

**Distribución, incidencia y severidad de la mancha anillada (*Boeremia* spp.) del fríjol en
los departamentos de Antioquia, Tolima y Huila, Colombia**

Yuranis Miranda Montero

Trabajo de grado para obtener el título de Bióloga

Directora

Luz Nayibe Garzón Gutiérrez

Dra. en ciencias agropecuarias

Codirectora

Linda Jeimmy Rincón Rivera

Dra. en ciencias agropecuarias

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias Básicas

Escuela de Biología

Bucaramanga

2018

Agradecimientos

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación-COLCIENCIAS por la financiación de este proyecto y al Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT por brindar el espacio para desarrollar actividades competentes del proyecto.

A mis padres, Trimalcio Miranda y Marta Montero por apoyarme constantemente. A mi hermana, Yira Miranda por motivarme cuando la automotivación es escasa. A la profesora Luz Nayibe Garzón por ver siempre el lado positivo de las cosas, por permitirme hacer parte de este proyecto con el que pude conocer más de Colombia y por impulsarme a mejorar en este primer ejercicio de querer ser científica. A Nisme Villanueva por su gran colaboración en el laboratorio y fuera de él, siendo ejemplo del compañerismo que debería existir en todos los lugares de trabajo. A Ernesto Espitia por el acompañamiento en las salidas de campo y compartir conmigo sus conocimientos agronómicos. A Carlos Jara, Victoria Arredondo y Carlos Cotes por sus contribuciones.

A mis amigos Juan Flórez, Alexandra Jiménez, John Sepúlveda, Isabel Hernández y compañeros del Semillero de Genética y Biotecnología de la UIS.

Tabla de Contenido

Introducción	12
1. Objetivos	14
1.1 Objetivo general	14
1.2 Objetivos específicos	14
1.3 Hipótesis:	14
2. Marco teórico	15
2.1 <i>Phaseolus vulgaris</i> L. y su producción en Colombia	15
2.2 Mancha anillada	15
2.5 Evaluación de enfermedades en plantas	18
3. Materiales y métodos	23
3.1 Cuantificación de la incidencia y severidad de la mancha anillada en las zonas de mayor producción de frijol en Antioquia, Tolima y Huila	23
3.2 Elaboración de escalas diagramáticas de severidad	26
4.Resultados y discusión	30
4.1 Cuantificación de la incidencia y severidad de <i>Boeremia</i> spp. en las zonas de mayor producción de frijol en Antioquia, Tolima y Huila	30
4.1.2 Mancha anillada en el departamento de Antioquia	30
4.1.3 Mancha anillada en el departamento de Tolima	33
4.1.4 Mancha anillada en el departamento de Huila	36
4.2 Mapas temáticos	37
4.3 Escalas para evaluar la severidad de la mancha anillada en hojas y vainas	41
4.3.3 Escalas diagramáticas de hojas	42
4.3.4 Escalas diagramáticas de vainas	50
5.Conclusiones	55
Referencias Bibliográficas.....	51
Apéndices.....	55

Lista de Tablas

Tabla 1. Escala descriptiva de severidad para evaluar ascochyta en hojas y vainas de fríjol.....	21
Tabla 2. Municipios muestreados por cada departamento.....	23
Tabla 3. Incidencia y severidad de la mancha anillada de <i>P. vulgaris</i> en Antioquia.....	31
Tabla 4. Valor de p de las comparaciones por pares de municipios de Antioquia obtenido en la prueba de X^2 con 1 grado de libertad y alfa de 0.025.....	32
Tabla 5. Incidencia y severidad de la mancha anillada de <i>P. vulgaris</i> en Tolima.....	34
Tabla 6. Valor de p de las comparaciones por pares de municipios de Tolima obtenido en la prueba de X^2 con 1 grado de libertad y alfa de 0.025.....	35
Tabla 7. Incidencia y severidad de la mancha anillada de <i>P. vulgaris</i> en Huila.....	37
Tabla 8. Valor de p de las comparaciones por pares de municipios de Huila obtenido en la prueba de X^2 con 1 grado de libertad y alfa de 0.025.....	38
Tabla 9. Coeficiente de Kendall por cada repetición para las estimaciones de severidad de mancha anillada en hojas de frijol.....	46
Tabla 10. Promedios de los estadísticos de Lin para los evaluadores expertos e inexpertos al emplear la escala descriptiva y las escalas diagramáticas para la evaluación de mancha anillada en hojas de fríjol.....	49
Tabla 11. Medidas de reproducibilidad entre evaluadores con el uso de la escala descriptiva y las escalas diagramáticas para la evaluación de mancha anillada en hojas de fríjol.....	49
Tabla 12. Coeficiente de Kendall para las validaciones de las escalas de vainas.....	51
Tabla 13. Promedios de los estadísticos de Lin para evaluadores expertos e inexpertos con el uso de la escala descriptiva y las dos escalas diagramáticas para la evaluación de la mancha anillada en vainas.....	54
Tabla 14. Medidas de reproducibilidad entre evaluadores con el uso de la escala descriptiva y las escalas diagramáticas para la evaluación de mancha anillada en vainas de fríjol.....	54

Lista de Figuras

Figura 1. (A) Síntoma de la mancha anillada en hoja de fríjol. (B) Aislamiento de <i>Boeremia</i> spp. de la colección de patógenos de fríjol del CIAT.....	16
Figura 2. Fórmulas para establecer la incidencia (A) y severidad (B) de una enfermedad.	19
Figura 3. (A y B) Diagrama estándar para estimar severidad de <i>Ascochyta phaseolorum</i> en hojas y vainas de fríjol tomado de Castaño (2002). (C) Clave visual para la evaluación de la severidad de la mancha de <i>ascochyta</i> en fríjol tomado de Stonehouse (1994).	22
Figura 4 Distribución altitudinal de los niveles de severidad de la mancha anillada del fríjol	39
Figura 5. Escala diagramática de severidad con intervalos H-B de la mancha anilla en fríjol.....	43
Figura 6. Escala diagramática de severidad con intervalos iguales para la mancha anillada en hojas de fríjol.....	44
Figura 7 Escala diagramática de severidad con intervalos de H-B para la mancha anillada del frijol en vainas.....	50
Figura 8 Escala diagramática de severidad con intervalos iguales para la mancha anillada del frijol en vainas.....	50

Lista de Apéndices

Apéndice A. Mapa del municipio de San Vicente Ferrer del departamento de Antioquia.....	61
Apéndice B. Mapa del municipio de Marinilla, del departamento de Antioquia.	61
Apéndice C. Mapa del municipio de El Santuario, del departamento de Antioquia.	62
Apéndice D. Mapa del municipio El Carmen de Viboral del departamento de Antioquia.	62
Apéndice E. Mapa del municipio de Sonsón del departamento de Antioquia.....	63
Apéndice F. Mapa del municipio de Santa Isabel del departamento del Tolima.	63
Apéndice G. Mapa del municipio de Anzoátegui del departamento del Tolima.....	63
Apéndice H. Mapa del municipio de Ibagué del departamento del Tolima.	64
Apéndice I. Mapa del municipio de Cajamarca del departamento del Tolima.....	65
Apéndice J. Mapa del municipio de Roncesvalles del departamento del Tolima.	65
Apéndice K. Mapa del municipio de Santa María del departamento del Huila.	66
Apéndice L. Mapa del municipio de La Plata del departamento del Huila.	66
Apéndice M. Mapa del municipio El Pital del departamento del Huila.	67
Apéndice N. Mapa del municipio de San Agustín del departamento del Huila.	67

Glosario

Cambio de altura o local shift (u): Medida del cambio de ubicación que refleja las diferencias de altura entre la línea de ajuste y la línea de concordancia. Si las alturas son iguales el valor es igual a 0.

Cambio de pendiente o slope shift (v): Mide la diferencia de pendiente entre la línea de ajuste y la línea de concordancia. Si las pendientes son iguales tiene un valor igual a 1.

Coefficiente de correlación (r): Coeficiente de correlación entre la severidad estimada (Y) y la severidad real (X). Mide la precisión o la dispersión de los puntos alrededor de la línea de mejor ajuste. Si las medias de X y Y son iguales entonces el valor de r es igual a 1.

Confiabilidad: Este término es usado para describir la concordancia o acuerdo entre mediciones cuando el valor real no está involucrado. Pueden ser estimaciones de un mismo evaluador (repetitividad) o de diferentes evaluadores (reproducibilidad).

Exactitud: Es el grado de cercanía entre un valor medido a uno estándar, conocido o un valor real.

Factor de corrección (C_b): Factor de corrección del sesgo que mide que tan lejos se desvía la línea de mejor ajuste de 45° siendo así una medida de exactitud. Cuando hay acuerdo perfecto tiene un valor igual a 1.

Incidencia: Porcentaje de plantas o parte de las plantas enfermas de un número total de plantas evaluadas.

Intensidad: Término utilizado para describir la cantidad de enfermedad presente en una población y se mide teniendo en cuenta la incidencia y la severidad.

Línea de mejor ajuste: Línea recta que es la mejor aproximación de los datos, utilizada para estudiar la relación de estos.

Línea de concordancia: Representa un acuerdo perfecto entre la severidad real y la severidad estimada.

Precisión: Denota la cantidad de variabilidad cuando se involucra el valor real o estándar.

Prevalencia: Proporción de campos, estados entre otros donde se detecta la enfermedad.

Severidad: Es el área de la unidad de muestreo (hojas, frutos) que presenta los síntomas de la enfermedad.

Resumen

TÍTULO: DISTRIBUCIÓN, INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE LA MANCHA ANILLADA (*Boeremia* spp.) DEL FRÍJOL EN LOS DEPARTAMENTOS DE ANTIOQUIA, TOLIMA Y HUILA, COLOMBIA*

AUTORA: YURANIS MIRANDA MONTERO**

PALABRAS CLAVES: *Phaseolus vulgaris*, Escala diagramática, fitopatometría

DESCRIPCIÓN:

La mancha anillada del fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.), causada por *Boeremia* spp. o *Stagonosporopsis hortensis* es una enfermedad que produce pérdidas económicas considerables, por esta razón, se determinó la distribución e intensidad de la enfermedad en tres de los principales departamentos productores de fríjol y adicionalmente se elaboró una escala para la evaluación de la severidad. Para la evaluación de la distribución e intensidad de la enfermedad se visitaron setenta y dos fincas productoras, seleccionando por punto de muestreo treinta plantas al azar. La incidencia en Antioquia fue del 94%, siendo más frecuentes los niveles medios (4-6) y altos (7-9) de severidad. Mientras que en Tolima la incidencia fue del 60% y en Huila del 52%, departamentos en los cuales fue más frecuente los niveles de baja severidad (1-3). Los resultados permiten establecer que la enfermedad está ampliamente distribuida, afecta diferentes cultivares y la intensidad en la que se presenta varía en cada región productora. Respecto a la evaluación de la severidad, se desarrollaron dos escalas diagramáticas con soporte fotográfico a nivel de hojas y vainas de frijol. Las escalas fueron validadas por cinco expertos y cinco inexpertos en evaluación de enfermedades, los cuales estimaron la severidad de cuarenta imágenes de hojas y veinticinco imágenes de vainas en tres oportunidades con un intervalo mínimo de siete días entre repetición. Los resultados obtenidos por cada grupo de evaluadores se compararon mediante análisis de coeficiente de correlación de concordancia de Lin estimándose la precisión, exactitud y concordancia y por medio del análisis de concordancia general (OCCC) se estimó la reproducibilidad entre evaluadores. Se determinó que las escalas diagramáticas incrementan la precisión y exactitud de las evaluaciones para las personas inexpertas, así como la reproducibilidad entre evaluadores expertos, lo que puede repercutir en una evaluación más eficiente de la enfermedad por parte de los agricultores, técnicos y demás personas interesadas en el cultivo del fríjol.

* Trabajo de grado

**Facultad de Ciencias Básicas. Escuela de Biología. Directora: Luz Nayibe Garzón Gutierrez

Abstract

TÍTULO: DISTRIBUTION, INCIDENCE AND SEVERITY OF ASCOCHYTA BLIGHT (*Boeremia* spp.) OF COMMON BEAN IN THE DEPARTMENTS OF ANTIOQUIA, TOLIMA AND HUILA, COLOMBIA*

AUTORA: YURANIS MIRANDA MONTERO**

PALABRAS CLAVES: *Phaseolus vulgaris*, diagrammatic scale, phytopathometry

DESCRIPCIÓN:

The ascochyta blight of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), caused by *Boeremia* spp. and *Stagonosporopsis hortensis* is a disease that produces important economic losses, for this reason, the distribution and intensity of the disease was determined in three of the main bean producing departments, and additionally scale for the assessment of severity was elaborated. For the evaluation of the distribution and intensity of the disease, seventy two producing farms were visited, selecting by sampling place thirty plants at random. The incidence in Antioquia was 94%, with medium (4-6) and high (7-9) levels of severity being more frequent. While in Tolima the incidence was 60% and in Huila 52%, departments in which low severity levels (1-3) were more frequent. The results allow to establish that the disease is widely distributed, affects the different crops and the intensity in which it occurs varies in each producing region. Regarding the severity assessment, two diagrammatic scales with photographic support at the level of leaves and bean pods were developed. The scales were validated by five experienced and five inexperienced raters in disease evaluation, who estimated the severity of forty leaf images and twenty five images of pods on three occasions with a minimum interval of seven days between repetitions. The results obtained by each group of evaluators were compared by correlation coefficient analysis of Lin estimating precision, accuracy and concordance and with the overall concordance analysis (OCCC) the reproducibility between evaluators was estimated. It was determined that the diagrammatic scales increase the precision and accuracy of the evaluations for the inexperienced people, as well as the reproducibility between expert evaluators, what can have repercussions in a more efficient evaluation of the disease by farmers, technicians and other interested persons in the cultivation of beans.

* Thesis

** Faculty of basic sciences. Biology school. Director: Luz Nayibe Garzón Gutiérrez.

Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa alimenticia más importante en el mundo, siendo una fuente principal de proteínas, aminoácidos esenciales, hierro y vitaminas. Se pueden encontrar cultivos de frijol desde el nivel del mar hasta los 3000 m.s.n.m; sembrados como monocultivo, en asociaciones o en sistemas de rotación. Su consumo se da como grano maduro, semilla inmadura, o un vegetal, es decir hojas y vainas (Broughton *et al.*, 2003).

A pesar de la importancia que tiene esta leguminosa, su cultivo es limitado por diferentes problemas causados por fitopatógenos como bacterias, virus, fitoplasmas, nematodos y en su mayoría por hongos además de deficiencias nutricionales y condiciones ambientales favorables para el desarrollo de las enfermedades (Schwartz y Harveson, 2015).

Entre las enfermedades del fríjol causadas por hongos se encuentra la mancha anillada o mancha de ascochyta que ocasiona pérdidas económicas considerables en regiones que se encuentran por encima de los 1000 m.s.n.m, como la zona andina de América del Sur, Guatemala, Costa Rica, Venezuela y Brasil entre otros (Pastor-Corrales y Schwartz, 1994). Para Colombia no se había determinado el estado de la enfermedad, por lo que el presente proyecto estableció la distribución, los niveles de incidencia y severidad en departamentos con alta producción de esta leguminosa como son Antioquia, Huila y Tolima, mediante evaluaciones de hojas y vainas en cultivos que se encontraban en etapas de desarrollo R7 y R8. Adicionalmente, en las evaluaciones de severidad es necesario contar con una escala de evaluación objetiva que permita una estimación exacta, precisa y reproducible (Campbell y Neher, 1994). Para las evaluaciones de mancha anillada en fríjol la escala descriptiva desarrollada por CIAT (1987), es la más utilizada, aunque es de difícil uso para personas sin experiencia en evaluación de enfermedades y lo subjetivas que pueden ser este tipo

de escalas (Bock, Poole, Parker, y Gottwald, 2010). Por esta razón, se desarrollaron escalas diagramáticas a nivel de hojas y vainas, evaluando tanto intervalos iguales como logarítmicos y se determinó si se mejoraba significativamente la exactitud, precisión y reproducibilidad de las estimaciones. Se espera que el uso de esta escala permita mejorar la estimación de la enfermedad haciéndola más objetiva, y que sea una herramienta para la evaluación de las medidas de control de la misma por parte de los agricultores, técnicos y demás personas interesadas en el cultivo del frijol.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Determinar la distribución geográfica, los niveles de incidencia y severidad de la mancha anillada del frijol en Antioquía, Tolima y Huila, Colombia.

1.2 Objetivos específicos

- Cuantificar la incidencia y severidad de la mancha anillada en las zonas de mayor producción de frijol en Antioquia, Tolima y Huila.
- Describir gráficamente la incidencia y severidad de la enfermedad en los municipios de mayor producción en Antioquia, Tolima y Huila mediante la construcción de mapas temáticos.
- Elaborar escalas diagramáticas para evaluación de la severidad de la mancha anillada en hojas y vainas de fríjol.

1.3 Hipótesis:

Ho 1: No hay diferencias entre los niveles de incidencia y severidad de la mancha anillada del fríjol observados en los principales municipios productores de los departamentos de Antioquia, Tolima y Huila.

Ho 2: La estimación de la severidad de la mancha anillada en *Phaseolus vulgaris* es igual en precisión y exactitud con el uso de escalas diagramáticas con soporte fotográfico y al usar una escala descriptiva.

2. Marco teórico

2.1 *Phaseolus vulgaris* L. y su producción en Colombia

El fríjol común es una planta Eudicotiledónea perteneciente al orden Fabales de la familia Fabaceae. Hace parte de la subfamilia Faboideae y se encuentra dentro del género *Phaseolus* junto con otras especies comestibles. En el país, se cultiva desde los 800 a los 2.900 m s.n.m., altitudes que comprenden temperaturas entre los 27°C y 10°C respectivamente. El 65% del fríjol cultivado es de tipo voluble y el restante es arbustivo, su siembra se realiza preferiblemente en periodos de abundante lluvia como marzo, abril, septiembre y octubre (Jara y Giraldo, 2016).

