

Estimación de curvas de progreso de la incidencia de podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) en cultivos de ajo mediante un modelo no lineal mixto

Conles, M. Y.; C. I. Cragolini, V. E. Yossen, M. Balzarini y R. E. Macchiavelli

RESUMEN

En este trabajo se modela la curva de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo, mediante modelos no lineales mixtos que contemplan el efecto de factores concomitantes en el desarrollo de las epidemias. Entre 2001 y 2003 en Cruz del Eje y Jesús María, Argentina, se evaluaron la densidad inicial de esclerocios (DIE) y la incidencia de la enfermedad quincenalmente hasta cosecha. Con DIE alta (>15 esclerocios/100 g de suelo) la incidencia final fue alta (64-100%) y con DIE baja (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo) varió entre 0-100%. El modelo logístico mixto seleccionado tuvo "interceptos" y pendientes aleatorias y diferentes para cada combinación de "ambiente" (localidad y año) y categoría de DIE (altas y bajas). La representación de las curvas epidémicas se hizo mediante tres curvas específicas de sitio, la típica con efecto aleatorio cero, que expresa la forma general del modelo y las percentiles $Q_{1(0,25)}$ y $Q_{3(0,75)}$ que expresan la variabilidad. El 50% de las curvas tuvo pendientes entre $\pm 0,67$. La variabilidad de los "interceptos" y pendientes dependió solamente de la DIE, y fue menor en los "interceptos" con DIE "altas" que en aquellos con DIE "bajas"; en las pendientes se observó el efecto opuesto.

Palabras clave: podredumbre blanca del ajo y la cebolla, curvas de progreso de la podredumbre blanca, densidad de esclerocios, modelos no lineales mixtos, *Sclerotium cepivorum*, *Allium sativum*.

Conles, M. Y.; C. I. Cragolini, V. E. Yossen, M. Balzarini and R. E. Macchiavelli, 2011. Estimation of incidence progress curves of white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) in garlic crops using a nonlinear mixed model. Agriscientia XXVIII: 61-74

SUMMARY

This paper models the progress curve of white rot in garlic crops using nonlinear mixed models taking into account the effect of concomitant factors in the development of epidemics. Between 2001 and 2003 in Cruz del Eje and Jesus María, Argentina, the initial density of sclerotia (DIE) and the incidence of the disease were evaluated every two weeks until harvest. With DIE high (>15

sclerotia/100 g of soil) the final incidence was high (64-100%), while with DIE low (≤ 15 g soil sclerotia/100) the final incidence ranged from 0-100%. The mixed logistic model that was selected had random "intercepts" and rates which were different for each combination of "environment" (location and year) and DIE category (high and low). The representation of the epidemic curves was made through three site-specific curves, the typical, with zero random effect, which expresses the general form of the model, and the percentiles $Q_1_{(0.25)}$ and $Q_3_{(0.75)}$, expressing the variability. Fifty percent of the curves had rates of disease progress between $r \pm 0.67$. The variability of the "intercepts" and slopes depended only on the DIE, and was lower in the "intercept" of curves with DIE "high" than those with DIE "low". The opposite effect was observed on the slopes.

Key words: White rot of *Allium*, white rot progress curves, density of sclerotia, nonlinear mixed models, *Sclerotium cepivorum*, *Allium sativum*.

M. Y. Conles, C. I. Cragolini y V. E. Yossen (Departamento de Protección Vegetal) y M. Balzarini (Estadística y Biometría), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, C.C. 509, 5000 Córdoba, Argentina. R. Macchiavelli, Department of Crops and Agroenvironmental Sciences, College of Agricultural Sciences, University of Puerto Rico at Mayagüez, P. O. Box 9030, Mayagüez, Puerto Rico 00681-9030. Correspondencia a: mconles@agro.unc.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La podredumbre blanca causada *Sclerotium cepivorum* Berk. es de amplia distribución mundial y ocasiona pérdidas hasta del 100% de la producción en cultivos de ajo, por podredumbre húmeda de las raíces y el bulbo, marchitamiento de la parte aérea y muerte de las plantas (Crowe, 1996). El patógeno se propaga mediante esclerocios que constituyen el inóculo primario de la enfermedad, los que germinan exclusivamente en respuesta a exudados de raíces de plantas del género *Allium* y en ausencia de cultivos hospedantes pueden permanecer viables en el suelo, en estado de dormancia, hasta 20 años (Coley-Smith *et al.*, 1987; McLean *et al.*, 2005). La infección ocurre en cualquier etapa de desarrollo de las plantas, a medida que las raíces se ponen en contacto con los esclerocios o con el micelio proveniente de raíces de plantas vecinas enfermas (Crowe y Hall, 1980; Entwistle, 1990; McLean & Stewart, 2000). Las plantas infectadas tardíamente frecuentemente permanecen asintomáticas, pero la enfermedad continúa en los bulbos almacenados (Crowe, 1996). La podredumbre blanca se desarrolla en climas templado – fríos; con temperaturas del suelo entre 9-24 °C, germinan prácticamente todos los esclerocios que están ubicados en los niveles de

