color automático de intensidad de saturación de tono (HSI por sus siglas en inglés) para seleccionar el área enferma y el área total de la hoja, el cual se utilizó para calcular automáticamente la proporción del área foliar afectada proporcionada por Asses (Del Ponte *et al.*, 2017).

### **4.2.3. Determinación de las clases**

El número de clases para la escala se determinó con base a los criterios emitidos por Del Ponte et al. (2017) donde sugiere que el número de clases no debe ser menor a 6 ni mayor a 10 y el cual debe estar distribuido de forma apropiadamente lineal, y espaciado a no más de 15 %, esto tomando en cuenta el nivel máximo de severidad que se tuvo en campo.

Los valores mínimos y máximos de severidad del muestreo se utilizaron para determinar los límites inferior y superior de la escala. Se definieron otros seis valores de severidad con intervalos que variaron entre 2 a 8%.

### **4.3. Diseño de la escala diagramática**

La determinación de los diagramas que se utilizaron para cada una de las clases individuales en la escala diagramática, se preparó de manera realista, utilizando un dibujo de una hoja como base. Las lesiones se agregaron manualmente a cada diagrama, con formas y patrones espaciales que imitaron los de las hojas reales, para llegar al valor de severidad seleccionado (Del Ponte *et al.*, 2017).

### **4.4 Validación de la escala diagramática**

Un grupo de 20 estudiantes de Ingeniería Química de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, sin experiencia previa en el uso de la escala, a quienes se les proyectaron 50 imágenes de hojas enfermas con la severidad previamente determinada, la cual fue desconocida por ellos, la proyección se realizó por medio de diapositivas individuales en PowerPoint. Estas imágenes se proyectaron durante tres ocasiones a 20 personas. Se proporcionaron instrucciones a los participantes sobre cómo reconocer los síntomas de la enfermedad y cómo evaluar la severidad. Durante cada sesión, las imágenes digitales de las hojas enfermas se mostraron con un proyector marca Benq modelo MW550 (fabricado por BenQ Corporation) en una secuencia aleatoria durante 30 segundos por imagen. Todos los evaluadores asignaron simultáneamente un porcentaje de severidad (0 a 100 %) durante las tres ocasiones.

#### **4.4.1. Procedimiento para la realización de la validación**

1. En la primera proyección, a cada uno de los 20 participantes, se les proporcionó una hoja con numeración del 1 al 50, con un pequeño espacio donde los participantes colocaron el porcentaje de daño que para su visión esta representó. Este proceso se realizó sin ayuda de la escala elaborada.
2. Quince días posteriores a la primera proyección se repitió el proceso anterior, solo que en esta ocasión los evaluadores hicieron estimaciones del porcentaje de daño con la ayuda de la escala previamente desarrollada.
3. Después de la segunda evaluación en un intervalo adicional de 2 semanas se volvió a realizar una estimación del porcentaje de daño en la hoja utilizando nuevamente la escala desarrollada.

Las condiciones previas y posteriores de la prueba fueron las mismas para evitar cualquier impacto de distracción en la precisión de las estimaciones durante las pruebas. Las tres repeticiones del experimento se realizaron con ayuda de las mismas veinte personas.

Al concluir con este proceso todos los datos se importaron a una hoja del programa Microsoft Office Excel 2016 para poder realizar los análisis estadísticos correspondientes (Del Ponte *et al.*, 2017).

#### **4.5. Análisis estadísticos**

Para la evaluación del efecto de la escala diagramática en los componentes de precisión y exactitud, para cada evaluador se evaluaron las estimaciones utilizando el coeficiente de correlación de concordancia de Lin (Lin 1989). El coeficiente de Lin ( $\rho_c$ ) proporciona una media general de concordancia o exactitud, tomando en cuenta tanto la precisión (coeficiente de correlación,  $r$ ) como el parámetro de sesgo generalizado, un coeficiente calculado en función del sesgo sistemático ( $u$ ) y el sesgo constante ( $\mu$ ) (Madden *et al.*, 2007). Se utilizó un análisis a través de un modelo lineal generalizado para probar la hipótesis de que las medias de cada uno de los cinco coeficientes de Lin entre los evaluadores no difirieron entre las tres evaluaciones secuenciales. El análisis de desviación probó la significancia de los efectos fijos usando una prueba de Bartlett con una

probabilidad del 5% ( $P > X^2$ ). Adicionalmente, se evaluó la confiabilidad o reproducibilidad utilizando el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) (Nutter and Schultz 1995). Los análisis estadísticos se realizaron en el paquete R (R Core Team 2016) y mediante el software estadístico SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA 2002).

## V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1 Determinación de porcentaje de daño por *P. cubensis* en *C. sativus* y las clases de la escala

Los valores de severidad reales de mildiú del pepino determinados por análisis de imagen variaron de 2% a 47% que fue la severidad mínima y máxima encontrada en campo. Por lo tanto, el conjunto de diagramas de la escala consistió en ocho hojas, cada una con una severidad diferente (2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 y 47%), las cuales fueron representadas en diagramas en blanco y negro (Figura 1).

Es importante señalar que la escala no comienza con hojas sanas como suele ocurrir en otros tipos de escalas diagramáticas, pues el grado mínimo (2 %) indica el comienzo de la incidencia de la enfermedad en las hojas. En este caso las manchas cloróticas suelen ser escasas, distribuidas al azar y sobre todo pequeñas, llegando a medir entre 3 a 7 mm.

En el grado 4 de la escala, las manchas continuaron siendo pequeñas y comenzaron a necrosarse, pero aparecieron en mayor cuantía y agrupándose generalmente en el centro de las hojas.

Las manchas cloróticas descritas en el grado 8 de la escala se expandieron cerca de los peciolo, pero a su vez estas fueron restringidas por las nerviaciones de las hojas, cabe señalar que en algunas manchas ya se encontraban necrosadas.

El grado 16 se caracterizó porque las manchas comenzaron a unirse entre ellas hasta ocupar parte de los bordes de las hojas. A partir del grado 24 hasta el 47 se manifestó un rápido incremento del número de manchas, así como de sus dimensiones. Las manchas se volvieron necróticas principalmente en los grados 40 y 47 donde además se observó una capa fina de color par-do oscuro, gris o negro violáceo. Como todas las escalas diagramáticas, esta se ordenó ascendentemente en cuanto al porcentaje de severidad llegando a clasificar hojas con el 47 % de su área foliar con manchas cloróticas y necrosadas por *P. cubensis*.