Entre los principales departamentos productores del país están Antioquia, Tolima, Huila, Santander y Nariño que agrupan el 82.87 % de la producción nacional. A pesar de estas cifras, las importaciones del grano aumentaron de 33.998 t en el 2015 a 35.616 t en el 2016 siendo los países de Perú, E.E.U.U., Ecuador y China los principales proveedores (Fenalce, 2017).

2.2 Mancha anillada

La mancha anillada es una enfermedad policíclica, conocida en varias regiones del país como “la gota” y en la bibliografía se puede encontrar con el nombre de *Ascochyta blight*, Black node disease y Speckle disease esto por los diferentes patógenos que pueden causarla (Boerema, de

Gruyter, Noordeloos, y Hamers, 2004). Cuatro especies de hongos son causantes de la enfermedad, *Boeremia diversispora* (Bubák) (sinónimo: *Phoma diversispora*, *Phoma exigua* var. *diversispora*), *Boeremia exigua* (Desm) (Sinónimo: *Ascochyta phaseolorum*, *Phoma exigua* var. *exigua*), *Boeremia noackiana* (Sinónimo: *Ph. exigua* var. *noackiana*) y *Stagonosporopsis hortensis* (Sacc.y Malbr) (Sinónimo: *Ascochyta hortensis*, *Ascochyta boltshauseri* Sacc) (Schmit y Baudoin, 1992; Aveskamp, de Gruyter, Woudenberg, Verkley, y Crous, 2010). Los síntomas corresponden a manchas de color gris a negro en las que se forman anillos más o menos concéntricos principalmente en las hojas y vainas de la planta, así como también manchas oscuras en los peciolo y nudos, las primeras después de un tiempo se van tornando de coloración marrón puesto que se produce necrosis del tejido de la planta (Figura 1 A y B).

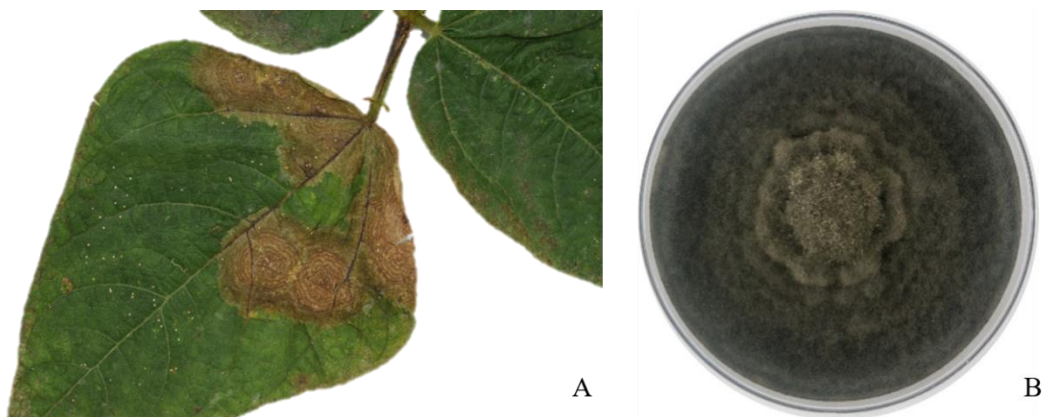


Figura 1. (A) Síntoma de la mancha anillada en hoja de fríjol. (B) Aislamiento de *Boeremia* spp. de la colección de patógenos de fríjol del CIAT.

En *B. diversispora*, *B. exigua* y *S. hortensis* se tiene reportado que necesitan condiciones de alta humedad para el desarrollo de una epidemia, presentándose en aquellas zonas donde el fríjol se produce sin riego (Gerlagh, 1993), es decir, donde las condiciones ambientales naturales son favorables para su desarrollo, con temperaturas entre los 21°C y 24°C que permiten una óptima germinación, esporulación y crecimiento del micelio, siendo así habitual que se desarrollen durante periodos húmedos o de lluvia (CIAT, 1982). Los síntomas de la enfermedad permiten cuantificar

su severidad, lo cual tiene diferentes propósitos, como el monitoreo de epidemias, evaluación de germoplasma, estudios de resistencia genética, estimación de las pérdidas causadas por patógenos en los cultivos entre otros (Bock *et al.*, 2010; Sun, Wei, Zhang y Yang., 2014) por lo que es necesario que dicha estimación sea exacta, precisa y reproducible (Campbell y Neher, 1994).

2.2.1 Descripción morfológica del patógeno

Las colonias de hongos del género *Boeremia* presentan un color verde o gris oliváceo en medios de cultivo de agar-avena (OA) y papa-agar-dextrosa (PDA). Los picnidios presentan diferencias en forma y tamaño pero en su mayoría son globosos a subglobosos, glabro o con un poco de micelio creciendo por fuera, pueden estar solos o agrupados, las paredes de los picnidios son pseudoparenquimatosas, las conidias son variables en forma, hialinas, lisas y principalmente sin septos (Aveskamp *et al.*, 2010). Así mismo, los picnidios de *S. hortensis* son globosos a subglobosos, con un ostiolo no papilonado, glabro, solitario y en ocasiones agrupados y las conidias son usualmente sin septos, con forma cilíndrica a elipsoidal (Boerema *et al.*, 2004).

2.2.2 Manejo de la mancha anillada

Para la reducción de pérdidas causadas por este patógeno se han establecido estrategias de manejo físico, químico y cultural. Entre estas se encuentran medidas como la ampliación de la distancia de siembra entre plantas, rotación de cultivos, el uso de semilla limpia, tratamiento químico de la semilla y las aspersiones foliares de fungicidas a base de azufre como Benomil, Zineb y Clorotalonil (CIAT, 1982). Sin embargo, la resistencia genética se considera la forma más eficiente de control con un bajo impacto a nivel ambiental y fácilmente adoptada por los agricultores. Pero

para el control de esta enfermedad es poco el avance, al tenerse especies de *Phaseolus* con resistencia que no son de uso comercial en Colombia como *P. coccineus* y *P. dumosus* (Blair *et al.*, 2011).

2.2.3 Distribución de la mancha anillada en Colombia

En estudios preliminares realizados sobre la diversidad del patógeno causal de la mancha anillada del frijol común se han realizado inoculaciones con aislamientos provenientes de Cauca, Antioquia, Santander y Cundinamarca sobre un conjunto de genotipos de frijol, donde la respuesta de resistencia o susceptibilidad fue diferencial, evidenciando la posible variabilidad del patógeno (Blair *et al.*, 2011; Garzón *et al.*, 2011). Sin embargo, es necesario profundizar en este tipo de estudios, para confirmar la variabilidad a nivel molecular, patogénico y morfológico y su distribución geográfica para obtener una mejor evaluación del germoplasma. En la colección de patógenos de frijol del CIAT se encuentran aislamientos de los departamentos del Valle del Cauca, Boyacá, Huila, Nariño y Tolima, por lo que es evidente que la enfermedad tiene una amplia distribución en el país pero se desconoce la intensidad de la misma en las diferentes regiones productoras.

2.3 Evaluación de enfermedades en plantas

Al evaluar una enfermedad se busca determinar su intensidad, lo cual corresponde a la incidencia y severidad de la misma en la población u objeto de estudio. La incidencia es la proporción o porcentaje de número de unidades afectadas que pueden ser plantas completas, o partes de la planta

(p.e: hojas, tallos, vainas) que presentan la enfermedad dentro de una unidad de muestreo (Figura 2A), lo que la hace una medida más rápida y fácil de determinar que otras medidas cuantitativas y la severidad es la cantidad de tejido de la planta afectado por la enfermedad y se expresa como porcentaje del total de ese tejido en cualquier órgano de la planta (Figura 2B) (Seem, 1984).

$$A) \text{ Incidencia} = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$$

$$B) \text{ Severidad} = \frac{\text{Área con síntomas de la enfermedad}}{\text{Área total o relativa de la hoja o vaina}} \times 100$$

Figura 2. Fórmulas para establecer la incidencia (A) y severidad (B) de una enfermedad.

Dentro de los objetivos de la medición de enfermedades en plantas, se destacan la exactitud de la evaluación que hace referencia a la aproximación de una estimación al valor real de la enfermedad; la precisión que corresponde a la variación o repetición asociadas a una estimación, (Campbell y Neher, 1994; Castillo, Rivera y Hoyos, 2010), la repetitividad o precisión intra-evaluador hace referencia a la concordancia de las estimaciones de la severidad entre diferentes eventos de evaluación por un mismo evaluador y la reproducibilidad o precisión inter-evaluador corresponde a que tan similar son las estimaciones de severidad en una planta u órgano dadas por diferentes evaluadores sobre el mismo material evaluado (Madden *et al.*, 2007, citado en Bock *et al.*, 2010).

2.4 Escalas de severidad

Existen diferentes métodos para evaluar la severidad de enfermedades como las imágenes de vídeo, la fotografía en color infrarrojo, la termografía infrarroja, y la resonancia nuclear magnética (Nilsson, 1995 citado en Castillo *et al.*, 2010) que requieren equipos de alto costo, lo que hace que

sean poco utilizados. Sin embargo, es posible realizar la evaluación por medio de escalas, una metodología accesible debido a su facilidad de uso y a que pueden ser desarrolladas a bajo costo. No obstante, la selección del intervalo de las clases que se emplean para los grados de severidad de la enfermedad en su mayoría se hacen de forma arbitraria (Castillo *et al.*, 2010; Tovar, Hernández, Alejo, Romero, y Mora, 2002). En cuanto a la definición de estas clases se ha empleado la escala de Horsfall y Barrat (H-B) la cual supone una relación logarítmica entre la severidad real y la percepción de las personas, basados en la ley de Weber - Fechner que considera la sensibilidad del ojo humano lo que sugiere que se pierde la capacidad de resolución a mayor severidad de una enfermedad hasta llegar al 50 % y la mayor resolución para medir una enfermedad se daría en los extremos 0-10 % y 90-100% (Campbell y Madden, 1990). Sin embargo, otros autores han reportado que la relación entre la severidad estimada y la severidad real es de tipo lineal (Nita, Ellis y Madden, 2003; Bock *et al.*, 2010), además de que el uso de escalas con niveles logarítmicos no han mostrado una mejoría en las estimaciones respecto a métodos como estimación directa, escalas descriptivas o escalas con intervalos iguales (Bock *et al.*, 2009).

2.4.1 Escala descriptiva de severidad en frijol

Según Chester (1950) (citado en Bock *et al.*, 2010) las escalas descriptivas son las más simples y probablemente las más subjetivas de las escalas. Estas clasifican la enfermedad con una serie de términos descriptivos como “leve” o “moderado”, se caracterizan por la numeración de cada categoría, y su respectiva descripción textual (p.e. 4: meristemo apical con mosaico y deformación), aunque en algunas clases no se da una definición cuantitativa relacionada con el área foliar afectada (Castaño, 2002).

La escala utilizada por el Centro Internacional de Agricultura Tropical- CIAT para la evaluación de germoplasma por su respuesta a *Ascochyta*, es una escala descriptiva con niveles de uno a nueve, tanto para hojas como para vainas (Tabla 1). En esta escala se establece que las categorías de uno a tres corresponden a plantas o genotipos resistentes, útiles como progenitores o cultivares comerciales; los genotipos con valores de cuatro a seis presentan una resistencia intermedia y bajo ciertas circunstancias pueden ser utilizados como fuente de resistencia y finalmente los genotipos con valores entre siete y nueve son considerados susceptibles, en los cuales se presentan pérdidas considerables en rendimiento o la muerte de la planta (CIAT, 1987). A pesar de que esta escala ha sido de gran utilidad, no se indican datos sobre la metodología utilizada para establecer los niveles, los valores de porcentaje de área foliar afectada para cada categoría, y tampoco se hace referencia a las características de los niveles 2, 4, 6 y 8, factores que pueden incidir en que la evaluación con esta escala pueda llegar a ser muy subjetiva.

Tabla 1

Escala descriptiva de severidad para evaluar ascochyta en hojas y vainas de frijol

Valor	Descripción
1	Sin síntomas visibles de la enfermedad
3	Presencia de pocas lesiones concéntricas pequeñas y oscuras, que recubre aproximadamente el 2% del área foliar o del área de las vainas.
5	Presencia de varias lesiones de tamaño pequeño a mediano (hasta 1 cm de diámetro) con esporulación limitada, las cuales cubren aproximadamente el 5% del área foliar o del área de las vainas.
7	Presencia de lesiones grandes con esporulación que cubren aproximadamente el 10% del área foliar o del área de las vainas. También pueden aparecer lesiones en tallos y ramas. En el follaje, estas lesiones pueden juntarse.
9	Presencia de lesiones grandes con esporulación que cubre aproximadamente el 25% o más del área foliar o del área de las vainas. Las lesiones de las hojas se juntan con frecuencia causando necrosis de segmentos grandes que suelen desprenderse dejando orificios en las hojas; el resultado es una defoliación prematura y severa. Las lesiones también cubren grandes segmentos del tallo y de las ramas y las vainas infectadas, que contiene un número escaso de semillas, con frecuencia se muestran arrugadas.

Nota: CIAT, 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Aart van Schoonhoven y Marcial A. Pastor-Corrales. Cali, Colombia.

2.4.2. Escalas diagramáticas de severidad

Las escalas diagramáticas o diagramas de área estándar por sus siglas en inglés SADs son una serie de ilustraciones que representan distintos grados de severidad de la enfermedad en la planta completa o parte de ella (Bergamín Filho y Amorin, 1996 citado en Godoy, Koga, y Canteri, 2006).

La escala para mancha anillada en vainas y hojas elaborada por Castaño y Zaini (1988) citado en Castaño (2002) tienen nueve categorías pero solo con descripción de porcentaje para las categorías 1, 3, 5, 7 y 9 (como lo hace la escala descriptiva de CIAT) pero con valores de severidad más altos siendo la categoría 9 severidades del 50% o más (Figura 3 A-B). También se cuenta con la clave diagramática para evaluar la severidad de *Ascochyta* en folíolos de plantas de fríjol publicada por Stonehouse (1994), que consta de dibujos de folíolos con diferentes áreas afectadas cuya máxima severidad corresponde a un área afectada de 8/9 (Figura 3. C) y según Godoy *et al.* (1997) las escalas propuestas por Stonehouse para enfermedades foliares de fríjol son demasiado complejas con valores máximos muy altos en su severidad.

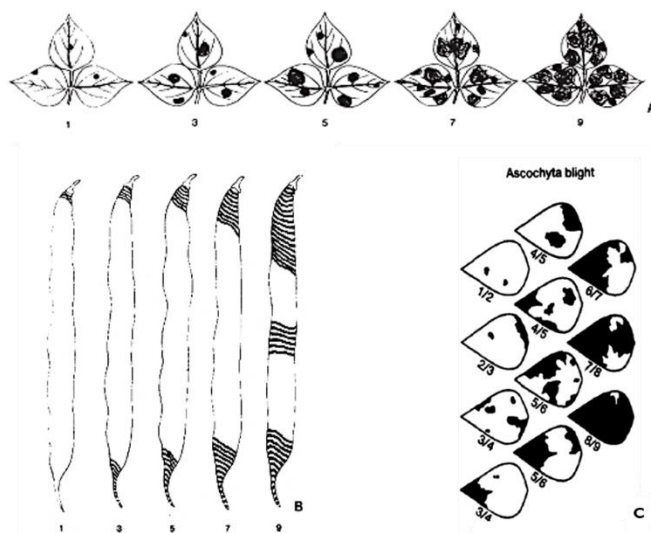


Figura 3. A y B Diagrama estándar para estimar severidad de *Ascochyta phaseolorum* en hojas y vainas de fríjol tomado de Castaño (2002). C Clave visual para la evaluación de la severidad de la mancha de *ascochyta* en fríjol tomado de Stonehouse (1994).

3. Materiales y métodos


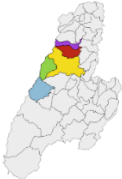
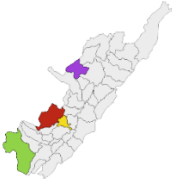
3.1 Cuantificación de la incidencia y severidad de la mancha anillada en las zonas de mayor producción de frijol en Antioquia, Tolima y Huila

3.1.1 Área de estudio

Los muestreos se llevaron a cabo en los departamentos de Antioquia, Tolima y Huila, seleccionados por presentar la mayor área sembrada y producción (50.35% de la producción nacional) de frijol en el país. En cada departamento según la producción de los municipios reportados en las estadísticas de Agronet (2016), y con la información suministrada por los Ingenieros Agrónomos de las sedes regionales de FENALCE, se establecieron máximo cinco municipios para visitar (Tabla 2). Posteriormente dentro de cada municipio se recorrieron cinco fincas diferentes ubicadas a una distancia mínima de 2 km. Estos municipios se encuentran localizados sobre el costado oriental de la cordillera central, caracterizado por las zonas montañosas; según el IDEAM (2017), presentan humedades relativas de 75% a 85%, con variaciones en la temperatura desde los 12°C a los 22°C .

Tabla 2

Municipios muestreados por cada departamento

Antioquia	Tolima	Huila
		
<ul style="list-style-type: none"> ■ San Vicente Ferrer ■ Marinilla ■ El Santuario ■ El Carmen de Viboral ■ Sonsón 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Santa Isabel ■ Anzoátegui ■ Ibagué ■ Cajamarca ■ Roncesvalles 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Santa María ■ La Plata ■ El Pital ■ San Agustín

3.1.2 Muestreo

En fincas de cultivos comerciales de frijol con plantas en etapas R7 y R8, se realizó un trayecto en zig-zag en el que se seleccionaron 30 plantas al azar para cuantificar la incidencia y la severidad de la enfermedad independientemente del área del cultivo. Este tamaño de muestra se determinó, gracias a un muestreo preliminar en donde se comprobó la baja variación de la severidad entre plantas de un mismo cultivo. La severidad se evaluó con la escala descriptiva del CIAT (1987), teniendo en cuenta la sintomatología en toda la planta, representando el nivel 9 la muerte de la misma.