humedad óptimos para el crecimiento de las raíces (Crowe, 1996). Los suelos de las regiones productoras de Aliáceas se van contaminando gradualmente a través de los años, por la dispersión de los esclerocios con el movimiento del suelo, agua y material de propagación vegetativa infestados (Crowe, 1996). En América de Sur constituye un factor limitante para la producción de ajo, debido a que existen grandes superficies de suelo infestadas con esclerocios, a que la mayor parte del cultivo se produce durante los meses de temperaturas conductivas para la enfermedad, y a que faltan estrategias adecuadas para su control. El desarrollo y la implementación de estrategias efectivas de manejo, como en otras enfermedades, deben fundamentarse en el conocimiento y cuantificación de los factores que contribuyen al desarrollo de las epidemias; sin embargo, estos factores no han sido analizados para la podredumbre blanca en América del Sur.

La selección de un modelo matemático apropiado para describir la curva de progreso de la enfermedad permite comprender, cuantificar y comparar el fenómeno biológico que significa la epidemia en el cultivo (Campbell & Madden, 1990). Los métodos clásicos de modelación estadística de curvas epidémicas han utilizado modelos en cuya porción sistemática se utilizan funciones lineales

en sus parámetros, como la exponencial, monomolecular, Gompertz y principalmente la logística, porque permiten derivar interpretaciones con significado biológico; estos modelos se ajustan por el método de regresión por mínimos cuadrados (Campbell, 1986; Campbell & Madden, 1990). El enfoque clásico para la estimación de los parámetros del modelo para la curva de progreso de una enfermedad, asume que la proporción de plantas enfermas con respecto al tiempo (incidencia) tiene distribución normal, que las observaciones son independientes entre sí y tienen varianzas homogéneas. Sin embargo, estos supuestos muchas veces no se cumplen, la incidencia tiene distribución binomial o beta-binomial, las observaciones se toman repetidamente sobre las mismas unidades, lo que genera falta de independencia en los datos y las varianzas cambian a medida que lo hace la incidencia (Campbell & Madden, 1990; Davidian & Giltinan, 2003). Diversos autores han descrito, modelado y comparado las curvas de progreso de la podredumbre blanca utilizando esta metodología (Pinto *et al.*, 1998; Zewide *et al.*, 2007; Ponce-Herrera *et al.*, 2008).

Por otra parte, los métodos clásicos de modelación estadística de curvas de progreso de enfermedades ignoran los aspectos espaciales y temporales de las epidemias y consecuentemente sesgan la inferencia sobre el avance de las enfermedades. Sin embargo, estudios empíricos y teóricos confirman que la densidad de inóculo influye fuertemente en las características de las epidemias de las enfermedades de raíces con reservorio de inóculo en el suelo, y ha sido incorporada en las expresiones matemáticas de ciertos modelos de curvas de progreso de enfermedades, pero los análisis resultantes son muy complejos (Campbell, 1986; Campbell & Madden, 1990). La dependencia de la incidencia de la podredumbre blanca con respecto a la densidad inicial de esclerocios ha sido documentada con resultados muy variables (Crowe *et al.*, 1980; Adams, 1981; Coley-Smith, 1990; Delgadillo *et al.*, 2002; Ponce-Herrera *et al.*, 2008). En cultivos de ajo no existe una relación matemática simple entre la densidad de esclerocios y la incidencia de la enfermedad, debido al contagio entre plantas y a la aparición de nuevos sitios de infección a lo largo del ciclo del cultivo. Así, bajas poblaciones de esclerocios en el suelo pueden conducir a altas incidencias de podredumbre blanca, por ejemplo, densidades de 0,1-10 esclerocios/100 g de suelo resultaron en 10-100% de incidencia final (Crowe, *et al.*, 1980; Crowe & Hall, 1980).

Para solucionar estos problemas se pueden

usar modelos mixtos, los que a pesar de haber mostrado su efectividad en investigaciones de epidemiología médica y forestal no son comunes en epidemiología de cultivos (Davidian & Giltinan, 2003). Los modelos generalizados mixtos incrementan la precisión de las estimaciones, amplían el espacio de inferencia y mejoran la modelación de la estructura real que subyace en conjuntos de datos no necesariamente normales. Al respecto, Torres y Macchiavelli (2007) propusieron una metodología de análisis estadístico para interpretar curvas sujeto-específicas en un modelo logístico con "interceptos" y pendientes aleatorias que podría optimizar el ajuste de la alta variación espacial y temporal de algunas patologías vegetales, aun dentro de un lote en cultivo, por medio de estimaciones sitio-específicas. (Los modelos generalizados mixtos incrementan la precisión de las estimaciones, amplían el espacio de inferencia y mejoran la modelación de la estructura real que subyace en conjuntos de datos no necesariamente normales.)