La esquematización de la severidad de la enfermedad en cada uno de los grados de la escala es bien marcado y diferenciable, por lo que le ayudará al evaluador a identificar la severidad de *P. cubensis* en *C. sativus*. Entre el grado 2 al 8, se manifiestan las primeras

manchas necróticas dispersas dentro del haz de las hojas. A partir del grado 16 comienza un aumento significativo del número de manchas e incluso se evidencia la unión de dos o varias manchas para formar una gran sección necrosada en la hoja. Se puede observar además los bordes de las hojas afectados por esta enfermedad.

Las escalas diagramáticas pueden variar en dependencia de la severidad de la enfermedad en el material vegetal observado y también por el criterio de percepción del evaluador, por esta razón se realizaron tres evaluaciones con los mismos evaluadores en cada caso. Mohammed *et al.* (2004), realizaron una escala diagramática para evaluar la severidad de enfermedades foliares con seis grados, la cual fue modificada por Hernández *et al.*, (2007) para el cultivo de pepino. A diferencia de nuestra escala, ellos identifican un grado inicial 0 donde no se presentan síntomas de la enfermedad. Esto denota la variabilidad de las escalas en dependencia de la severidad de la enfermedad en los sitios de muestreos, pues los muestreos realizados en el presente estudio revelaron que todas las hojas manifestaron síntomas de la enfermedad y el menor grado fue de un 2 % de severidad.

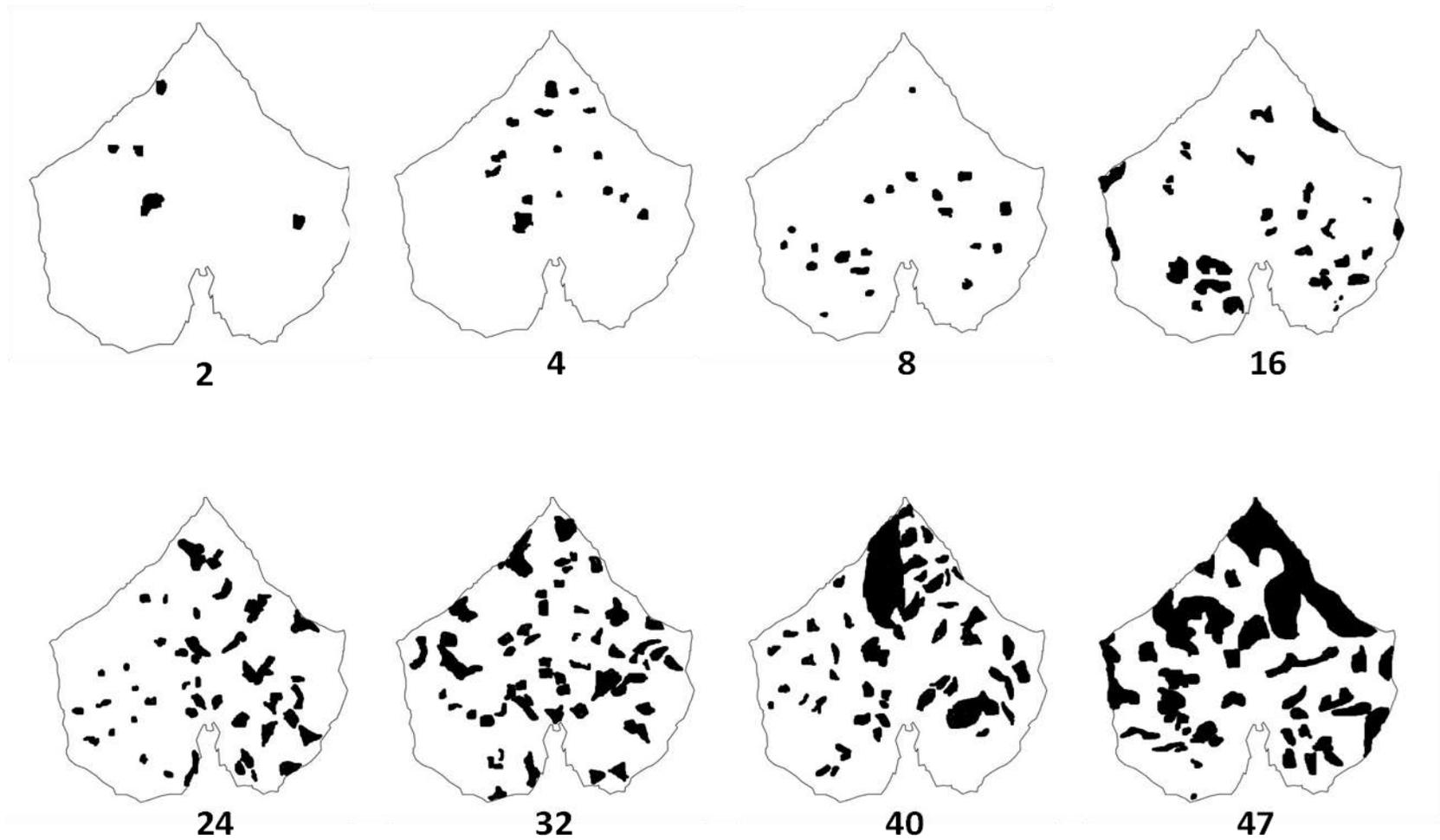
El grado 1 para estos autores representó un 10 % de afectación lo que hizo que consideraran a la planta aún como resistente. Seguidamente el grado 3 representó un 25 % de severidad de la enfermedad y a partir de este grado consideran a la planta susceptible. La escala aumenta en cuanto a progreso de la enfermedad en las hojas con un grado 5 (50 % de afectación), grado 7 (70 % de afectación) y finalmente un grado 9 donde la planta es altamente susceptible con el 100 % de la superficie foliar clorótica. Por el contrario, la escala propuesta tiene un grado máximo de 47 % de daño donde no toda la hoja se encuentra clorótica o necrosada. Dicho trabajo fue realizado en Guayas, Ecuador y esto nos confirma nuevamente que las escalas diagramáticas dependen de las condiciones ambientales del lugar donde se realicen, pues se conoce que a altas temperaturas y sequía la manifestación de la enfermedad es mucho más rápido que a temperaturas bajas. Por esta razón se recomienda utilizar escalas confeccionadas para los lugares específicos donde se va a muestrear o aquellas acordes con las características climáticas de la región en estudio.