En cada punto de muestreo se tomaron datos de la localidad, altura, coordenadas y en caso de encontrar a la persona encargada del cultivo se confirmaron algunas características (p.e. cultivar, tiempo de siembra, área sembrada) y se le realizaron preguntas acerca del control fitosanitario.

De manera adicional, se tomaron cinco muestras de hojas que presentaban síntomas de la enfermedad en cada lote evaluado, las cuales se guardaron en servilletas y se introdujeron en bolsas de papel etiquetadas con el número de muestra, posteriormente fueron almacenadas en una nevera de icopor con geles fríos para mantenerlas frescas hasta su transporte al Laboratorio de Patología de Frijol del CIAT en donde se realizaron los aislamientos del patógeno que están siendo utilizados en otros proyectos que buscan determinar la o las especies asociadas a la enfermedad y la diversidad morfológica, patogénica y genética.

3.1.3 Construcción de mapas temáticos

La ubicación de los cultivos visitados en campo se realizó mediante georreferenciación por GPS (Sistema de posicionamiento global). Con esta información y las evaluaciones de la intensidad en

cada punto de muestreo, se elaboraron los mapas temáticos por municipio que muestran de manera gráfica los puntos (cultivos), el nivel de severidad más frecuente (o en el caso de presentarse dos niveles con la misma frecuencia, el de mayor severidad) con una escala de colores que aumenta la intensidad del tono a mayor severidad y la incidencia representada por diagramas circulares con la proporción de plantas enfermas (color café) y sanas (color verde) con el porcentaje de incidencia en el centro. Cuando la incidencia fue del 100% no se muestra el gráfico. Esto se realizó con la herramienta para sistemas de información geográfica QGIS 2.18.4 (2016), apoyados con la cartografía de limitaciones municipales y veredales obtenida del geoportal del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE, 2017).

3.1.4 Análisis estadístico para la prueba de hipótesis.

Para poner a prueba la hipótesis de no diferencias entre los niveles de severidad encontrados, se agruparon los niveles de severidad de 2 a 9 en tres categorías. Denominando los niveles 2 y 3 como severidad baja (B), los niveles 4, 5 y 6 como severidad intermedia (I) y los niveles 7, 8 y 9 como severidad alta (A). Considerando que los datos eran de tipo categórico, se procedió a aplicar pruebas de chi-cuadrado entre los municipios por cada departamento. Las pruebas entre todos los municipios tuvieron un intervalo de confianza del 95% ($\alpha= 0.05$) y entre pares de municipios un intervalo de confianza de 97.5% ($\alpha= 0.025$). Igualmente para evaluar la incidencia se compararon los valores de plantas sanas y enfermas observados en cada municipio por departamento y por pares de municipios con los mismos valores de α aplicados para la severidad, mediante la función `chisq.test` en el programa Rstudio (R Core Team 2017).

Adicionalmente, los datos de altura fueron analizados con los valores de severidad por departamento y a nivel general con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis mediante la función `kruskal.test`. A continuación se realizó un análisis post-hoc con la función `pairwise.wilcox.test` con corrección de Bonferroni para la significancia y de esta manera se determinó entre cuáles categorías de severidad habían diferencias significativas de acuerdo a la altura (s.n.m.) en las cuales se encontraban.

3.2 Elaboración de escalas diagramáticas de severidad

3.2.1. Material vegetal

Para elaborar la escala de severidad en hojas y vainas se sembraron los genotipos de frijol: MAC 74, Serranía y Guavio los cuales son susceptibles y ASC 149, que presenta resistencia intermedia a la mancha anillada, bajo condiciones de campo en el centro experimental del CIAT en Popayán.

El diseño fue de parcelas divididas (parcelas:tratamientos, subparcelas: genotipos). Las parcelas principales correspondieron a 3 tratamientos: parcela inoculada con una concentración de 1.2×10^6 conidias/ml, parcela inoculada con una concentración de 1.2×10^5 conidias/ml y parcelas sin inoculación. En el caso de las parcelas inoculadas se realizaron dos inoculaciones, la primera en la etapa V4 (aproximadamente 30 días después de la siembra-dds) y la segunda en la etapa R5 (aproximadamente 45 dds). La inoculación se realizó con el aislamiento ASC01 COL, que corresponde a un aislamiento monospórico que presenta una alta virulencia y se obtuvo de la zona donde se realizó el ensayo. El inóculo se obtuvo siguiendo el protocolo de Castellanos, Jara y Mosquera (2011).

El tamaño de las subparcelas fue de dos surcos por genotipo de 3m lineales cada uno, con una distancia entre plantas de 20 cm y una distancia entre surcos de 1m. Se realizaron tres siembras

escalonadas, donde cada siembra contó como una repetición. Esta siembra se realizó con el fin de tener siempre material disponible para la toma de las fotografías, que representaran los diferentes grados de severidad. Para evitar el cruzamiento de inóculo, las parcelas se separaron sembrando de manera anticipada dos surcos de maíz con una alta densidad de siembra.

A todas las semillas se les aplicó un tratamiento con una mezcla de Cruiser (Tiametoxam) y Maxim (Metalaxyl), según las recomendaciones de cada producto.

3.2.2 Toma de fotografías y procesamiento de imágenes

En las etapas R7 y R8 se tomaron fotografías de hojas y vainas que presentaban los signos y síntomas de la enfermedad. La toma de fotografías se realizó en campo para lo que se utilizó una caja de luz de elaboración propia para garantizar que todas las imágenes tuvieran la misma exposición de luz, con dos lámparas de toque a una distancia de 41 cm respecto al objetivo en el caso de las hojas y para las vainas una lámpara de toque y una distancia hasta el objetivo de 20 cm. El fondo de las fotografías utilizado fue cartulina blanca mate, con el fin de tener un mejor procesamiento en el programa ImageJ (Schneider, Rasband y Eliceiri, 2012).

En las hojas y vainas, el procesamiento de las imágenes se realizó tomando la medida de área total y área afectada por la enfermedad, para esto se estableció en la sección Set Measurements del programa el Área como medida y se calibró la estimación en cada imagen con distancia conocida de 1 cm. Para calcular el área total los procesos de imagen fueron: Process->Binary->Make binary. Cuando el tejido presentaba coloraciones muy claras, se procedió de la siguiente forma: Image->Color-> Split Channels-> (blue) ->Threshold. Para obtener la medida se utilizó la siguiente secuencia:->Wand tool-> Analyze->Tools->ROI Manager->Add->Measure. Para

determinar el área afectada por la enfermedad se modificó la imagen al formato HSB Stack y se obtuvo la medida con el proceso descrito anteriormente.

3.2.3 Determinación de los intervalos

Los límites de las escalas de hojas y vainas se establecieron teniendo en cuenta la severidad máxima encontrada en donde era posible obtener el área foliar completa. Los intervalos de los niveles de las escalas se definieron mediante dos metodologías: de manera logarítmica según lo establecido por Horsfall y Barrat (1945) (citado en Bock *et al.*, 2010) y con intervalos de igual amplitud como lo propone Nita *et al.*, (2003) manteniendo los nueve niveles del sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol elaborada por Schoonhven y Pastor (CIAT, 1987).

3.2.4 Validación de la escala por niveles de severidad

Tanto para hojas y vainas se seleccionaron tres conjuntos de 15 imágenes con síntomas de la enfermedad que representaban todos los niveles de severidad, para usar en cada una de las tres repeticiones, se organizó en archivos de powerpoint, modificando el orden en que se presentaban y con una transición de 10 segundos entre diapositivas. A cinco personas con experiencia en la evaluación de enfermedades y cinco personas sin experiencia, se les pidió que asignaran un nivel de severidad a las imágenes haciendo uso de la escala descriptiva de CIAT y las escalas diagramáticas de intervalos iguales y de intervalos logarítmicos, desarrolladas en este proyecto.

Para evaluar la concordancia de las escalas se analizaron los datos con el programa R studio por medio de la función Kendall (x, y) del paquete Kendall, en donde la variable “x” correspondió

al nivel real de la severidad en cada escala para las imágenes y la variable “y” a los niveles otorgados por los evaluadores. Esto se realizó para cada una de las repeticiones.

3.2.5 Validación de la escala por porcentaje de área afectada

Para la validación de las escalas descriptivas de intervalos iguales e intervalos logarítmicos, se seleccionaron cuarenta imágenes de hojas y veinticinco imágenes de vainas con síntomas de la enfermedad las cuales fueron organizadas en dos archivos de powerpoint, para cada evento de validación el orden de las imágenes se cambió y la transición entre diapositivas fue de 10 segundos (Yadav *et al.*, 2012; Braido *et al.*, 2015). Posteriormente, a cinco personas con experiencia en evaluación de enfermedades y cinco personas sin experiencia, se les pidió que estimaran el porcentaje de área afectada por la enfermedad utilizando la escala descriptiva del CIAT y las propuestas en el presente proyecto con intervalos iguales y logarítmicos. Para estimar la repetitividad (precisión intraevaluador) de cada escala, este ejercicio se realizó en tres ocasiones, con un intervalo mínimo de siete días, entre cada evaluación.

Para evaluar la precisión y exactitud se calculó el coeficiente de correlación de concordancia de Lin (LCCC) con sus respectivos estadísticos que corresponden a diferencia de la pendiente de las dos líneas o slope shift (v), cambio de altura o local shift (u), factor de corrección o bias correction factor (C_b), coeficiente de correlación o correlation coefficient (r) y LCCC (pc) el cual combina las medidas de precisión (r) y exactitud (C_b) para medir el acuerdo con la severidad real. (Bock *et al.*, 2009; Capucho, Zambolim, Duarte, y Vaz, 2011; Braido *et al.*, 2015). Este análisis se aplicó de manera individual para cada evaluador por cada repetición y escala. Para observar si había diferencias entre las medias de todos los estadísticos del LCCC para las estimaciones con la escala descriptiva y con SADs de intervalos logarítmicos e iguales se realizó

un bootstrap de 10.000 repeticiones calculando la media en cada repetición, luego se calculó la diferencia entre las medias y se estableció el intervalo de confianza del 95% de esa diferencia. En caso de que el intervalo contuviera el cero significaba que no había diferencias significativas entre las medias (Correia *et al.*, 2017; González-Domínguez *et al.*, 2014). Estos análisis se realizaron con la función `epi.ccc` del paquete `epiR` y `replicate` en el programa Rstudio.

Así mismo, para evaluar la reproducibilidad (precisión inter-evaluador) de las estimaciones entre evaluadores se calculó el coeficiente de correlación de concordancia general (OCCC) (Correia *et al.*, 2017) por cada repetición por escala, con la función `epi.occc` del paquete `epiR` en Rstudio. Para determinar si había diferencias significativas se realizó el mismo procedimiento descrito para los estadísticos de LCCC.

4. Resultados y discusión

4.1 Cuantificación de la incidencia y severidad de *Boeremia* spp. en las zonas de mayor producción de fríjol en Antioquia, Tolima y Huila

4.1.2 Mancha anillada en el departamento de Antioquia

Durante el segundo semestre del 2016 en el departamento de Antioquia se muestrearon 25 fincas productoras de fríjol con diferentes áreas de siembra desde 0.03 ha hasta 2 ha, ubicadas en 22 veredas, pertenecientes a los municipios de Marinilla, San Vicente Ferrer, Sonsón, El Santuario y Carmén de Viboral, las cuales se encuentran ubicadas desde los 2.150 hasta los 2.625 m s.n.m. En este departamento se encontraron tres variedades de fríjol: Cargamanto Blanco (CB), Cargamanto Rojo (CR), habichuela (H) y el genotipo MRC8 el cual es un material obtenido por el CIAT y se

caracteriza por ser de hábito voluble IVa, semilla tipo Cargamanto Rojo, con resistencia al virus del Mosaico común del frijol (gen bc-3).

A nivel de departamento en las 750 plantas evaluadas, se estableció una incidencia del 94% (703 plantas con síntomas de la enfermedad), y el 6% (47 plantas) donde no se observó sintomatología asociada a la mancha anillada, correspondió a plantas evaluadas en veredas del municipio de Sonsón y El Santuario, razón por la cual no se encontraron diferencias significativas en los niveles de incidencia al nivel de departamento y solo es notable en la comparación por pares de municipios con presencia de plantas sanas y ausencia de estas con valores de $p < 0.025$ (Tabla 3).

Tabla 3

Incidencia y severidad de la mancha anillada de P. vulgaris en Antioquia

Municipio	Vereda	Altura	Variedad	I	RS	S
San Vicente Ferrer	La travesía	2283	CB	100	2-7	4
	El Porvenir	2329	CB	100	6-9	8
	La Magdalena	2202	MRC8	100	3-6	4
	El Canelo	2150	CB	100	2-5	3
	El Porvenir	2198	CR	100	3-8	5
Marinilla	Santa Cruz	2213	H	100	5-8	7
	San José	2223	CR	100	6-8	6
	La Montañita	2170	CB	100	7-9	9
	Chocho Mayo	2200	CB	100	6-9	8
	Salto Arriba	2191	CR	100	3-8	6
Sonsón	Llanadas Arriba	2625	CR	90	1-9	6-7
	El Salto	2590	CR	66.7	1-5	1
	Llanadas Arriba	2485	CR	100	2-8	5
	Santa Clara	2294	CR	80	1-5	3
	Llanadas Abajo	2422	CR	100	3-9	8
El Carmen de Viboral	Cristo Rey	2171	CB	100	2-6	5
	Alto Grande	2197	CB	100	2-6	4
	La Madera Aurora	2161	CB	100	4-9	7
	Rivera	2196	CB	100	5-8	6

	Campo Alegre	2229	CB	100	4-8	7
El Santuario	El Salto	2151	H	100	2-7	4
	El Salto	2347	CR	100	2-8	6
	Valle de María	2162	CR	10	1-2	1
	Aldana	2171	CR	100	3-9	6
	Pantaniello	2160	H	96.6	1-6	3-4

I: Incidencia, **RS:** Rango de severidad, **S:** Severidad de la enfermedad en cada punto de muestreo el cual corresponde al nivel o niveles más frecuentes observados.

Por otra parte en Antioquia los niveles de severidad más frecuentes fueron el 5 (16 %), 6 (17%), y 7 (16 %). La prueba de chi cuadrado comparando todos los niveles de severidad de los municipios arrojó un valor de $p < 2.2e-16$, mostrando que hay diferencias significativas entre los niveles de severidad observados en los municipios de mayor producción de fríjol en Antioquia. Al comparar por pares de municipios, se encontró que solo El Santuario y San Vicente Ferrer no presentaron diferencias significativas para los tres grupos de severidades, todos los demás municipios eran diferentes en al menos uno de los grupos de severidad (Tabla 4).

Tabla 4

Valor de p de las comparaciones por pares de municipios de Antioquia obtenido en la prueba de X^2 con 1 grado de libertad y alfa de 0.025

Municipios	B	I	A
El Carmen de Viboral - S. Vicente Ferrer	0.0004	0.1748	0.4189
El Carmen de Viboral- El Santuario	0.0864	0.2013	0.0072
El Carmen de Viboral- Marinilla	0.0201	2.001e-05	4.776e-07
El Carmen de Viboral- Sonsón	5.733e-07	3.816e-07	1
El Santuario-Marinilla	0.0001	0.0025	1.79e-13
El Santuario-S. Vicente Ferrer	0.0508	0.9368	0.0568
El Santuario-Sonsón	0.0005	0.0001	0.0072
Marinilla-S. Vicente Ferrer	7.621e-08	0.0032	8.096e-09
Marinilla-Sonsón	3.918e-11	0.3827	4.776e-07
S. Vicente Ferrer-Sonsón	0.1118	0.0002	0.4189

Nota: En negrita se presentan los casos en que no se rechaza la hipótesis nula, es decir, que no hay diferencias significativas en las categorías de severidad presentadas en los municipios evaluados. **B:** niveles de severidad bajos, **I:** niveles de severidad intermedios, **A:** niveles de severidad altos.

De acuerdo con la información suministrada por los agricultores, en 18 de los puntos muestreados el cultivo había tenido varias aplicaciones de fungicidas entre los que se destacan Daconil, Score, Centauro, Benomil y Carbendazim con aplicaciones de 1 a 2 veces por semana, para el control principalmente de la antracnosis y mancha anillada, pero en todos fue notable la alta presión de la enfermedad. Hace aproximadamente 40 años se había reportado a la mancha anillada como uno de los tres problemas más limitantes de la producción de fríjol en el oriente antioqueño, el cual podía ser controlado aplicando fungicidas con benomil como ingrediente activo, pero después fue perdiendo efectividad lo que según Navarro y Puerta (1982) se debía a una posible adquisición de resistencia del hongo hacia el fungicida; esto muestra la gran problemática de la enfermedad en la zona puesto que el poco control químico que han podido obtener los agricultores conlleva a la utilización indiscriminada de otros fungicidas que después de un tiempo pueden resultar inútiles para el control de la enfermedad.

4.1.3 Mancha anillada en el departamento de Tolima

En el mes de junio del año 2017 se realizó el muestreo en 22 fincas productoras del departamento de Tolima, con altitudes de los 1590 y los 2523 m.s.n.m, en cultivos con áreas de 0.08 ha (800 m²) hasta de 2.5 ha aproximadamente, situadas en 17 veredas en los municipios de Roncesvalles, Cajamarca, Santa Isabel, Anzoátegui e Ibagué. Aunque se tenía contemplada la visita a 25 fincas, dadas las condiciones de las vías, era difícil el desplazamiento y el acceso a las mismas, por lo que solamente se realizó la evaluación en 22. El número de plantas muestreadas se mantuvo en todos los sitios de muestreo pero en el departamento de Tolima solo fue posible realizar muestreo en 22

puntos de muestreo de los 25 que se tenían planeados visitar, puesto que el acceso a algunas veredas no fue posible por daños en las vías. Esta aclaración se realizó en el apartado 4.1.3.

En este departamento se encontraron tres variedades de frijol: Bola Roja (BR), Cargamanto Rojo (CR), Guarzo Rojo (GR), en un sitio no se logró identificar el tipo de Cargamanto (C) y en otro no se identificó la variedad (Tabla 5).

En total se evaluaron 660 plantas en el departamento, registrándose una incidencia del 60% (397 plantas enfermas). Las plantas sanas (263) se encontraron en todos los sitios de muestreo exceptuando cuatro veredas de Cajamarca y una vereda de Santa Isabel, no obstante, solo los municipios de Santa Isabel e Ibagué no presentaron diferencias significativas en la proporción de plantas sanas y enfermas ($p=0.8925$).

Tabla 5

*Incidencia y severidad de la mancha anillada de *P. vulgaris* en Tolima*

Municipio	Vereda	Variedad	Altura	I	RS	S
Roncesvalles	Bruselas	BR	2400	63.33	1-5	1-2
	Diamante	BR	2287	6.7	1-3	1
	San Marcos	CR	2523	43.33	1-6	1
Cajamarca	Cajamarquita	CR	1902	100	5-8	7
	La Luisa	CR	2162	60	1-4	8
	Altamira	CR	1926	100	4-8	8
	La Tigrera	CR	1922	100	2-8	4
	El Cedral	CR	2001	100	4-8	4
	La Rica	CR	2061	100	2-7	5
Santa Isabel	La Rica	CR	1895	26.7	1-3	1
	La Rica	GR	1939	86.7	1-6	3
	Guaimaral	CR	2174	46.7	1-7	1
	Colón	CR	1771	50	1-7	1
Anzoátegui	La Alejandría	BR	2371	33.33	1-6	1
	La Alejandría	BR	2282	16.7	1-4	1
	La Esmeralda	-	1594	10	1-3	1
Ibagué	Tambo	H	1880	70	1-6	1
	Tambo	H	1866	73.33	1-7	1
	Salitre Cócora	C	1926	73.33	1-6	1
	Pico de Oro	CR	1600	100	1-8	7

El Retiro	C	1711	3.33	1-2	1
El Retiro	C	1711	60	1-5	1

I: Incidencia, **RS:** Rango de severidad, **S:** Severidad de la enfermedad en cada punto de muestreo el cual corresponde al nivel o niveles más frecuentes observados.

En relación con la severidad de la enfermedad, los niveles más frecuentes en el departamento fueron el 2 (21 %), 3 (18 %) y el 4 (20 %). Los niveles de severidad alta fueron menos frecuentes hasta el punto de no observarse ninguna planta con nivel 9. Por consiguiente, se encontraron diferencias significativas entre los niveles intermedios y altos para la mayoría de municipios. En cambio Anzoátegui y Roncesvalles al igual que Ibagué y Santa Isabel no presentaron diferencias en los tres grupos de severidad evaluados (Tabla 6), esto puede deberse a la similitud en la altura de los puntos evaluados en los municipios de Ibagué y Santa Isabel los cuales presentaban temperaturas un poco más altas respecto a los demás sitios y la variedad en común cultivada tanto en Roncesvalles como Anzoátegui.

Solo en siete puntos de muestreo se logró conocer los fungicidas aplicados al cultivo, siendo los más comunes Score y Ridomil. Al contrario de la situación en Antioquia, en estos puntos fue mayor la proporción de plantas sanas que enfermas, condición que fue tendencia en este departamento.

Tabla 6

Valor de p de las comparaciones por pares de municipios de Tolima obtenido en la prueba de X^2 con 1 grado de libertad y alfa de 0.025

Municipios	B	I	A
Anzoátegui-Roncesvalles	0.0706	0.1967	-
Anzoátegui-Cajamarca	0.1701	3.049e-15	1.522e-10
Anzoátegui-Ibagué	1.316e-06	5.733e-09	0.0001
Anzoátegui-Santa Isabel	2.648e-05	6.776e-08	0.0143
Cajamarca-Ibagué	0.0003	0.0089	0.0005
Cajamarca-Roncesvalles	0.6547	1.103e-12	1.522e-10
Cajamarca-Santa Isabel	0.0031	0.0017	3.303e-07
Ibagué-Roncesvalles	0.0013	9.546e-07	0.0001
Ibagué-Santa Isabel	0.4772	0.5961	0.0495
Roncesvalles-Santa Isabel	0.0115	9.097e-06	0.0143

Nota: En negrilla se muestran los casos en que no hay diferencias significativas entre los rangos de niveles de severidad entre los municipios. **B:** niveles de severidad bajos, **I:** niveles de severidad intermedios, **A:** niveles de severidad altos.

4.1.4 Mancha anillada en el departamento de Huila

En el departamento de Huila se realizó el muestreo durante el primer semestre del año 2017 en 25 puntos con tamaños de siembra desde 0.2 ha hasta 15 ha, ubicados en 15 veredas de los municipios: El Pital, La Plata, San Agustín y Santa María con altitudes desde los 1.310 a los 2.232 m s.n.m. Se encontraron cultivadas las variedades de Cargamanto Blanco, Cargamanto Rojo, Habichuela, Bola Roja, Calima (Cl) y en dos sitios no se logró identificar la variedad (-) (Tabla 7).

De las 750 plantas muestreadas, 388 estaban enfermas por lo que la incidencia para el departamento fue del 51.7 %. En relación con la incidencia se encontraron diferencias significativas entre todos los municipios y al realizar el análisis por pares, todas las comparaciones arrojaron valores significativos, exceptuando El Pital con Santa María y el municipio de La Plata con San Agustín con valores de $p = 0.1613$ y 0.1406 respectivamente. En la mayoría de los puntos muestreados en La Plata y San Agustín cultivaban variedad de Cargamanto Blanco y Cargamanto Rojo las cuales son altamente susceptibles a las enfermedades (Arias y Guzmán, 2001) lo que podría explicar el mayor número de plantas enfermas encontradas en estos municipios. Tanto en Tolima como en Huila en los sitios donde se encontró cultivada la variedad Bola Roja se observó una menor incidencia y severidad respecto a la encontrada en los sitios donde se sembraba Cargamanto.

Tabla 7

Incidencia y severidad de la mancha anillada de *P. vulgaris* en Huila

Municipio	Vereda	Variedad	Altura	I	RS	S
San Agustín	El Rosario p1	CI	2090	100	3-7	6
	El Rosario p2	CR	2082	86.6	1-5	2
	El Tabor	C	1755	70	1-4	1-2
	Llanada de Naranjos	CR	1708	20	1-4	1
	Cuchilla	CR	1725	80	1-5	2
	El Recreo	BR	1806	30	1-3	1
	El Recreo	BR	2097	56.6	1-4	2
El Pital	El Carmelo p1	CR	1881	16.7	1-2	1
	El Carmelo p2	BR	2033	83.3	1-7	2
	Playa Rica	H	1310	23.3	1-3	1
	El Carmelo p3	-	2187	56.7	1-8	1
	El Recreo	BR	2046	50	1-4	1
	EL Uvital	BR	1777	46.7	1-5	1
	El Uvital	CR	1762	56.6	1-6	1
La Plata	La Esmeralda	CB	1727	46.7	1-5	1
	Bélgica	CB	1944	80	1-7	5
	Bélgica	CB	2062	86.7	1-7	5
	Las Brisas	-	1890	80	1-6	3
	La Palma	H	1661	20	1-5	1
Santa María	San Francisco	BR	2073	50	1-3	1
	San Francisco	BR	2232	26.6	1-3	1
	San Francisco	BR	2230	60	1-4	2
	San Francisco	BR	2127	0	1	1
	Bache	CR	1951	66.7	1-6	1
	Bachecito	C	1988	0	1	1

I: Incidencia, **RS:** Rango de severidad, **S:** Severidad de la enfermedad en cada punto de muestreo el cual corresponde al nivel o niveles más frecuentes observados.

Por otra parte, los niveles de severidad más frecuentes fueron el 2 con un 31% (120 plantas) y 3 con 28% (109 plantas). En este departamento solamente se evaluó una planta con nivel de severidad 8 y al igual que Tolima no se observó el nivel de severidad 9; de modo que Huila fue el departamento con menos severidad de la enfermedad pero no obstante con una prevalencia alta del 92%. En cuanto a los valores de severidad alta, en general todos los municipios presentaron muy pocas plantas afectadas con valores de 7, 8 y 9, por lo que en 8 de las 10 comparaciones entre

municipios, se obtuvo un valor de $p < 0.025$, el cual indica que no hay diferencias significativas entre los valores de severidad observados (Tabla 8).

Tabla 8

Valor de p de las comparaciones por pares de municipios de Huila obtenido en la prueba de X^2 con 1 grado de libertad y alfa de 0.025

Municipios	B	I	A
El Pital-San Agustín	0.2254	7.501e-05	0.1797
El Pital-El Pital p2	0.0495	0.0065	0.5637
El Pital- La Plata	0.0495	1.53e-08	0.3173
El Pital-Santa María	0.763	0.6831	0.3173
San Agustín-El Pital p2	0.0016	0.179	0.4142
San Agustín-La Plata	0.0016	0.0537	0.7055
San Agustín-Santa María	0.1306	0.0003	0.1573
La Plata-El Pital p2	1	0.0012	0.6547
La Plata-Santa María	0.0956	9.268e-08	0.0833
Santa María-El Pital p2	0.0956	0.0192	0.0455

Nota: En negrita se muestran los casos en que no hay diferencias significativas entre los rangos de niveles de severidad entre los municipios. **B:** niveles de severidad bajos, **I:** niveles de severidad intermedios, **A:** niveles de severidad altos.

Según información dada por los agricultores, en 12 de los sitios de muestreo (48%) los fungicidas aplicados correspondieron principalmente a Score, Orthocide, Daconil y Amistar, en los cuales de manera similar a Tolima se caracterizaron por la baja presencia de la enfermedad.

4.1.6. Niveles de severidad y altitud

En cada departamento se identificaron diferencias significativas en los niveles de severidad de acuerdo a la altitud de los cultivos, con valores de p igual a 4.243e-06, 0.0152 y 0.0003 para Antioquia, Tolima y Huila respectivamente. Se realizó el análisis teniendo en cuenta los datos de los tres departamentos y se observó que el nivel 9 solo se reportó en Antioquia, en su mayoría (29 de 32 plantas) cerca a los 2100 m.s.n.m, los niveles del 6 al 8 solamente se encontraron sobre los

1700 m.s.n.m. y los valores bajos (1-3) e intermedio (4-5) se encontraron en la mayoría de altitudes muestreadas (Figura 4).

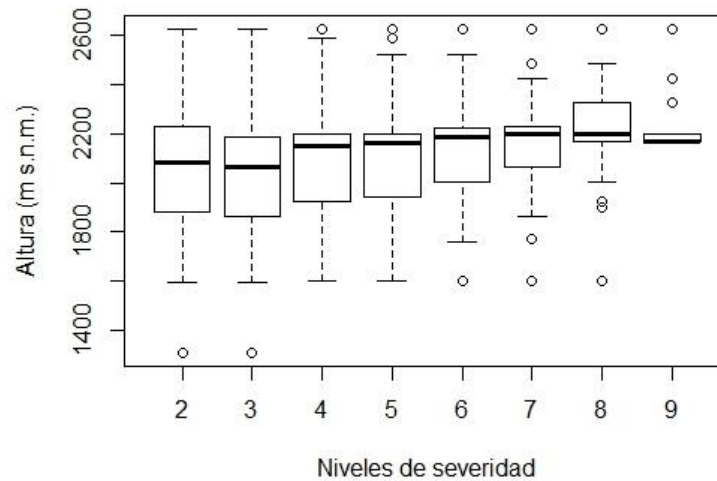


Figura 4 Distribución altitudinal de los niveles de severidad de la mancha anillada del frijol

4.1.7 Niveles de severidad y precipitación

Debido a que en las veredas muestreadas no hay estaciones meteorológicas que aporten datos de la temperatura, precipitación y humedad presentada exactamente en la zona de muestreo (con lo que se podrían realizar comparaciones entre cultivos, por ejemplo, entre el valor de severidad y la humedad), no fue posible realizar análisis de correlación, que permitieran determinar la influencia de cada uno de los factores ambientales en el desarrollo de la enfermedad. Aunque se solicitó información de estaciones dentro de cada municipio, esta no se encontraba validada para los meses de desarrollo del cultivo. Por esta razón, se solicitó la información de las estaciones al IDEAM para realizar un promedio histórico, sin embargo, los datos estaban incompletos, así que los boletines climatológicos a nivel nacional proporcionados mensualmente por esta entidad, se usaron para tener una aproximación de los valores de humedad.

Según esta información al suroriente de Antioquia en el mes de agosto se presentaron pocas lluvias, que luego fueron aumentando en los meses de septiembre marcando el inicio de la segunda temporada de lluvias sobre el caribe, el norte y centro de la región andina. Los meses de Octubre y Noviembre fueron los meses más lluviosos con rangos de precipitación entre los 200 a 400 mm para la zona y finalmente en diciembre donde se supone que disminuye el régimen de lluvias, el fenómeno de la niña retrasó el inicio de la época seca. Lo anterior, confirma la apreciación de algunos agricultores respecto a que la aplicación de los fungicidas no estaba funcionando debido a las constantes lluvias que “lavaba” el producto aplicado, sobretodo en la etapa R7/R8 (formación de las vainas/llenado de las vainas) del cultivo. En cualquier caso, la constancia de un ambiente húmedo y con temperaturas adecuadas para la proliferación del hongo, hace que sea difícil el manejo de la enfermedad en cultivares que son completamente susceptibles. En cuanto a Tolima y Huila en el primer semestre del año 2017, durante el mes de marzo se presentaron pocas lluvias, acumulando de los 100 a 150 mm y para los meses de abril y mayo se presentaron lluvias que oscilaron alrededor de los 400 mm. En junio y julio se presentó una disminución de las lluvias con rangos de 50 a 150 mm, excepto para la zona de San Agustín en Huila en la cual se encontraba una precipitación mensual cerca a los 200 mm.

Con esta información para los departamentos de Huila y Tolima es probable que al inicio de la época de lluvias se hayan provocado algunos focos de infección, pero al no extenderse las condiciones favorables para el patógeno se interrumpió el desarrollo de la enfermedad. Esto se encuentra acorde a lo expresado por Gerlagh, (1993) quien encontró que al suspender por completo la humedad después de 4 días, se inhibía la formación clara de síntomas.

4.2 Mapas temáticos

Se elaboraron 14 mapas temáticos, 5 correspondientes a municipios del departamento de Antioquia (Apéndices A-E), 5 municipios del departamento de Tolima (Apéndices F-J) y de 4 municipios del departamento del Huila (Apéndices K-N) con lo que se logró identificar el nombre correspondiente de las veredas de cada sitio de muestreo y con ello georreferenciar correctamente las muestras recolectadas en campo que hacen parte de la colección de patógenos del frijol en el laboratorio de Patología de Frijol del CIAT.

4.3 Escalas de severidad de la mancha anillada en hojas y vainas

Los genotipos sembrados en el ensayo presentaron un bajo porcentaje de germinación y poco desarrollo. Por esta razón, se decidió realizar la construcción de las escalas utilizando muestras de hojas y vainas de cultivos inoculados con el mismo aislamiento (ASC 1 COL) destinados para la evaluación de líneas y familias en la sede experimental del CIAT en Popayán.

Adicionalmente, durante la salida de campo en Tolima y una salida adicional a Cabrera-Cundinamarca, se recolectaron muestras de hojas y vainas de plantas en etapas R7 y R8, para una recolección total de 80 vainas y 200 hojas. Este número de muestras se considera óptimo ya que se logró observar diferentes grados de severidad y ha sido reportado en otros estudios para la construcción de las escalas como el de Vieira *et al.*, (2014) y Libreton *et al.*, (2015). El menor número de vainas afectadas con respecto a las hojas se debe a que la enfermedad generalmente se encuentra en primera instancia en las hojas y en estados avanzados llega a afectar a las vainas, por lo que encontrar vainas afectadas no es tan común cuando la severidad en las plantas es baja. Lo anterior puede ser una de las razones por las cuales la mancha anillada ha sido considerada una

enfermedad secundaria, dado que es una enfermedad ascendente, es decir que se desarrolla en el primer tercio de la planta y como es frecuente la siembra de variedades de tipo enredadera en donde las vainas se encuentran desde la mitad de la planta hacia arriba, hace que la enfermedad no sea tan evidente en vainas y por ende se subestime el efecto que pueda tener en el llenado de las mismas. Las pérdidas de rendimiento de un cultivo por la mancha anillada pueden ser del 40 al 43% y combinado con otra enfermedad como la mancha blanca puede causar pérdidas hasta del 75% (Schwartz *et al.*, 1981) cifras que son altas y como se evidenció en la salida de campo realizada en Antioquia, pueden ser aún mayor.

Cabe anotar que era frecuente encontrar hojas con un alto nivel de severidad, sin embargo, no fue posible utilizarlas para el registro fotográfico puesto que presentaban desprendimiento de uno o dos folíolos, la caída de parte del tejido o el marchitamiento completo de la hoja, así como también la afectación por otras enfermedades, lo que limitaba la medición del área foliar afectada de una manera confiable.