Cristóbal *et al.* (2006), también crearon una escala logarítmica diagramática para evaluar la severidad de *P. cubensis*, pero en el cultivo del melón en la región de Yucatán,

México. La escala confeccionada constó de siete clases y según los autores ofrece mayores ventajas que las escalas arbitrarias, basadas en el porcentaje de área foliar dañadas con cuatro y seis clases solamente, ya que estas últimas hacen que el sistema de evaluación sea impreciso y poco reproducible en la práctica. Al contrario las escalas logarítmicas diagramáticas basadas en el principio de Weber-Fechner permiten establecer clases con base en un sistema logarítmico que elimina la designación arbitraria de clases o categorías de enfermedad, además de incluir una representación fotográfica para cada clase o categoría de medición con dos atributos: una dimensión logarítmica y una representación pictórica, lo que hacen mejorar la exactitud, la precisión y la reproducibilidad, haciéndolas prácticas y de fácil uso.

Aunque la escala generada en esta investigación se basa en la severidad de *P. cubensis* en *C. sativus* y no en *C. melo*, sí cumple con todos los requisitos anteriormente mencionados por Cristóbal et al. (2006) y la hace mucho más específica y práctica que el resto de las escalas arbitrarias elaboradas para evaluar la severidad de esta enfermedad en el cultivo, como lo es el caso de la escala propuesta por Hernández *et al.*, (2007).

Igualmente, existen escalas logarítmicas para evaluar la severidad de muchas enfermedades, pero todas tienen como principio la toma de muestra o de imágenes, procesamiento por parte de los observadores y por último su validación antes de aplicarla. Ortega-Acosta et al. (2016) validaron una escala de este tipo para evaluar la severidad de *C. cassicola* en Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Estos autores tomaron un total de 50 hojas y 50 cálices de Jamaica representativos de los diferentes grados de severidad y determinaron un total de seis clases para las hojas y seis clases para los cálices. El primer grado para ambos fue 0, sin daño y el máximo 5 con un daño de 57 a 100 % para las hojas y 77-100% para los cálices.



**Figura 1.** Conjunto de diagramas de la escala desarrollados para evaluar la severidad de mildiu en las hojas de pepino. Los números en los diagramas representan el porcentaje (%) del área de la hoja con síntomas necróticos de la enfermedad.

## 5.2 Relación entre severidad real y evaluada de *P. cubensis*

Las estimaciones obtenidas durante las dos evaluaciones mediante la escala diagramática fueron generalmente más cercanas a los valores reales, como se muestra en los diagramas de dispersión de las evaluaciones contra la severidad real (Figura 2).

El análisis muestra que se obtuvo una mayor dispersión de los datos cuando se realizó la evaluación sin ayuda de la escala ( $R^2= 0.13$ ) (SA). Sin embargo, cuando se utilizó la escala diagramática (2-47% de área necrosada) a las dos ( $R^2= 0.93$ ) (CA1) y cuatro ( $R^2= 0.94$ ) (CA2) semanas posteriores a la primera observación se obtuvieron patrones más concentrados. Estos resultados validan la efectividad de la escala diagramática confeccionada para la evaluación de *P. cubensis* en *C. sativus*.

Una escala o conjuntos de diagramas debe validarse antes de su aplicación en estudios epidemiológicos, particularmente en trabajos donde existen implicaciones importantes para la toma de decisiones como la evaluación de tratamientos químicos y comportamiento de cultivares. Es necesario enfatizar que cuando se cuenta con escalas para evaluar la severidad de la enfermedad, es importante conocer si la misma ha sido validada para la región en que se va a aplicar, de lo contrario hay que hacer estudios de aplicabilidad. Lo ideal es utilizar escalas aptas para la enfermedad en la región de estudio (Mora-Aguilera, 2013).

## 5.3 Evaluación de la exactitud, precisión y concordancia de las estimaciones de severidad de *P. cubensis* en *C. sativus*

Las comparaciones en exactitud de los valores obtenidos a través de los sesgos sistemáticos (Scale-shift,  $v$ ) y constantes (Location-shift,  $u$ ) entre los evaluadores presentaron gran variación, con una ligera disminución en la variabilidad durante la segunda y tercera sesión con ayuda de la escala, que tendió a estar más cerca de los valores de referencia sin sesgo sistemático ( $v=1$ ) y sin sesgo constante ( $u=0$ ) (Figura 3).

Estadísticamente, el sesgo constante ( $u$ ) y el sistemático ( $v$ ) de las dos evaluaciones con ayuda de la escala, difirieron con la primera evaluación porque las estimaciones sin ayuda fueron generalmente poco precisas ( $C_b=0.35$ ) (Figura 3). La precisión de las estimaciones con ayuda ( $r>0.9$ ) mejoró significativamente en ambos momentos de

evaluación en comparación con las estimaciones sin ayuda ( $r= 0.35$ ). Como resultado de la mejora en la precisión, la concordancia general mejoró tanto para CA1 como para CA2 en comparación con la sesión SA ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 1).