4.3.3 Escalas diagramáticas de hojas

Se midió un total de 200 hojas de frijol que presentaban los síntomas de la enfermedad, encontrándose un valor mínimo de 0.3% y un máximo de 54% de área foliar afectada.

De acuerdo a lo establecido por Horsfall y Barrat para las severidades de las hojas se obtuvieron siete categorías con un valor máximo de 50 % (Figura 5); en el caso de la escala de intervalos iguales se establecieron nueve categorías con un valor máximo de 49% y por lo tanto un tamaño de intervalo de 7% (Figura 6).

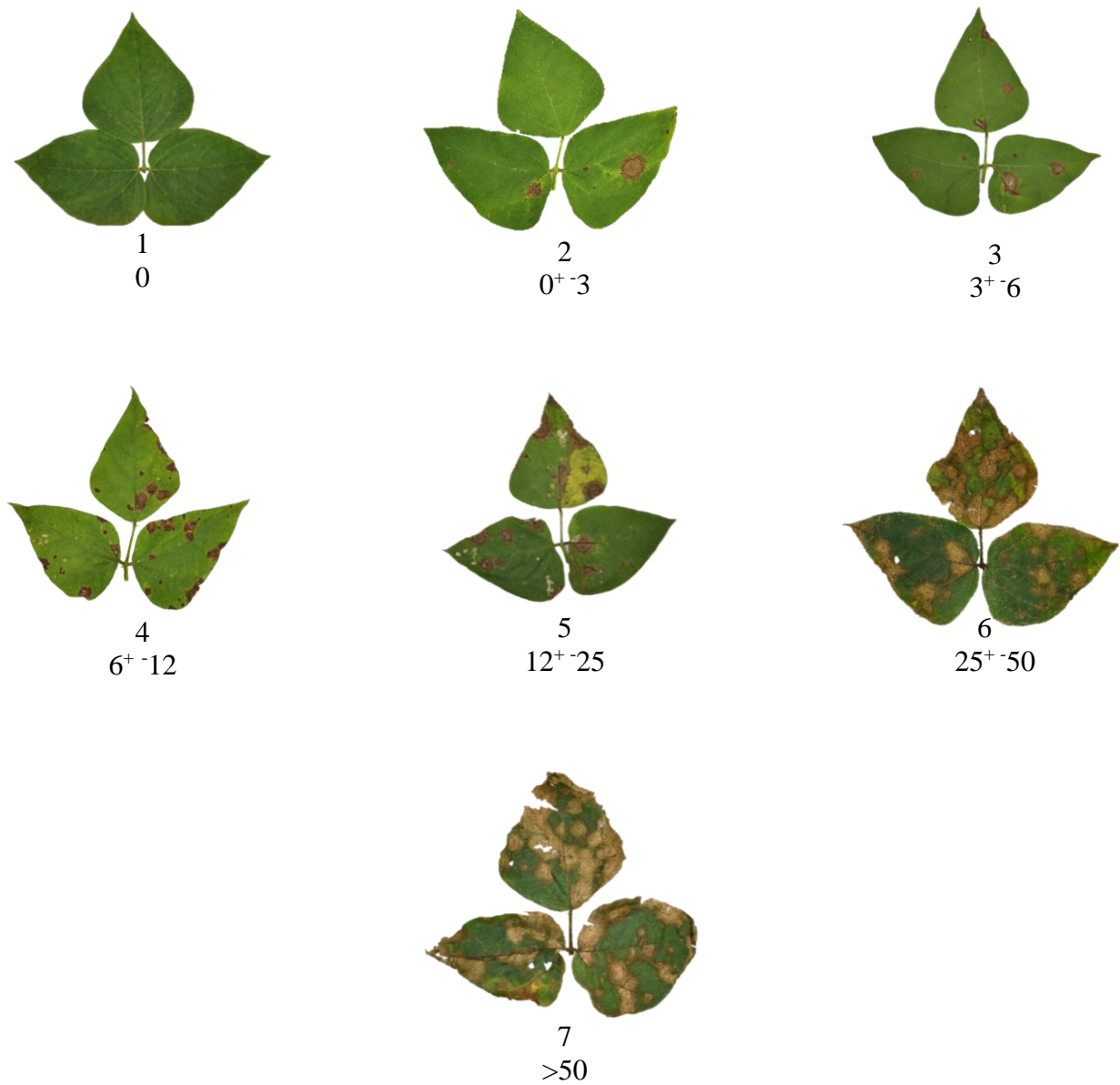


Figura 5. Escala diagramática de severidad con intervalos H-B de la mancha anilla en frijol

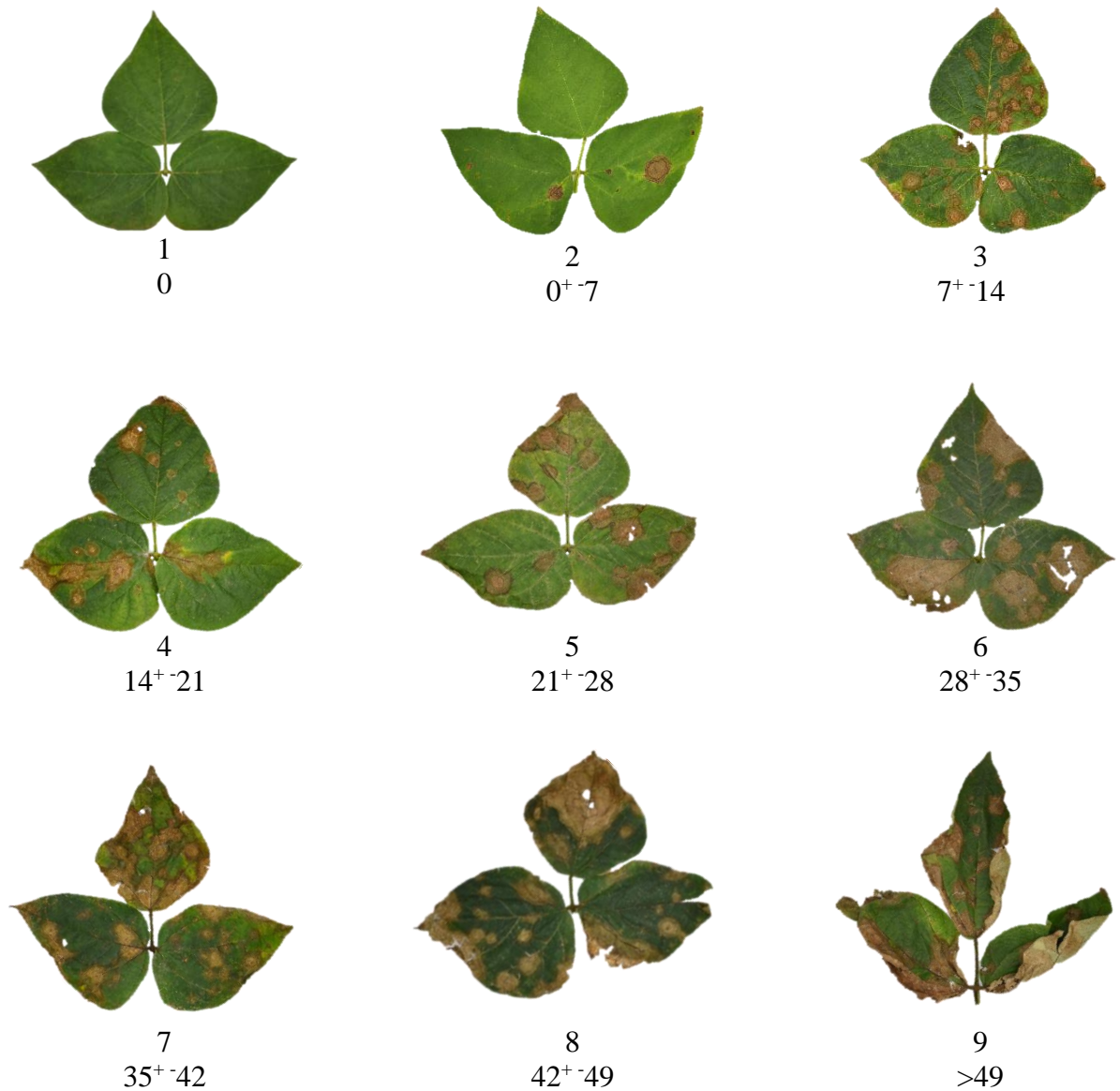


Figura 6. Escala diagramática de severidad con intervalos iguales para la mancha anillada en hojas de frijol

El número de categorías para las dos escalas desarrolladas están de acuerdo a lo establecido para este tipo de trabajos, teniendo en cuenta que el número de diagramas que se reportan con mayor frecuencia son de 6, 5 y 8 y según Del Ponte *et al.*, (2017) el número no debe ser menor a 6 y mayor a 10, y la distancia en el porcentaje de severidad no debe superar el 15%.

4.3.3.1 Validación por niveles

Al realizar el análisis con las estimaciones de los expertos según el coeficiente de Kendall, se obtuvo que con la escala descriptiva propuesta por CIAT, el valor fue igual en las tres repeticiones (0.68) y menor a lo obtenido con las escalas diagramáticas propuestas. Con la escala logarítmica se observó un incremento de la concordancia en la última repetición con un valor de 0.86, siendo el valor más alto que el arrojado por a la escala de intervalos iguales de 0.81 (Tabla 9). Los evaluadores expertos, respecto a las 75 estimaciones obtenidas por cada repetición, acertaban en promedio un 33% con la escala descriptiva, un 56 % con la escala logarítmica y un 31 % con la escala de intervalos iguales. En relación con los evaluadores inexpertos, la concordancia fue mayor con las escalas diagramáticas con poca variación entre repeticiones, lo que indica un mayor acierto en las estimaciones. De las 75 estimaciones obtenidas en cada repetición los evaluadores acertaban en promedio con la escala descriptiva en un 32%, con la logarítmica 48% y con la de intervalos iguales en un 34%. Ahora bien, los valores de aciertos obtenidos con la escala de intervalos iguales y la descriptiva por parte de ambos grupos de evaluadores son muy similares pero la diferencia en cuanto al valor del coeficiente de Kendall radica en que con la escala diagramática de intervalos iguales, las veces que fallaban los evaluadores estaban más cercanos al nivel real de la enfermedad que cuando fallaban con la escala descriptiva.

Fue común entre los evaluadores subestimar el nivel de severidad de las imágenes, sobre todo con la escala descriptiva y la severidad correspondiente al nivel 9, esto puede ser debido a que esta categoría la asocian principalmente a plantas muertas, más que al porcentaje de área foliar afectada.

Tabla 9

Coefficiente de Kendall por cada repetición para las estimaciones de severidad de mancha anillada en hojas de frijol

Tipo de evaluador	Escala	Repetición		
		1	2	3
Expertos	Descriptiva	0.68	0.68	0.68
	Logarítmica	0.71	0.78	0.86
	Iguales	0.74	0.83	0.81
Inexpertos	Descriptiva	0.70	0.59	0.62
	Logarítmica	0.72	0.67	0.72
	Iguales	0.82	0.77	0.77

4.3.3.2 Validación por porcentaje de severidad

Estadísticos del Coeficiente de correlación de concordancia de Lin

El parámetro de ubicación del sesgo o location shift (u) fue positivo para más del 90% de las evaluaciones con cada escala en los dos grupo de evaluadores, por lo que se puede considerar una tendencia a sobrestimar la severidad de la enfermedad. En otro estudio de construcción y validación de escalas desarrollado por Costa *et al.*, (2015), los expertos tendían a subestimar la severidad lo cual era evidente con los valores negativos del estadístico u , en cambio los evaluadores inexpertos sobreestimaban la enfermedad con el uso de los diagramas. En este estudio sin embargo, para los evaluadores expertos el promedio para la escala descriptiva (0.4226), y la de intervalos logarítmicos (0.5173) no mostraron diferencias significativas y al comparar estas con la escala diagramática de intervalos iguales (0.6619) sí se encontraron diferencias significativas, lo que sugiere que esta última escala incrementa la sobreestimación. Por el contrario, en los evaluadores inexpertos la escala descriptiva (0.8591) y la escala de intervalos logarítmicos

(0.4553) mostraron diferencias significativas, pero no se observaron al compararlos con la escala de intervalos iguales (0.6101) (Tabla 10).

Exactitud

Los promedios del factor de corrección del sesgo (Cb) obtenidos con la utilización de las tres escalas, no presentaron diferencias significativas en las estimaciones realizadas por los evaluadores expertos. Caso contrario se observó con los evaluadores sin experiencia, puesto que al comparar las medias de la escala descriptiva (0.6860) con la escala diagramática de intervalos logarítmicos (0.8599) y la escala diagramática de intervalos iguales (0.8211) se obtuvieron diferencias significativas. Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Costa *et al.* (2015) y González-Domínguez *et al.* (2014) donde los evaluadores expertos tuvieron mejor exactitud con el uso de diagramas o sin ellas, sin embargo, ninguno de los dos grupos de evaluadores presentó diferencias al comparar las medias entre las escalas diagramáticas.

Precisión

En cuanto a la precisión, las estimaciones de los expertos e inexpertos no presentaron diferencias significativas al comparar el coeficiente de correlación de la escala diagramática de intervalos logarítmicos ($r=0.9303, 0.8554$), la escala descriptiva ($r=0.9359, 0.7984$) y la escala diagramática de intervalos iguales ($r=0.9322, 0.8517$), siendo siempre los evaluadores expertos los que presentaron mayor precisión con las tres escalas.

Reproducibilidad

Los evaluadores expertos con el análisis del coeficiente de correlación de concordancia general con la escala descriptiva obtuvieron un valor de 0.7415, con la escala de intervalos logarítmicos de 0.8356 y con la escala de intervalos iguales 0.8527, por lo que se obtuvieron diferencias

significativas entre la escala descriptiva y las escalas diagramáticas. Los evaluadores inexpertos con la escala descriptiva tuvieron una concordancia de 0.4359, la cual fue incrementada con el uso de las escalas diagramáticas con valores medios de 0.7363 para la escala logarítmica y 0.7159 para la escala de intervalos iguales (Tabla 11). Al igual que los evaluadores con experiencia, el uso de los diagramas mostró diferencias significativas respecto a la concordancia entre evaluadores obtenida con la escala descriptiva.

Tabla 10

Promedios de los estadísticos de Lin para los evaluadores expertos e inexpertos al emplear la escala descriptiva y las escalas diagramáticas para la evaluación de mancha anillada en hojas de fríjol

Evaluador	Estadísticos LCC	Promedio			IC 95% D-L	IC 95 % D-I	IC 95% L-I
		Descriptiva	Logarítmica	Iguales			
Expertos	Scale shift	1.2305	1.3518	1.2451	-0.2947 0.0578	-0.1715 0.1488	-0.0201 0.2402
	Location shift	0.4226	0.5173	0.6619	-0.2979 0.0925	-0.4354 -0.0561	-0.2578 -0.0291
	Bias correction factor	0.8336	0.8405	0.8000	-0.0723 0.0593	-0.0298 0.0957	-0.0157 0.0968
	Correlation coefficient	0.9359	0.9303	0.9322	-0.0095 0.01991	-0.0124 0.0197	-0.0142 0.0109
	Concordance coefficient	0.7789	0.7817	0.7467	-0.0639 0.0589	-0.0287 0.0936	-0.0179 0.0871
Inexpertos	Scale shift	1.3964	1.2775	1.0723	-0.0518 0.2990	0.1539 0.5005	0.1109 0.2993
	Location shift	0.8591	0.4553	0.6101	0.1311 0.6744	-0.0269 0.5153	-0.3210 0.0085
	Bias correction factor	0.6860	0.8599	0.8211	-0.2686 -0.0775	-0.2341 -0.0361	-0.0213 0.0970
	Correlation coefficient	0.7984	0.8554	0.8517	-0.1319 0.0122	-0.1318 0.0204	-0.0419 0.0531
	Concordance coefficient	0.5554	0.7383	0.7059	-0.2894 -0.0729	-0.2641 -0.0325	-0.0462 0.1095

Nota: En negrita se muestran los casos en que hay diferencias significativas entre los promedios de los estadísticos.

Tabla 11

Medidas de reproducibilidad entre evaluadores con el uso de la escala descriptiva y las escalas diagramáticas para la evaluación de mancha anillada en hojas de fríjol

Evaluador	Promedio			IC 95% D-L	IC 95 % D-I	IC 95% L-I
	Descriptiva	Logarítmica	Iguales			
Expertos	0.7415	0.8356	0.8527	-0.1629 -0.0345	-0.1764 -0.0531	-0.0556 0.0225
Inexpertos	0.4359	0.7363	0.7159	-0.3711 -0.2296	-0.3365 -0.2198	-0.0381 0.0787

Nota: En negrita se muestran los casos en que hay diferencias significativas entre los promedios de concordancia.

4.3.4 Escalas diagramáticas de vainas

Al realizar la determinación del área afectada de las 80 vainas, se encontró un valor mínimo de 0.23 % y un máximo de 84.26%. Siguiendo las categorías con los rangos establecidos por Horsfall y Barrat, para las severidades de las vainas se obtuvieron ocho categorías con un valor máximo de 75% (Figura 7). Para la escala de intervalos iguales se establecieron nueve categorías, con una diferencia entre intervalos de 10% y un valor máximo de severidad de 70% (Figura 8).

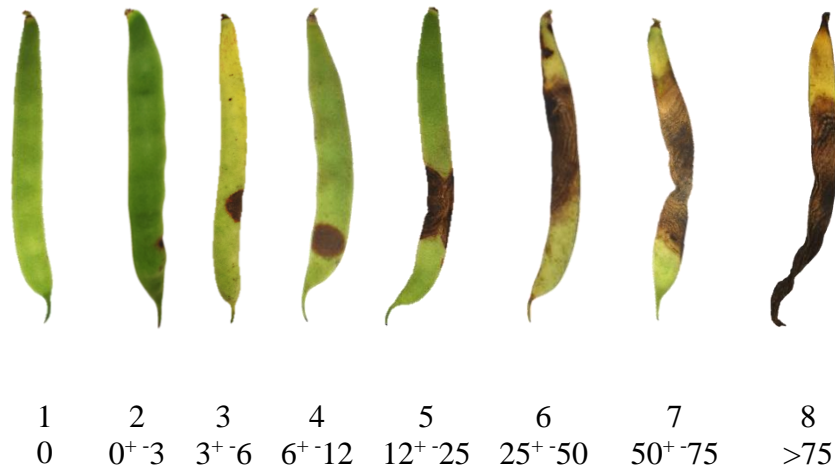


Figura 7 Escala diagramática de severidad con intervalos de H-B para la mancha anillada del frijol en vainas.

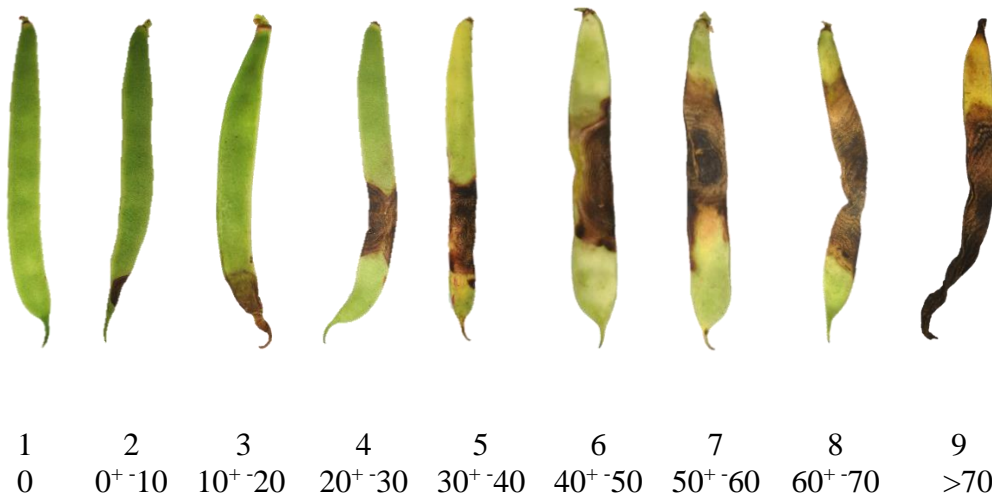


Figura 8 Escala diagramática de severidad con intervalos iguales para la mancha anillada del frijol en vainas.

4.3.4.1 Validación por niveles

Las personas expertas en comparación con las inexpertas siempre tuvieron mayor concordancia en los tres eventos de evaluación, lo cual se confirma con el valor promedio de las escalas descriptivas (0.67 y 0.56), escala de intervalos logarítmicos (0.84 y 0.73) y de intervalos iguales (0.79 y 0.73). El promedio de aciertos con la escala descriptiva fue del 25% y 29 %, para la escala de intervalos logarítmicos fue de 56% y 49% y para la escala de intervalos iguales de 48% y 46% para los evaluadores expertos e inexpertos respectivamente. Para ambos grupos de evaluadores utilizando las escalas diagramáticas se obtuvo un mayor valor de concordancia con los niveles reales de severidad, pese a los valores de la última validación de los inexpertos (0.59) que fue igual al presentado por los expertos con el uso de la escala descriptiva (Tabla 12). Esta situación se puede explicar considerando que los evaluadores empleaban menos tiempo en seleccionar un nivel, presumiblemente al tener cierto grado de confianza por la repetición del ejercicio, descuidando realizar una mejor observación de las imágenes.

Tabla 12

Coefficiente de Kendall para las validaciones de las escalas de vainas

Tipo de evaluador	Escala	Repetición		
		1	2	3
Expertos	CIAT	0.77	0.65	0.59
	Logarítmica	0.85	0.81	0.87
	Iguales	0.84	0.87	0.66
Inexpertos	CIAT	0.67	0.45	0.57
	Logarítmica	0.84	0.77	0.59
	Iguales	0.79	0.81	0.59

4.3.4.2 Validación por porcentaje de severidad

Coefficiente de correlación de concordancia de Lin

Las estimaciones de severidad de la mancha anillada en vainas mediante la utilización de las tres escalas, no arrojaron diferencias significativas en la exactitud ni precisión y tampoco en el coeficiente de correlación de los evaluadores expertos. Pero en el estadístico local shift se encontró diferencias entre el valor obtenido en la escala descriptiva (-0.0352) y la escala logarítmica (0.0844), así con la escala descriptiva se subestimó la severidad de la enfermedad en vainas y con la escala logarítmica se sobrestimó. Igualmente, en los evaluadores inexpertos no hubo diferencias significativas en precisión, coeficiente de correlación y exactitud, salvo la diferencia significativa entre el factor de corrección del sesgo (cb) entre la escala descriptiva (0.9481) y la escala diagramática de intervalos iguales (0.9771) (Tabla 13). El poco aporte al incremento de precisión y exactitud con el uso de las escalas diagramáticas, puede deberse a la forma de la vaina y al desarrollo de la enfermedad en este órgano, dado que generalmente se observa una lesión clara, lo que permite de una manera más sencilla poder estimar el porcentaje de área afectada sin necesidad de tener experiencia en este tipo de estimaciones de la enfermedad. Por el contrario, en las hojas de frijol al ser compuestas de tres folíolos en donde cada uno puede presentar lesiones, dificulta la estimación al tener que observar por separado el área en cada folíolo y luego agruparlos para dar una estimación global. En varios patosistemas como *Fragaria ananassa-Phomopsis obscurans* y *Citrus sinensis- Xanthomonas axonopodis pv. citri* (Bock *et al.*, 2010) se ha determinado que el error en las estimaciones de severidad es menor cuando las lesiones son pocas o de gran tamaño (como se ve en las vainas de frijol afectadas por la mancha anillada), en comparación con varias lesiones de menor tamaño (como se pueden observar en las hojas de frijol).

Reproducibilidad

Si bien al comparar las estimaciones de los evaluadores con el valor real de la severidad no se mostraron diferencias significativas en el grado de concordancia, con el OCCC entre los evaluadores expertos se encontró diferencias significativas en la concordancia con el uso de la escala descriptiva (0.8271) y la escala diagramática de intervalos logarítmicos (0.9178). En el caso de los evaluadores inexpertos se encontraron diferencias entre la escala descriptiva (0.7905) y la escala de intervalos iguales (0.8395) (Tabla 14). Estos resultados indican que a pesar de que con el uso de diagramas no se mejora la exactitud y precisión de los evaluadores expertos, este sistema de medición si les proporciona menos variación, lo cual es importante en la realización de evaluaciones de líneas o familias de frijol en estaciones experimentales en donde algunas veces se requiere de la participación de varias personas para realizar el proceso de evaluación.

Tabla 13

Promedios de los estadísticos de Lin para evaluadores expertos e inexpertos con el uso de la escala descriptiva y las dos escalas diagramáticas para la evaluación de la mancha Anillada en vainas

Evaluador	Estadísticos LCC	Promedio			IC 95% D-L	IC 95 % D-I	IC 95% L-I
		Descriptiva	Logarítmica	Iguales			
Expertos	Scale shift	1.1384	1.1879	1.1626	-0.1304 0.0308	-0.1112 0.0636	-0.0471 0.0982
	Location shift	-0.0352	0.0844	0.0242	-0.2252 -0.0127	-0.1691 0.0496	-0.0299 0.1518
	Bias correction factor	0.9642	0.9691	0.9711	-0.0195 0.0095	-0.0204 0.0067	-0.0156 0.0120
	Correlation coefficient	0.9347	0.9539	0.9417	-0.0556 0.0053	-0.0464 0.0286	-0.0069 0.0387
	Concordance coefficient	0.9024	0.9245	0.9144	-0.0633 0.0098	-0.0556 0.0270	-0.0141 0.0379
Inexpertos	Scale shift	1.1778	1.1397	1.0482	-0.0541 0.1328	0.0435 0.2210	0.0215 0.1644
	Location shift	0.0383	0.0852	0.0393	-0.1809 0.0793	-0.1389 0.1279	-0.0580 0.1514
	Bias correction factor	0.9481	0.9713	0.9771	-0.0488 0.0005	-0.0519 -0.0081	-0.0233 0.0103
	Correlation coefficient	0.9023	0.8992	0.9057	-0.0332 0.0370	-0.040 0.0333	-0.0384 0.0277
	Concordance coefficient	0.8579	0.8739	0.8852	-0.0643 0.0305	-0.0752 0.0194	-0.0477 0.0260

Nota: En negrita se muestran los casos en que hay diferencias significativas entre los promedios de los estadísticos.

Tabla 14

Medidas de reproducibilidad entre evaluadores con el uso de la escala descriptiva y las escalas diagramáticas para la evaluación de mancha anillada en vainas de frijol

Evaluador	Promedio			IC 95% D-L	IC 95 % D-I	IC 95% L-I
	Descriptiva	Logarítmica	Iguales			
Expertos	0.8271	0.9178	0.8800	-0.1421 -0.0444	-0.1208 0.0146	-0.0095 0.0903
Inexpertos	0.7905	0.8159	0.8395	-0.0529 0.0039	-0.0739 -0.0214	-0.0524 0.0031

Nota: En negrita se muestran los casos en que hay diferencias significativas entre los promedios de concordancia.

5. Conclusiones

- La distribución e intensidad de la mancha anillada en frijol se realizó en los departamentos de Antioquia, Tolima y Huila con un total de 72 puntos de muestreo, donde se comprobó la presencia de la enfermedad en 70 puntos, lo que representa un 97% de prevalencia de esta enfermedad.
- Si bien la enfermedad presentó una amplia distribución, solo en el departamento de Antioquia se presentaron niveles de severidad altos. En los departamentos de Tolima y Huila se encontraron proporciones muy similares de plantas sanas y enfermas siendo frecuente en la mayoría de sitios de muestreo las plantas sanas. Esto puede deberse a una acción conjunta de los diferentes factores involucrados en el desarrollo de la enfermedad como son el cultivar, factores ambientales, tiempo, diversidad patogénica, y manejo fitosanitario. Al no tener información al respecto, en este trabajo se destacan las diferencias de los niveles de severidad de la enfermedad entre departamentos, que pueden atribuirse a las condiciones de precipitación dadas en cada uno, puesto que en Antioquia el promedio histórico de precipitación y número de días con lluvia, son mayores en ambos semestres del año, así como también a las variedades cultivadas.
- Las escalas diagramáticas para evaluación de la mancha anillada en hojas, mejoraron de manera significativa la exactitud y concordancia entre evaluadores, por lo que son una herramienta útil para la evaluación de la severidad por parte de investigadores y estudiantes no familiarizados con la cuantificación de la enfermedad.
- Los evaluadores expertos no mejoraron significativamente la precisión y exactitud al usar las escalas diagramáticas pero sí la reproducibilidad, con lo que se lograría una mayor

uniformidad en las evaluaciones de germoplasma o líneas de frijol desarrolladas por diferentes personas.

- No se encontraron diferencias significativas en exactitud, precisión y reproducibilidad de las estimaciones realizadas por los evaluadores con el uso de las escalas diagramáticas de intervalos iguales y las escalas diagramáticas de intervalos logarítmicos lo que confirmaría que las escalas de intervalos H-B por si solas no mejoran la estimación respecto a las estimaciones directas o de intervalos iguales y lo que sí aporta una mejora en la evaluación es el uso de diagramas.

Referencias Bibliográficas

- Área, producción rendimiento y participación municipal en el departamento por cultivo. (2016). *Agronet MinAgricultura*. Recuperado de <http://bit.ly/2znzp5O>
- Arias, J. y Guzmán, M. (2001). *Evaluación y transferencia de tecnología para el manejo integrado del cultivo de frijol en el oriente antioqueño*. Rionegro: Centro de investigación “La Selva”. Recuperado de <http://bit.ly/2DaAMZ4>
- Aveskamp, M. M., de Gruyter, J., Woudenberg, J. H. C., Verkley, G. J. M., y Crous, P. W. (2010). Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 65, 1-60. Recuperado de <https://doi.org/10.3114/sim.2010.65.01>
- Blair, M.W., Garzón, L. N., Jara, C., Castellanos, G. Mosquera, G., Ligarreto, G., Oliveros, O., Rivera, C., y Villarraga, P. (2011). Resistance to and diversity of ascochyta blight in common beans. *Bean improvement cooperative* 54. 116-118
- Bock, C. H., Gottwald, T. R., Parker, P. E., Cook, A. Z., Ferrandino, F., Parnell, S., y van den Bosch, F. (2009). The Horsfall-Barratt scale and severity estimates of citrus canker. *European Journal of Plant Pathology*, 125(1), 23-38. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9455-x>
- Bock, C. H., Poole, G. H., Parker, P. E., y Gottwald, T. R. (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. Recuperado de <http://bit.ly/2BE7Yuk>
- Boerema, G. H., de Gruyter, J., Noordeloos, M. E., y Hamers, M. E. C. (2004). *Phoma identification manual: differentiation of specific and infra-specific taxa in culture*. Wallingford, Oxfordshire, UK ; Cambridge, MA, USA: CABI Pub. Recuperado de <http://bit.ly/2C3QjvB>
- Boletín climatológico mensual. (2017). IDEAM. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Recuperado de <http://bit.ly/2zoHjvE>
- Braido, R., Gonçalves-Zuliani, A.M.O., Nocchi P.T.R., Belasque J., Janeiro V., Bock, C.H. y Nunes, W.M.C. (2015). A standard area diagram set to aid estimation of the severity of Asiatic citrus canker on ripe sweet orange fruit. *Eur J Plant Pathol*. 327–337. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0544-0>
- Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., y Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. *Plant and soil*, 252(1), 55–128. Recuperado de <http://bit.ly/2BqYe2C>

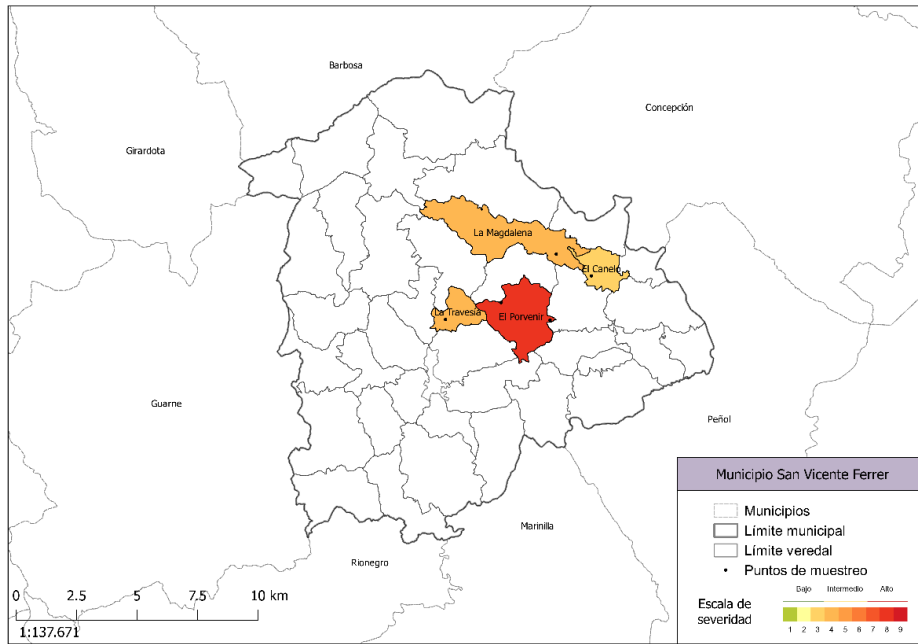
- Campbell C.L., y Madden L.V. (1990). Introduction to plant disease epidemiology. WileyInterscience. New York. 532 p.
- Campbell, C., y Neher, D. (1994). Estimating disease severity and incidence. En C. Campbell y D. Benson (ed.) *Epidemiology and Management of Root Diseases* (pp. 117-142). USA: North Carolina State University. Recuperado de <http://bit.ly/2C08qCw>
- Capucho, A. S., Zambolim, L., Duarte, H. S. S y Vaz, G. R. O. (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. Recuperado de <http://bit.ly/2EYjxLb>
- Castellanos, G., Jara, C., y Mosquera, G. (2011) *Guías prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos del frijol*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Recuperado de <http://hdl.handle.net/10568/54435>
- Castaño, J. (2002). *Principios básicos de fitoepidemiología* (1 edi). Universidad de Caldas. Recuperado de <http://bit.ly/2zm9db5>
- Castillo, S., Rivera, J., y Hoyos, L. (2010). Escala diagramática para evaluar la severidad de la bacteriosis de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims). *Fitopatología colombiana* 34(2) 41-45. Recuperado de <https://ascolfi.org/archivos/revista34-2.pdf>
- CIAT. (1982). *Enfermedades del frijol causadas por hongos y su control; guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad auditorial sobre el mismo tema*. Cali, Colombia. CIAT. Recuperado de <http://bit.ly/2zlSCVu>
- CIAT. (1987). *Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol*. A. Schoonhven y M. Pastor-Corrales. Cali, Colombia.
- Correia, K.C., de Queiroz, J.V.J., Martins, R.B., Nicoli, A., Del Ponte, E., y Michereff, S. (2017). Development and evaluation of a standard área diagram set for the severity of phomopsis leaf blight on eggplant. *Eur J Plant Pathol* 149: 269. Recuperado de <http://bit.ly/2DFPeI9>
- Costa Lage, D. A., Marouelli, W. A., da S. S. Duarte, H., y Café-Filho, A. C. (2015). Standard area diagrams for assessment of powdery mildew severity on tomato leaves and leaflets. *Crop Protection*, 67.26-34. doi:10.1016/j.cropro.2014.09.014
- Del Ponte, E. M., Pethybridge, S. J., Bock, C.H., Michereff, S. J., Machado, F. J., y Spolti, P. (2017). Standard area diagrams for aiding severity estimation: scientometrics, pathosystems, and methodological trends in the last 25 years. *Phytopathology* 107(10).1161-1174. Recuperado de <http://bit.ly/2labYZe>
- Fenalce. (2017). *Aspectos económicos del frijol y costos de producción en Colombia*. Recuperado de <http://bit.ly/2DC0pSh>