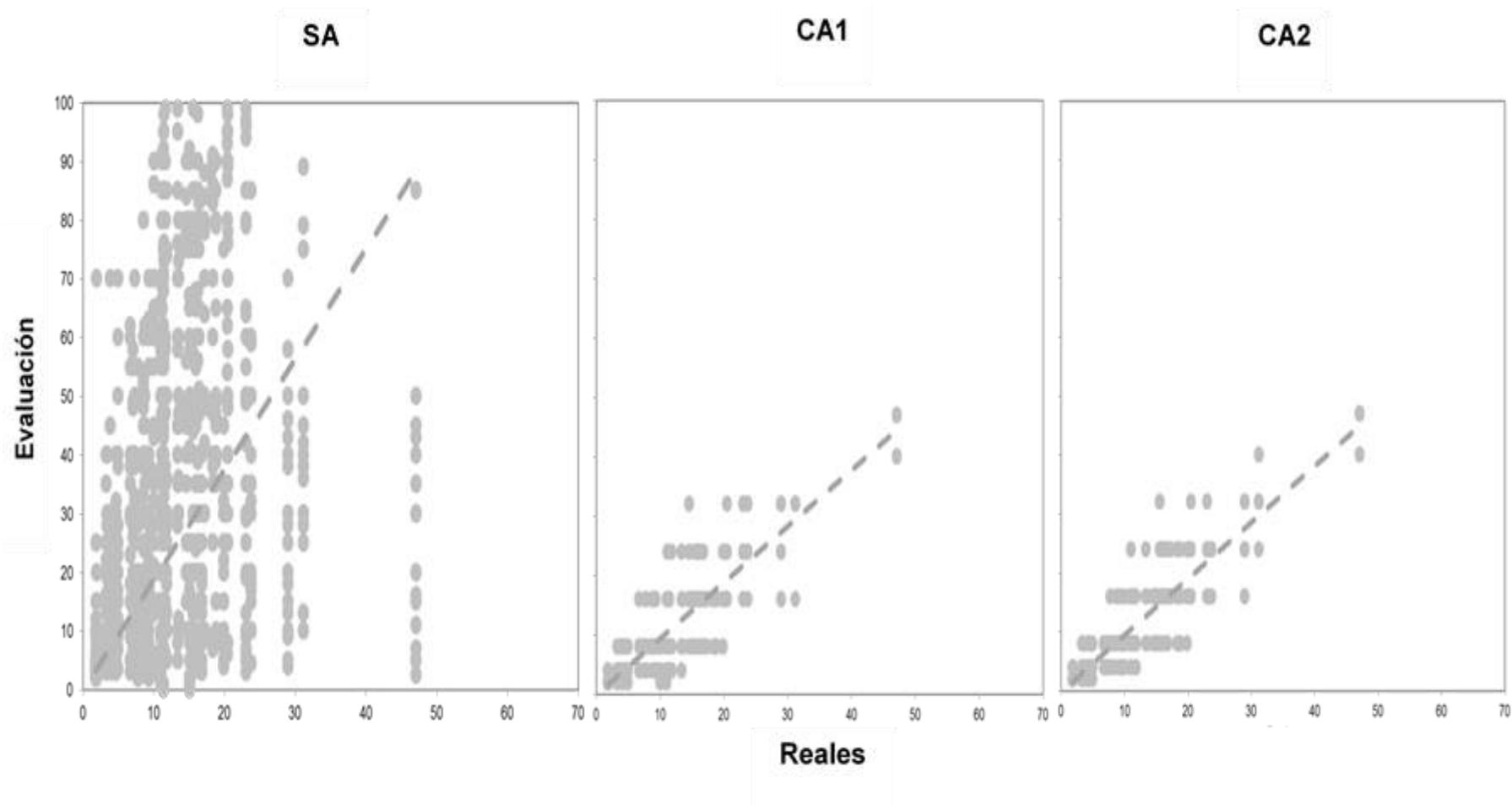
Esto demuestra que las evaluaciones para la determinación de la severidad de *P. cubensis* en *C. sativus* tienen más precisión y son más concordantes cuando se utiliza la escala diagramática confeccionada en este trabajo.

La observación visual realizada por diferentes evaluadores, es uno de los criterios más importantes para la confección de cualquier tipo de escala de daños o afectación. Además, el número de muestras a tomar determinará la confiabilidad de la escala. Tal es el caso que Leiva *et al.* (2010), quienes observaron aleatoriamente 25 hojas de melón (*Cucumis melo* L.) ubicadas en la calle central de cada parcela experimental y posteriormente promediaron los valores obtenidos para obtener un único valor general en cada unidad experimental. En la escala generada, todos los valores generales de la severidad de *P. cubensis* fueron utilizadas para la obtención del área bajo la curva de la enfermedad.

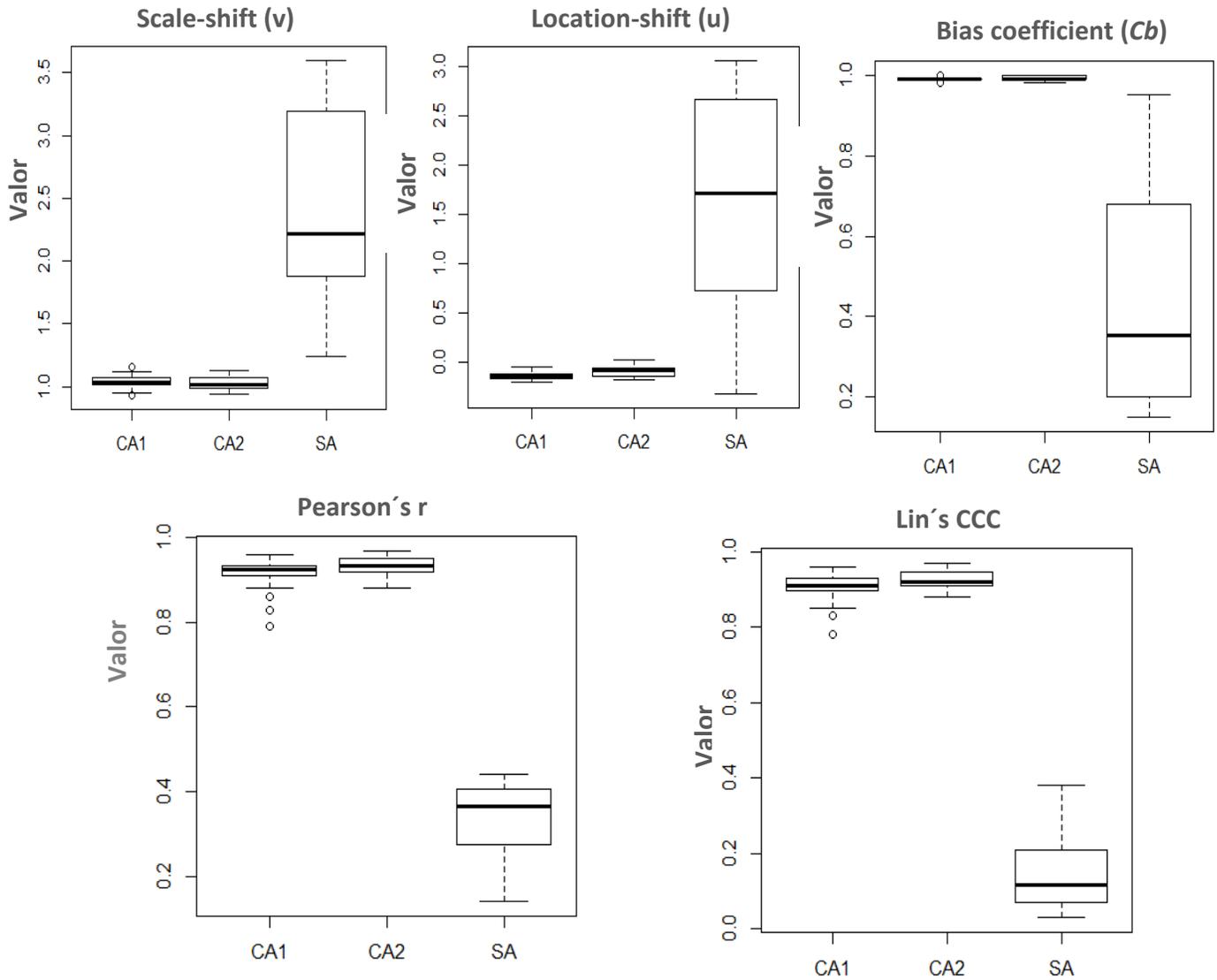
Todo evaluador antes de hacer una escala diagramática debe observar bien los signos y síntomas de las hojas y diferenciar entre un estado de inicio de la manifestación de la enfermedad con respecto a otros más avanzados (Savory *et al.*, 2011).