- Garzón, L. N., Blair, M., Jara, C., Castellanos, G., Hoyos, A., Mosquera, G., Ligarreto, G., Oliveros, O., Villarraga, P. (2011). Disease response of andean breeding lines tested for ascochyta blight resistance. Annual report, 54, 249. Recuperado de http://bic.css.msu.edu/_pdf/Reports/BIC_2011_volume_54.pdf
- Gerlagh, M. (1993). Section 4: Ascochyta blight (*Phoma exigua* var. *diversispora*) Classification, distribution, prevalence, economic importance, survival, spread, prevention and cure. En JB Smithson, P. Trutmann (eds). African bean pathology workshop (1, 1987, Kigali, Rwanda). Proceedings (pp. 22-29). Recuperado de <http://hdl.handle.net/10568/56395>
- Geoportal DANE. (2017). Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Recuperado de <https://geoportal.dane.gov.co/veredas/>
- Godoy, C. V., Carneiro, S. M., Iamauti, M., Pria, M., Amorim, L., Berger, R., Bergamin Filho, A. (1997). Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 104 (4), 336-345. Recuperado de <http://bit.ly/2mTOGIO>
- Godoy, C. V., Koga, L. J., y Canteri, M. G. (2006). Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatologia Brasileira*, 31(1), 63–68. Recuperado de <http://bit.ly/2rnzp70>
- González-Domínguez, E., Brainer Martins, R., Del Ponte, E.M., Michereff, S.J., García-Jiménez J., Armengol, J. (2014). Development and validation of a standard area diagram set to aid assessment of severity of loquat scab on fruit. *Eur J Plant Pathol* 139, 413–422. Recuperado de <http://bit.ly/2zmHmIi>
- Jara, C., y Giraldo, D. (2016). *Manejo agronómico de frijol. Cartilla 1*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Recuperado de <http://bit.ly/2Djviun>
- Libreton, S.S., Souza, E.A., Pereira, R., Pozza, E. A., Abreu, A.F.B. (2015). Diagrammatic scale to evaluate angular leaf spot severity in primary leaves of common bean. *Australasian Plant Pathol*, 44, 385–395. Recuperado de <http://bit.ly/2l6tXPI>
- Navarro, A., y Puerta, O. (1982). Tres problemas limitantes en la producción del frijol voluble en el oriente antioqueño. Medellín, Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario. Recuperado de <http://bit.ly/2DdvjAR>
- Nita, M., Ellis, A. y Madden, V. (2003). Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology*. 93(8): 995-1005. Recuperado de <http://bit.ly/2DNIRUL>
- Pastor-Corrales, M., y Schwartz, H. (1994). *Problemas de producción del fíjol en los trópicos* (2 ed). Cali, Colombia. Recuperado de <http://bit.ly/2BZo0hF>
- QGIS Development Team. (2017). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <https://qgis.org>

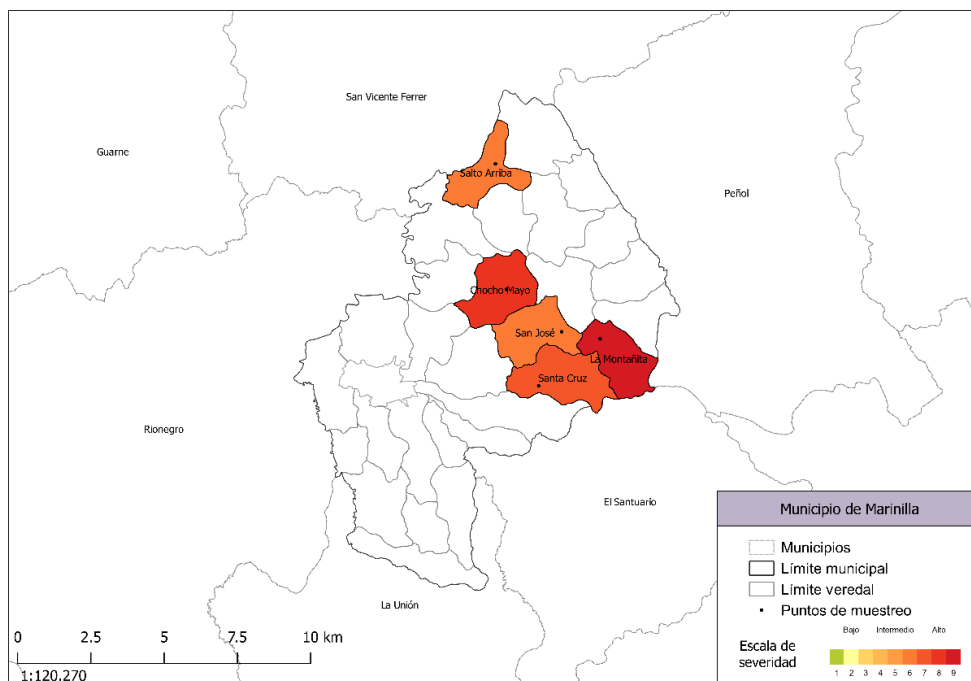
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Seem, R. C. (1984). Disease incidence and severity relationships. 22. 133-150. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.22.090184.001025>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S. y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* 9(7): 671-675, PMID 22930834. Recuperado de <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>
- Schmit, V., y Baudoin, J. P. (1992). Screening for resistance to *Ascochyta* blight in populations of *Phaseolus coccineus* L. and *P. polyanthus* Greenman. *Field Crops Research*, 30(1), 155-165. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(92\)90064-G](https://doi.org/10.1016/0378-4290(92)90064-G)
- Schwartz, H.F, Correa, V. F., Pineda, D. P. A., Otoya, M. M. y Katherman, M.J. (1981). Dry bean yield losses caused by *ascochyta*, angular and White leaf spots in Colombia. *Plant Disease* 65. 494-496. Recuperado de <http://bit.ly/2lhQzN0>
- Schwartz, H., y Harveson, R. (2015). *Diseases of Bean*. Recuperado 21 de abril de 2017. Recuperado de <http://bit.ly/2BqgJEo>
- Stonehouse, J. (1994). Assessment of Andean bean diseases using visual keys. *Plant pathology*, 43(3), 519–527. Recuperado de <http://bit.ly/2zEhmbm>
- Sun, H., Wei, J., Zhang, J., y Yang, W. (2014). A comparison of disease severity measurements using image analysis and visual estimates using a category scale for genetic analysis of resistance to bacterial spot in tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 139(1), 125-136. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0371-8>
- Tovar Soto, A., Hernández Martínez, M., Alejo, J. C., Romero, 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*, 20(1), 103–109. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/612/61220117.pdf>
- Vieira, R. A., Mesquini, R. M., Silva C. N., Hata, F. T., Tessmann, D. J., y Scapim, C. A. (2014) A new diagrammatic scale for the assessment of northern corn leaf blight. *Crop Protection*, 56, 55-57. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.018>.
- Yadav, N. V. S., de Vos S. M., Bock, C. H y. Wood, B. W. (2012). Development and validation of standard area diagrams to aid assessment of pecan scab symptoms on fruit. *Plant Pathology* 62(2), 325-335. Recuperado de <http://bit.ly/2C3QAYB>

Apéndices

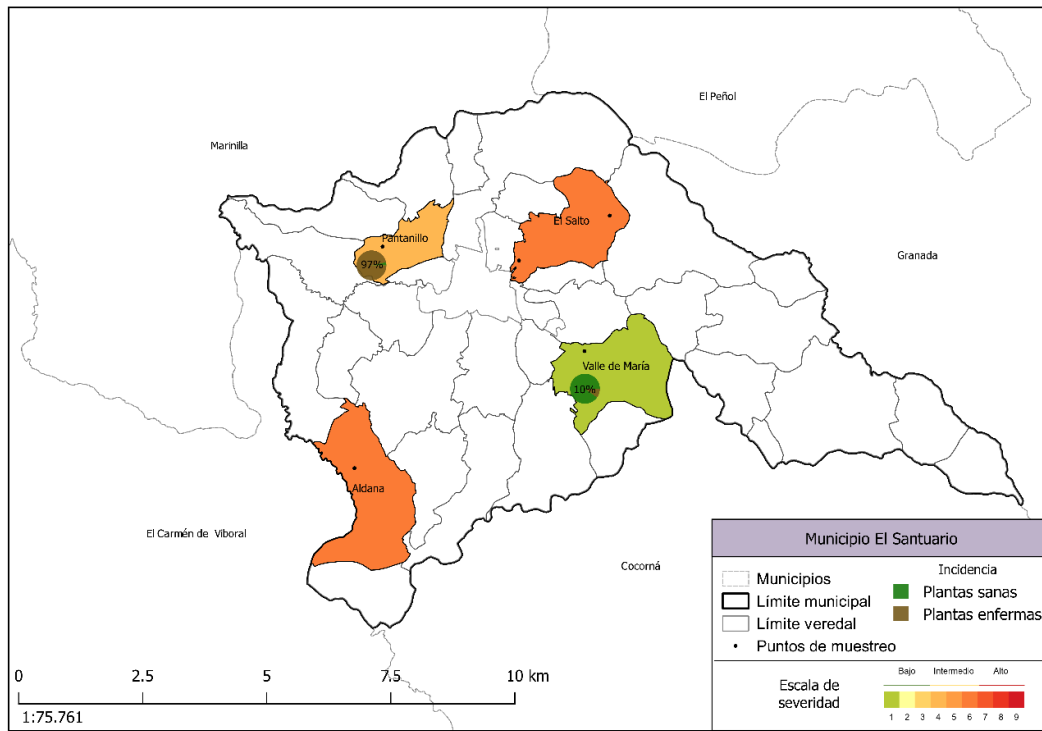
Apéndice A. Mapa del municipio de San Vicente Ferrer del departamento de Antioquia.



Apéndice B. Mapa del municipio de Marinilla, del departamento de Antioquia.

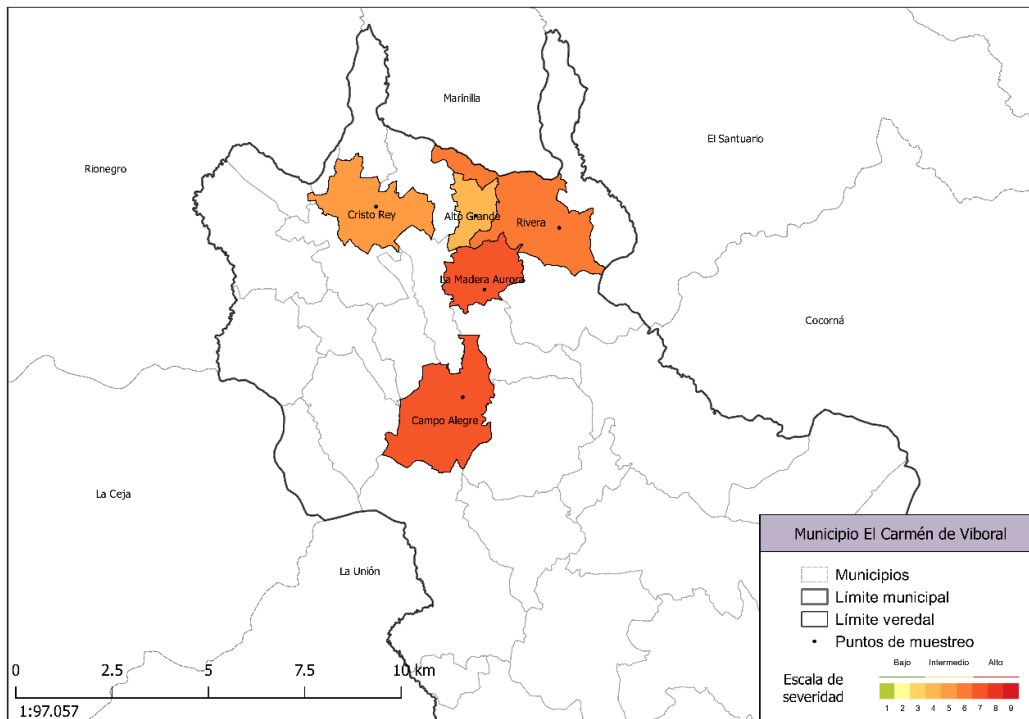


Apéndice C. Mapa del municipio de El Santuario, del departamento de Antioquia.

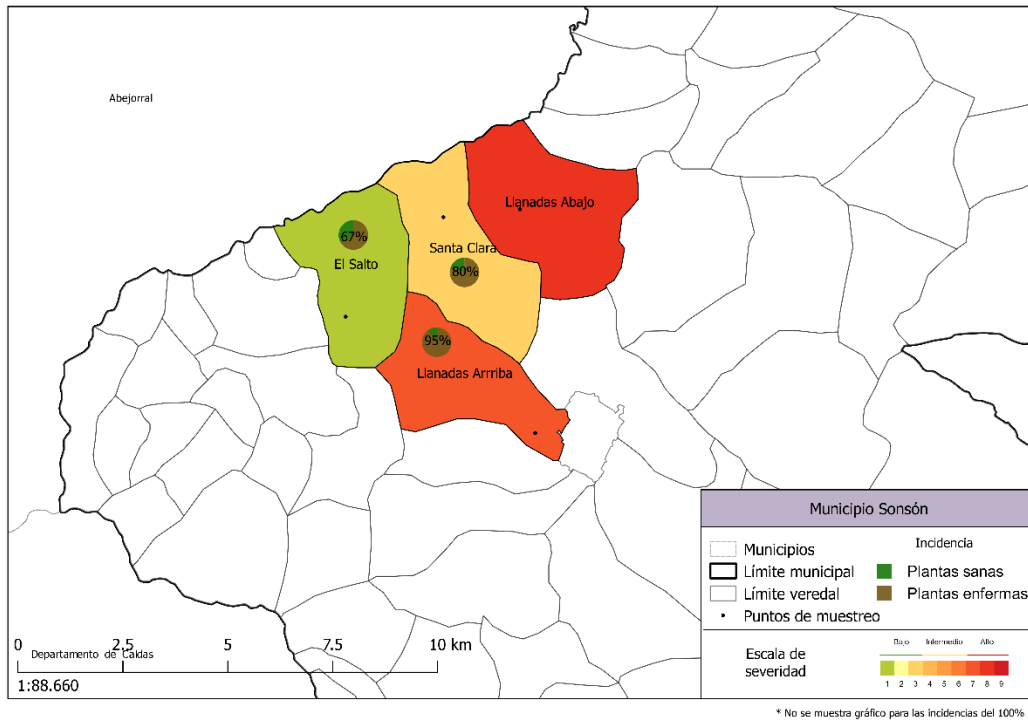


* No se muestra porcentaje para incidencias del 100%

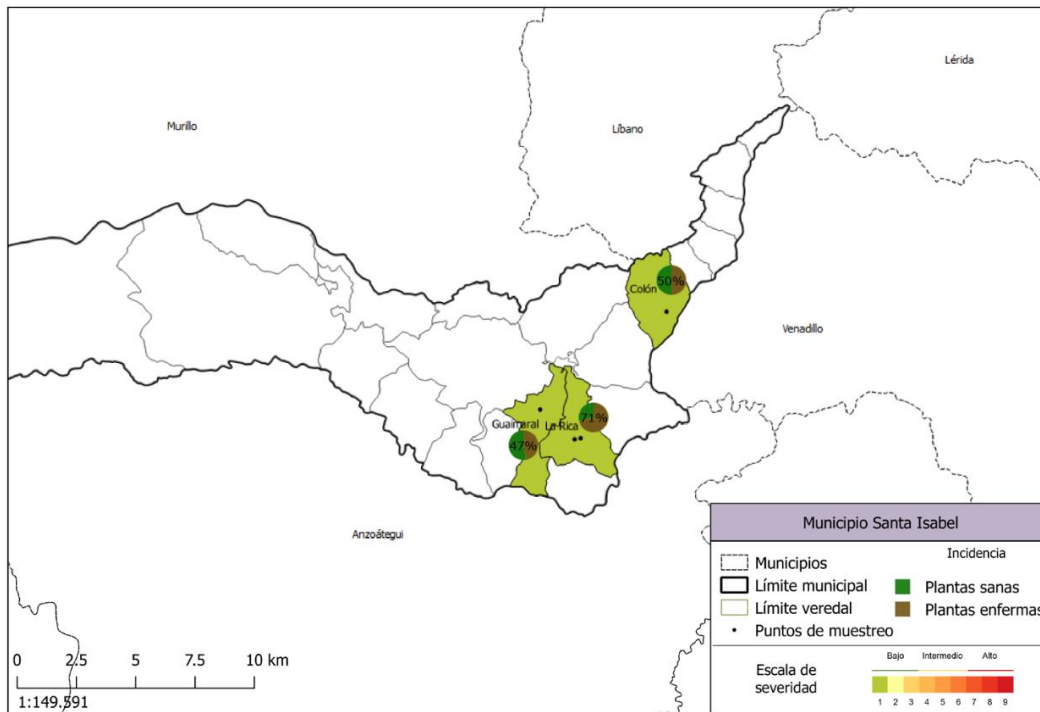
Apéndice D. Mapa del municipio El Carmen de Viboral del departamento de Antioquia.



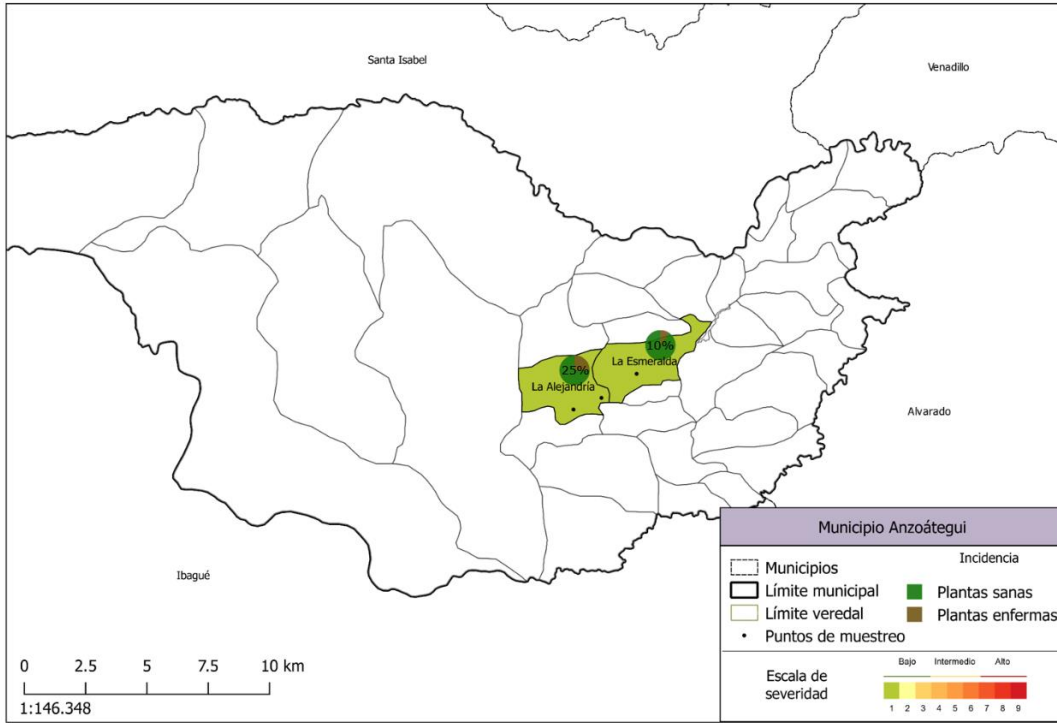
Apéndice E. Mapa del municipio de Sonsón del departamento de Antioquia.



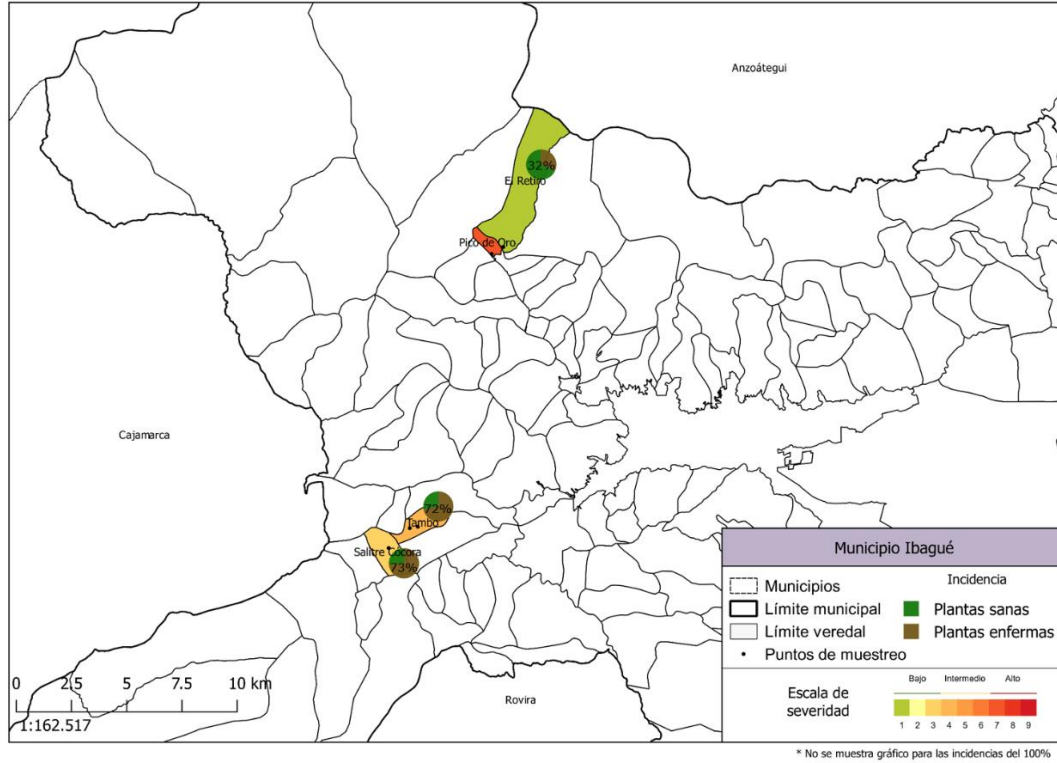
Apéndice F. Mapa del municipio de Santa Isabel del departamento del Tolima.



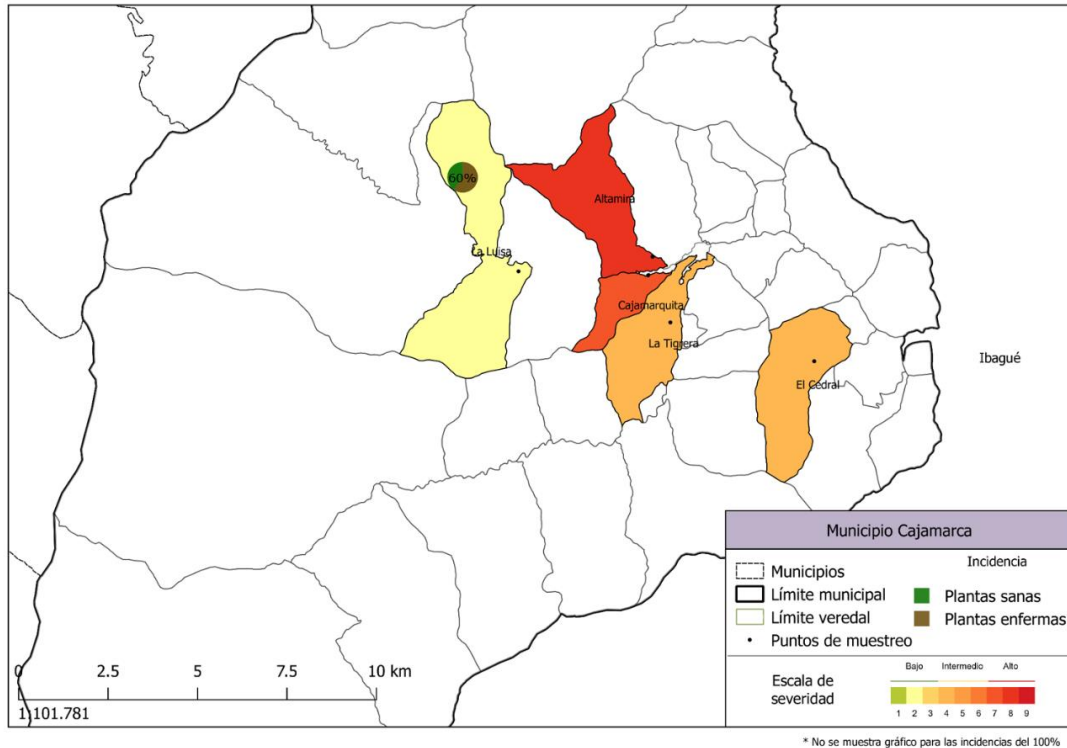
Apéndice G. Mapa del municipio de Anzoátegui del departamento del Tolima.



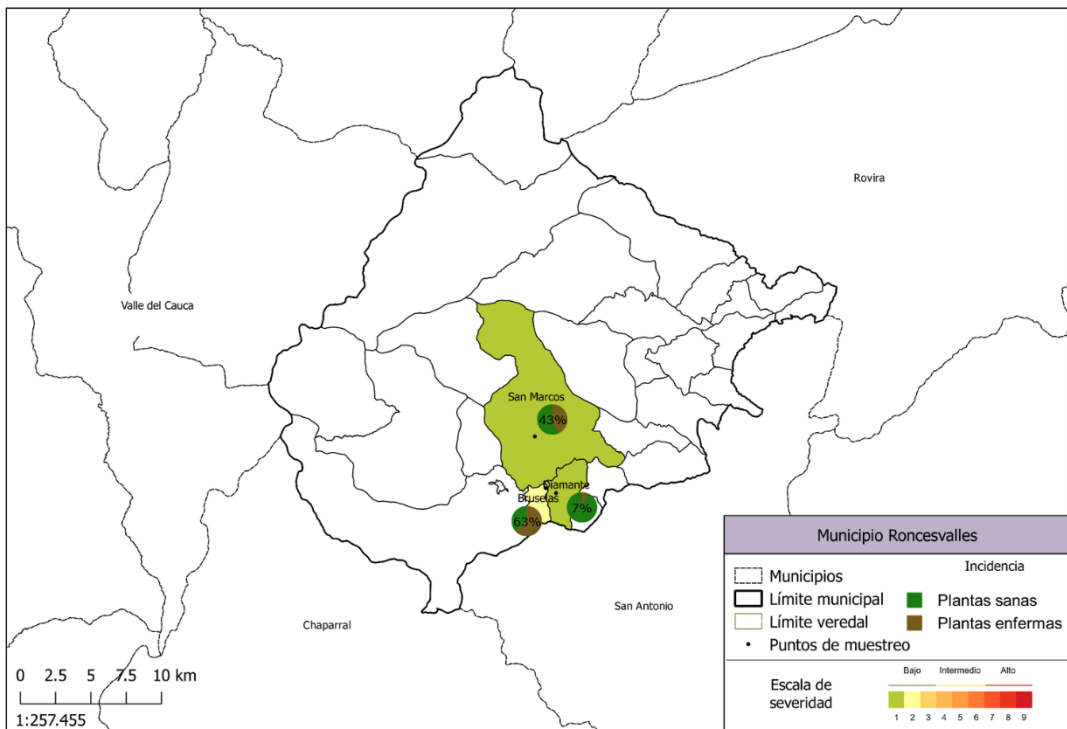
Apéndice H. Mapa del municipio de Ibagué del departamento del Tolima.



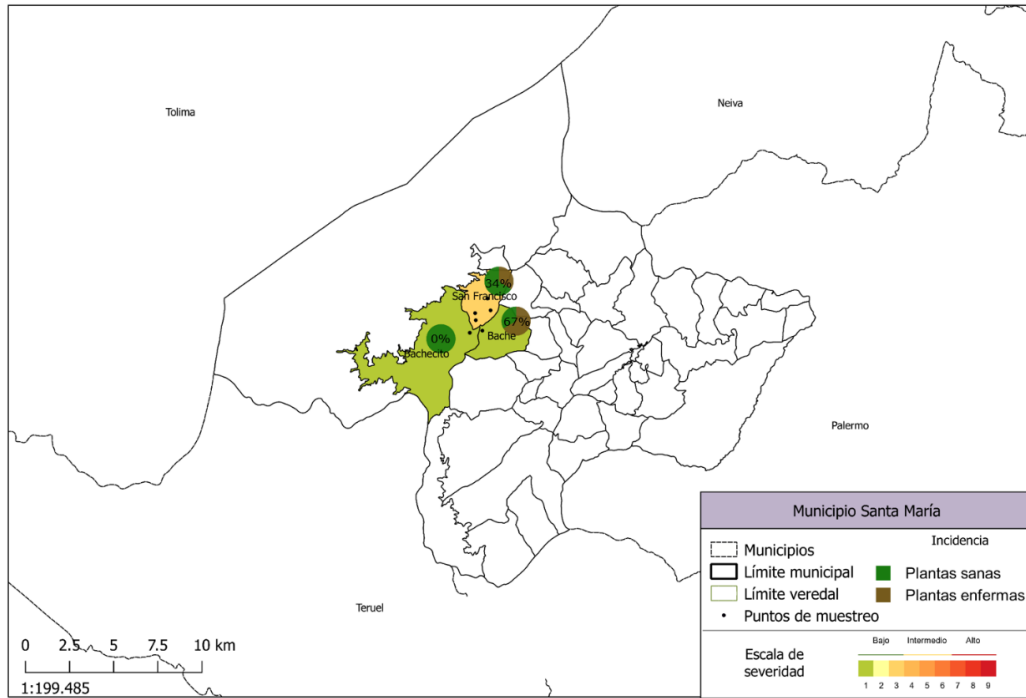
Apéndice I. Mapa del municipio de Cajamarca del departamento del Tolima.



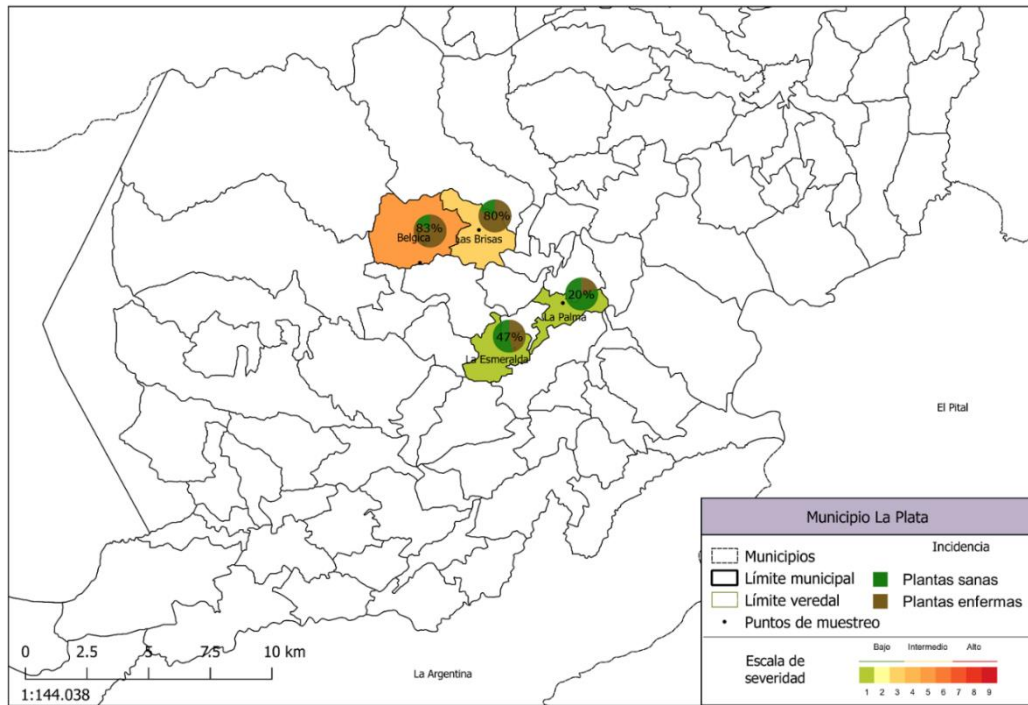
Apéndice J. Mapa del municipio de Ronesvalles del departamento del Tolima.



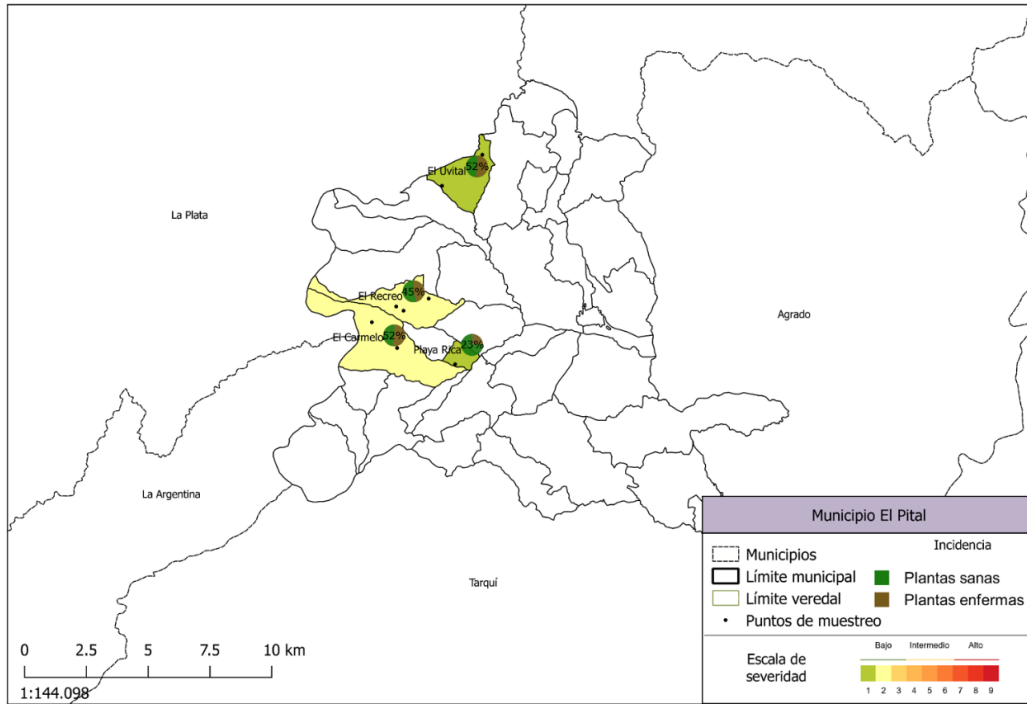
Apéndice K. Mapa del municipio de Santa María del departamento del Huila.



Apéndice L. Mapa del municipio de La Plata del departamento del Huila.



Apéndice M. Mapa del municipio El Pital del departamento del Huila.



Apéndice N. Mapa del municipio de San Agustín del departamento del Huila.