Existe la tendencia de que la precisión y exactitud de las evaluaciones mejoren a partir de la segunda observación. Esto se debe principalmente al uso de escalas diagramáticas y el dominio de estas, así como el conocimiento acerca de los síntomas de la enfermedad (Zavala y Cristóbal, 2012).

Existen factores externos como el tamaño y color de la lesión, la intensidad de luz, la fatiga del evaluador al momento de la evaluación, que afectan la precisión y exactitud de las evaluaciones visuales. Además, es importante señalar que puede existir la tendencia de subestimar positivamente la severidad de la enfermedad (Zabala y Cristóbal, 2012).



**Figura 2.** Relación entre la severidad real y evaluada del mildiu del pepino estimado por 20 evaluadores sin experiencia para un conjunto de 50 hojas (n=1000). La primera evaluación se realizó sin ayuda (SA) y, se realizaron dos evaluaciones adicionales a las dos (CA1) y cuatro semanas (CA2) después de la primera con la ayuda de una escala diagramática que representa la severidad del mildiu en pepino de 2% a 47%. La línea discontinua representa la línea de concordancia.



**Figura 3.** Distribución, media y desviación estándar de cada estadístico del análisis de concordancia de Lin que representa exactitud (sesgo sistemático y constante), precisión (coeficiente de correlación de Pearson – r), y concordancia (Lin's CCC) de las estimaciones de severidad del mildiu del pepino por 20 evaluadores sin experiencia para tres evaluaciones diferentes. La primera evaluación se realizó sin ayuda (SA) y, dos evaluaciones adicionales con la ayuda de una escala diagramática dos semanas (CA1) y cuatro semanas (CA2) después de la sesión de SA.

La evaluación de sesgo sistemático, constante y generalizado a través del modelo lineal, demostró que existieron diferencias en cuanto a la exactitud de la evaluación de *P. cubensis* sin ayuda de la escala en comparación con aquellas evaluaciones que se realizaron a las dos y cuatro semanas posteriores (CA1 y CA2). En este sentido, los valores de la evaluación de la enfermedad sin escala resultaron menos precisos que cuando se evaluó la misma con una escala. Sin embargo, no existieron diferencias cuando se utilizó la escala a las dos y cuatro semanas posteriores a la primera evaluación. Igualmente, los valores de precisión y concordancia fueron menores cuando no se utilizó la escala diagramática que cuando se utilizó ésta a las dos y cuatro semanas posteriores a la primera evaluación (Cuadro 1).

Los sistemas de evaluación resultan importantes debido a la participación de grupos de evaluadores en condiciones de campo, los cuales resultan esenciales en sistemas de vigilancia epidemiológica (Mora-Aguilera et al., 2013). Sin embargo, resulta necesario realizar una primera observación para lograr la familiarización de los observadores y posteriormente obtener evaluaciones con mayor precisión (Hernández y Sandoval, 2014).

Además, los resultados de esta investigación demuestran la importancia de utilizar escalas diagramáticas para la evaluación de las enfermedades ya que estas reducen la subjetividad y miden de manera precisa y confiable las estimaciones de la severidad de la enfermedad y que concuerdan con lo reportado por (Belan et al., 2014).

Al analizar la confiabilidad entre evaluadores, las estimaciones de la severidad de *P. cubensis* en *C. sativus* mejoraron con el uso de la escala diagramática en comparación con las estimaciones sin ayuda de la escala. Lo anterior se indica en el Cuadro 2 a través de la media del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), en donde se puede apreciar que existieron diferencias estadísticas en este sentido. Se obtuvieron valores de  $R^2$  de 0.12, 0.83 y 0.87 en la primera, segunda y tercera evaluación, respectivamente. Esto demostró que existió mayor grado de confiabilidad cuando se utilizó la escala a las dos (CA1) y cuatro (CA2) semanas posteriores a la primera evaluación, por lo que los valores obtenidos sin la utilización de la escala (SA) fueron pocos confiables (Cuadro 2).

**Cuadro 1.** Análisis del modelo lineal generalizado y separación de medias<sup>a</sup> de los estadísticos del análisis de correlación de concordancia de Lin que representa la exactitud (tipos de sesgo), la precisión (coeficiente de correlación) y la concordancia (Lin's CCC) de las estimaciones porcentuales de la severidad del mildiú del pepino por 20 evaluadores sin experiencia durante tres evaluaciones sin y con el uso de una escala diagramática como ayuda para la evaluación de la severidad de la enfermedad: sin ayuda (SA, sin escala), y dos con ayuda, CA1 (usando la escala, dos semanas después de la evaluación sin ayuda) y CA2 (usando la escala, dos semanas después de la evaluación con ayuda 1).

Evaluación	$\nu^b$	$\mu^c$	$C_b^d$	$r^e$	$P_c^f$
SA	1.57 a	2.40 a	0.46 b	0.34 b	0.15 b
CA1	-0.13 b	1.04 b	0.99 a	0.91 a	0.90 a
CA2	-0.09 b	1.02 b	0.99 a	0.93 a	0.93 a
$\chi^2g$ (P-value)	165.40 (<0.0001)	132.90 (<0.0001)	224.80 (<0.0001)	25.61 (<0.0001)	29.82 (<0.0001)

La escala representó ocho imágenes de hojas con severidad definida de mildiú del pepino (2-47%).

<sup>a</sup>Medias seguidas de una misma letra en la columna no son significativamente diferentes (Tukey, nivel 5%); <sup>b</sup>Sesgo sistemático ( $\nu, 1 =$  sin sesgo en relación a la línea de concordancia); <sup>c</sup>Sesgo constante ( $\mu, 0 =$  sin sesgo en relación a la línea de concordancia); <sup>d</sup>Sesgo generalizado ( $C_b$ ) mide hasta qué punto la línea de mejor ajuste se desvía de la línea de concordancia (Madden *et al.* 2007); <sup>e</sup>El coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) mide la precisión; <sup>f</sup>El coeficiente de correlación de concordancia de Lin ( $P_c$ ) combina ambas medidas de precisión ( $r$ ) y sesgo generalizado ( $C_b$ ) para medir la exactitud; <sup>g</sup>Valor de Chi-cuadrado de una prueba de Bartlett y probabilidad ( $P < 0.05$ ).

La validación de una escala diagramática se realiza para asegurar que esta es apta para ser utilizada por los evaluadores en el campo (Lenz *et al.*, 2010). Estos resultados demuestran estadísticamente la confiabilidad de la información obtenida cuando se evalúa la severidad de *P. cubensis* en *C. sativus* a través de una escala diagramática confeccionada exclusivamente para este fin. La escala diagramática desarrollada en esta investigación constituye una herramienta práctica y confiable disponible para investigadores, técnicos y productores que necesitan evaluar la severidad de esta enfermedad en el cultivo.

**Cuadro 2.** Medidas de confiabilidad entre evaluadores de las estimaciones de severidad realizadas por 20 evaluadores sin experiencia en durante tres evaluaciones sin y con el uso de una escala diagramática como ayuda para la evaluación de la severidad de la enfermedad: sin ayuda (SA, sin escala), y dos con ayuda (CA), siendo CA1 dos semanas después de la evaluación sin ayuda y CA2 cuatro semanas después de la sesión sin ayuda.

<b>Evaluación</b>	<b><math>R^{2a}</math></b>	<b>95% CI<sup>b</sup></b>	<b>P-value</b>
SA	0.120 b (0.01)	0.09-0.14	<.0001
CA1	0.834 a (0.02)	0.79-0.86	<.0001
CA2	0.872 a (0.01)	0.85-0.89	<.0001

La escala representó ocho imágenes de hojas con severidad definida de mildiú del pepino (2-47%).

<sup>a</sup> Medias (error estándar) de todas las comparaciones por pares entre evaluadores fueron calculadas utilizando el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) (Lin 1989) de la relación entre dos evaluadores. Los valores medios se compararon mediante una prueba de t apareada entre evaluaciones;<sup>b</sup> Intervalo de confianza respectivo para cada evaluación.

Experimentos realizados por Ortega-Acosta et al. (2016), para determinar la severidad del manchado de las hojas y cálices de Jamaica demostraron que cuando se utilizó la escala diagramática se obtuvo una tendencia a mejorar la exactitud de las estimaciones de la severidad emitidas por los evaluadores. Además, enfatizaron que, en todos los casos, los mayores errores absolutos y las sobrestimaciones se obtuvieron sin el uso de la escala.

Lima *et al.* (2017), al evaluar la efectividad del uso o no de una escala diagramática para determinar la severidad del mildiú de la castaña, determinaron que con el empleo de la escala la confiabilidad de las evaluaciones fue mayor que sin el empleo de la misma. Este resultado además se obtuvo con la participación de evaluadores con y sin experiencia con coeficientes de determinación de 0.91 y 0.85, respectivamente. Lo anterior concuerda con los resultados de esta investigación ya que se obtuvieron coeficientes de determinación de 0.83 y 0.87 cuando se utilizó la escala en las evaluaciones CA1 y CA2, mientras que cuando no se empleó la escala el coeficiente fue muy bajo (0.12).

## VI. CONCLUSIONES

La escala diagramática diseñada y validada constó finalmente de ocho niveles de severidad con valores mínimos y máximos que oscilaron entre un 2 a 47 % del área foliar de *C. sativus* necrosada por *P. cubensis*.

Los valores de las estimaciones de severidad de *P. cubensis* sobre *C. sativus* resultaron más concordantes, precisas y confiables cuando se utilizó la escala diagramática.

No existieron diferencias en cuanto a los valores de las estimaciones de severidad de *P. cubensis* sobre *C. sativus* a las dos y cuatro semanas posteriores a la primera observación.

Finalmente, la escala propuesta en este estudio puede ser de utilidad en la estimación de la severidad de mildiú del pepino en campo, especialmente cuando hay varios evaluadores involucrados, ya que la escala da como resultado estimaciones menos variables, lo que en última instancia da como resultado una mejora en la precisión.

## VII. RECOMENDACIONES

Determinar si la evaluación de un mayor número de hojas de *C. sativus* pudiera influir en los grados de severidad de *P. cubensis* validados a través de la escala logarítmica.

Hacer extensiva la escala logarítmica diagramática productores de la región de Morelos para que se utilicen en la determinación de la severidad de *P. cubensis* sobre hojas de *C. sativus*.

## VII. LITERATURA CITADA

- Acco, L., Gomes, D., Matos, J., Ribeiro, N., Balbi-Peña, M.I. (2020). Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da pústula bacteriana em soja. *Summa Phytopathologica*, 46: 145-149.
- Alhasnawi, N.J.R., Kareem, A.M., Abdullah, Z. M. (2020). Effect of organic and chemical fertilizers on growth and yield cucumber, *Cucumis sativus* L. *Indian Journal of Ecology*. 47.
- Almándo, J.E., Rivero, L., Rivero, E., Rodríguez, J., Orbeal, G., Domínguez, M. (2016). Evaluación de la efectividad de la zeolita sobre el mildiu veloso (*Pseudoperonospora cubensis*) en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus* L) en sistemas protegidos. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 280: 43-47.
- Alves, G., Santos, L., Duarte, H., Díaz, V., Zambolim, L., da Rocha, M. (2015). Escala diagramática para quantificação da ferrugem da folha do trigo. *Multi-Science Journal*, 1: 128-133.
- Arauz, L. F., Neufeld, K.N., Lloyd, A.L., Ojiambo, P.S. (2010). Quantitative models for germination and infection of *Pseudoperonospora cubensis* in response to temperatura and duration of leaf wetness. *Phytopathology* 100:959-967.
- Ayala-Tafoya, F., Yáñez-Juárez, M.G., Partida-Ruvalcaba, L., Ruiz-Espinosa, F.H., Campos-García, H., Vásquez-Martínez, O., Velázquez-Alcaraz, J., Díaz-Valdés, T. (2015). Producción de pepino en ambientes diferenciados por mallas de sombreo fotoselectivo. *ITEA*, 111: 3-17.
- Barbedo, J. G. A. (2013) Digital image processing techniques for detecting, quantifying and classifying plant diseases. *SpringerPlus* 2:660
- Barlett, D. W.; Clogh, J. M.; Godwin, J. R.; Hall, A. A.; Hamer, M.; Parr-Donbrzanski, D. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science* 58: 649-662.
- Bergamin, F. A. y Amorim L. (1996). *Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico*. Agronômica Ceres. São Paulo, Brasil. 299p.

- Berger, R. D. (1980). Measuring disease intensity. Pp: 28-31. In: Teng PS and Krupa SV (eds.). Crop Loss Assessment Which Constrain Production and Crop Improvement in Agriculture and Forestry. University of Minnesota Press. St. Paul, USA. 269p.
- Belan, L.L., Pozza, E.A., Freitas, M.L.O., Sousa, R.M., Jesus Junior, W.C., Oliveira, J.M. (2014). Diagrammatic scale for assessment of bacterial blight in coffee leaves. Jour-nal of Phytopathology, 162: 801-810.
- Bock C. H., P. E. Parker, A. Z. Cook and T. R. Gottwald (2008) Characteristics of the perception of different severity measures of citrus canker and the relations between the various symptom types. Plant Disease 92:927-939.
- Boyhan, G. E., Granberry D. M. and Kelly W. T (2014). Commercial production and management of squash and cucumbers. UGA extension. Universidad de Georgia. Circular 527. [https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/C%20527\\_3.PDF](https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/C%20527_3.PDF)
- Capucho, A. S., Zambolim, L., Duarte, H. S. S., Vaz, G. (2011). Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. Plant Pathology, 60: 1144-1150.
- Casilimas, H., Monsalve, O., Bojacá, C. R., Gil, R., Villagrán, E., Arias, L. A., Fuentes, L. S. (2012). Manual de producción de pepino bajo invernadero. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá, Colombia. 208 p.
- Campbell, C L., and Madden, L.V. (1990). Introduction to Plant Disease Epidemiology. United States of America. John Wiley & Sons, Inc. 532 p.
- Cohen, Y; Eyal, H. 1977. Growth and differentiation of sporangia and sporangiophores of *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber cotyledons under various combinations of light and temperature. Physiological Plant Pathology. 10: 93–103.
- Cohen, Y., Rubin, A.E., and Galperin, M. (2013). Host preference of mating type in *Pseudoperonospora cubensis*, the downy mildew causal agent of cucurbits. Plant Disease 97:292.

- Cohen, Y., Rubin, A.E., Galperin, M. (2019). Novel synergistic fungicidal mixtures of oxathiapiprolin protect sunflower seeds from downy mildew caused by *Plasmopara halstedii*. Plos One, 14: e0222827.
- Colucci, S. J; Holmes, G. J. (2010). Downy mildew of cucurbit. The Plant Health Instructor. Recuperado de: <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Oomycetes/Pages/Cucurbits.aspx>
- Cristiane-Delmadi, L. (2018). Diagramatic scale for quantification of rust severity in teak leaves. Revista Mexicana de Fitopatología, 36: 331-341.
- Cristóbal, A., Eb, L., Suárez, J.M., Pérez, A., Latournerie, L., Gutiérrez, O. (2006). Epi-demiología del mildiú de las cucurbitáceas (*Pseudoperonospora cubensis* Berk & Curt) en materiales de melón (*Cucumis melo* L.). Fitosanidad, 10: 197-201.
- Gaunt, R. E. 1987. Measurement of disease and pathogens. In: TENG, P.S. ed Crop Loss Assessment and Pest Management. St. Paul, APS Press, pp.6-18.
- Del Ponte, E. M., Pethybridge S. J., Bock C. H., Michereff S. J., Machado F. J. and Spolti P. (2017). Standard area diagrams for aiding severity estimation: scientometrics, pathosystems and methodological trends in the last 25 years. Phytopathology 107:1161-1174. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-17-0069-FI>.
- Hernández, Y., González, E., Marrero, A., Dueñas, M. (2007). Uso de escala para determinar escala de severidad de enfermedades fúngicas en pepino. Temas de Ciencia y Tecnología, 11: 49-51.
- Hernández, L., Sandoval, J.S. (2014). Escala diagramática de severidad para el complejo mancha de asfalto del maíz. Revista Mexicana de Fitopatología, 33: 95-103.
- Larson, B.C., Mossier, M.A., and Nesheim, O. N. (2014). Florida Crop/pest management profiles: Cucumbers. Extensión de IFAS de UF. CIR 1255.

- Lebeda, A; Widrlechner, M. P. (2004). Response of wild and weedy *Cucurbita* L. to pathotypes of *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov. (Cucurbit downy mildew). En: Spencer-Phillips; P; Jeger; M. (eds.), Advances in downy mildew research. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2: 203-210.
- Lebeda, A; Cohen, H. (2010). Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control. Eur. J. Plant Pathol. 129: 157-192.
- Leiva, W., Arauz, F., Ríos, R. (2010). Evaluación de fungicidas convencionales e inductores de resistencia para el combate del mildiú veloso (*Pseudoperonospora cubensis*) en melón (*Cucumis melo*). Agronomía Costarricense, 34: 153-164.
- Leite, R.M.V.B. C. y Amorim, L. (2002). Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. Summa Phytopathologica 28:14-19.
- Lenz, G., Balardin, S., Corte, G., Marques, L., Debona, D. (2010). Escala diagramática para avaliação de severidade de mancha parda em arroz. Ciência Rural, 40: 752-758.
- Li, Y.P., Liang, K.J., Li, M.T., Zhang, Y., Zhou, SK., Chen, X., Lang, J.B. (2015). Nutritional content and function of cucumber and grafting technique. Shanghai Agricultural Sciences and Technology, 1: 89-131.
- Lima, J.S., Martins, M.V.V., Viana, F.M.P., Cardoso, J.E. (2017). Escala diagramática para avaliação da severidade do oídio em castanhas de caju. Summa Phytopathologica, 44: 252-260.
- Martínez, G. E., Barrios, S. G., Rovesti, L., Santos, P. R. (2006). Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV), Cuba.

- Meirelles, S. A., and Cardoso, C. (2012). Metodologia para elaboração de escalas diagramáticas para avaliação de doenças em plantas. Comunicado Técnico, 120 (Julho), 1-6.
- Mohammed, E., Pérez, C., Sid, A., Requena, M., Candela, M. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en casa de pimientos (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología, 26: 35-45.
- Mora-Aguilera, G. (2013). Elaboración de una escala logarítmica diagramática de medición de intensidad de enfermedad. Práctica No.9. Colegio de Postgraduados 1.
- Naegele, R.P., Wehner, T.C. (2017). Genetic resources of cucumber. In: Grumet, R., Katzir, N., Garcia-Mas, J. (eds). Genetics and genomics of Cucurbitaceae. Springer, Berlin, pp 61-86.
- Nutter, Jr. F. W. and Schultz, PM. (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. <https://doi.org/10.1080/07060669509500709>
- Nutter, Jr. FW, Esker PD and Coelho Netto RA. (2006). Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. European Journal of Plant Pathology 115:95-103. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-1230-z>
- Obregón, V. (2017). Guía para la identificación de las enfermedades de las cucurbitáceas. 1ª ed. Bella Vista, Corrientes: Ediciones INTA. 46 p.
- Ojiambo, P., Kanetis, L., Holmes, G. (2009). Forecasting long distance movement of *Pseudoperonospora cubensis* and the Cucurbit ipmPIPE. Phytopathology, 99, S171.
- Ortega-Acosta, S.A., Velasco-Cruz, C., Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D., Hernández-Ruíz, J. (2016). Diagramatic logarithmic scales for assess the severity of spotted leaves and calyces of roselle. Revista Mexicana de Fitopatología, 34: 270-285.

- Paucar, A., Matute, N.L., Echevarría, A.P. (2018). Caracterización físico química de una mezcla de *Cucumis sativus* L. y *Aloysia triphylla* (Cedrón) con propiedades nutraceuticas. *FacSalud UMEI*, 2: 13-18.
- Ramezani, M., Rahmani, F., Dehestani, A. (2017). The effect of potassium phosphite on PR genes expression and the phenylpropanoid pathway in cucumber (*Cucumis sativus*) plants inoculated with *Pseudoperonospora cubensis*. *Scientia Horticulturae*, 225: 366-372.
- Rasband, W. S. (2014) ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland. USA, <http://imagej.nih.gov/ij/> (febrero 2020).
- Reiners, S. Paul D. Curtis., Michael Helms., Margaret T. McGrath., Brian A. Nault and Abby Seaman. (2019). Cornell Integrated Crop and Pest Management Guidelines for Commercial Vegetable Production. Cornell Cooperative Extension 410 p.
- Ruiz, E., Tún, J., Pinzón, L., Valerio, G., Zavala, M. (2008). Evaluación de fungicidas sistémicos para el control del mildiú veloso (*Pseudoperonospora cubensis* Berk. Y Curt.) Rost. En el cultivo de melón (*Cucumis melo* L.). *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 4: 79-84.
- SAS. (2003). The SAS system for Windows. Release 9.1.3. p. 83-122. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Savory, E., Granke, L.L., Quesada-Ocampo, L.M., Varbanova, M., Hausbeck, M.K., Day, B. (2011). The cucurbit downy mildew pathogen *Pseudoperonospora cubensis*. *Molecular Plant Pathology*, 12: 217-226.
- SIAP. (2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción agrícola por cultivo. <http://www.siap.gob.mx/>. Consultada en enero de 2021.
- Silva, G.T., Ribeiro, M.P., Barros Júnior, A.P., Da Silveira, L.M., Ribeiro Júnior, P.M., De Albuquerque, N. (2016). Characterization of cucurbit production systems and disease prevalence in municipalities in Pernambuco. *Revista Caatinga*, 29: 774-779.

- Thornidis, T.; Elena, K. (2001). Effects of Metalaxyl, Fosetyl-AI, Dimethomorph and Cymoxanil on *Phytophthora cactorum* of Peach Tree. *Journal of Phytopathology* 149 (2): 97–101.
- Vivas, M., Da Silveira, F., Vivas, J.M., Pereira, M. (2012). Patometría, parámetros genéticos e reação de progenies de mamoeiro à pintapreta. *Bragantia*, 71: 235-238.
- Zavala, M.J., Cristóbal, J. (2012). Escala logarítmica diagramática de severidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloesporoides*) en papaya (*Carica papaya*). *Fitosanidad*, 16: 83-86.
- Zhang, Y.T., Ouyang, D.Y., He, X.H. (2012). Progress in antitumor effect of cucurbitacin B and its mechanism. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 26. 112-115.