El objetivo de este trabajo fue modelar la curva de progreso de la podredumbre blanca en lotes de cultivos de ajo, mediante estrategias de modelación contemporáneas que incluyen modelos no lineales mixtos, para contemplar el efecto de distintos factores concomitantes en el desarrollo de la epidemia dentro del lote, y producir estimaciones de parámetros sin necesidad de realizar suposiciones muy restrictivas sobre la naturaleza estocástica de los datos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en dos zonas típicamente productoras de ajo de la región central de la Argentina: Cruz del Eje (CE) (30° 44' S, 64° 49' O) y Jesús María (JM) (30° 59' S, 64° 06' O). Series históricas de datos climáticos muestran que las temperaturas son conductivas para el desarrollo de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo desde mayo hasta septiembre, en ambas localidades, y que la temperatura media del aire en CE es en promedio dos grados centígrados superior a la de JM. En CE se trabajó en una superficie de 2400 m², durante los años 2001, 2002 y 2003, en un lote naturalmente infestado, proveniente de cultivos previos de ajo que presentaban sectores de plantas enfermas distribuidos heterogéneamente hasta el centro del lote. En JM se trabajó en una superficie de 1800 m² en 2001 y 850 m² en 2002, en un lote que nunca había sido cultivado con Aliáceas y que se infestó con esclerocios de *S. cepivorum*. Para la inoculación artificial, el aislamiento del patógeno fue obtenido a partir de un esclerocio que se formó sobre una planta de

ajo proveniente de un suelo contaminado de JM y fue cultivado en un medio de arena más harina de maíz en proporción 20:1 p/p (Punja & Rahe, 1993). Los esclerocios que se formaron se colocaron dentro de bolsitas de tela de malla de poliéster y se enterraron durante 4 meses para romper la dormancia constitutiva (Coley-Smith *et al.*, 1987; McLean *et al.*, 2005). La viabilidad de los esclerocios fue 91%, y fue evaluada previamente en una muestra de 100 esclerocios en un medio de agar-agua 2% (Crowe *et al.*, 1980; Punja & Rahe, 1993). Un mes antes de la plantación los esclerocios fueron incorporados al suelo, esparciéndolos homogéneamente al voleo y pasando luego una rastra de discos dos veces en sentidos cruzados. Los lotes se implantaron con bulbillos de ajo del cultivar Rosado Paraguayo de calidad comercial y los cultivos se condujeron con las técnicas de manejo habituales. El marco de plantación fue 0,70 m entre surcos por 0,11 m entre bulbillos. La plantación se realizó el 9/3/2001, 1/3/2002 y 27/3/2003 en CE y el 10/4/2001 y 25/4/2002 en JM y los ensayos se finalizaron el 29/8/2001, 4/9/2002 y 27/8/2003 en CE y el 10/10/2001 y 20/9/2002 en JM. En ese momento, se cosecharon todas las plantas que aún se encontraban vivas en cada sitio de muestreo.

Determinación de la densidad de esclerocios

Un día antes de la plantación del ajo, en cada año, se tomaron 60 y 50 muestras de suelo en CE y en JM, respectivamente. Las muestras se tomaron sistemáticamente en el terreno cada 40 m², y cada sitio de muestreo fue identificado con una estacilla metálica. Se tomaron muestras de un kilogramo de suelo de los primeros 10 cm de profundidad y a una distancia recta de 2,5 m hacia cada lado del punto identificado con la estacilla. Se dejaron secar al aire hasta peso constante, se procesaron por tamizado húmedo para separar los esclerocios y la viabilidad de los esclerocios recuperados se evaluó en un medio de agar-agua 2%, según la metodología descrita por Crowe *et al.* (1980). La densidad inicial de esclerocios (DIE) fue evaluada como el número de esclerocios viables/ 100 g de suelo para cada sitio de muestreo.

Determinación de la incidencia de podredumbre blanca

Se evaluó el número de plantas enfermas por sitio, cada 15 días y durante todo el ciclo de cultivo. Para cada determinación se observaron 50 plantas (unidad muestral), localizadas en los mismos sitios de muestreo en los cuales previamente se había tomado la muestra de suelo para la determinación de la DIE. La incidencia (y) se calculó como el

porcentaje de plantas enfermas en cada fecha de evaluación con respecto al stand inicial de plantas. Las plantas se consideraron enfermas ante la presencia de síntomas y signos de *S. cepivorum* (Crowe, 1996; McLean & Stewart, 2000). En cada fecha de evaluación de la incidencia se registró el número de hojas que tenían las plantas, y en cada año el inicio de la bulbificación, como la fecha en la cual la relación entre el diámetro del pseudotallo y del bulbo (índice de bulbificación) fue igual a 0,5 (Mann, 1952).

Análisis estadístico

Para estudiar el progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, la incidencia (y) se graficó en función del tiempo de observación, en cada sitio de muestreo y año de estudio. Cada año se registró el día de inicio de la epidemia (t_0) en el lote y las fechas en las cuales la enfermedad apareció por primera vez en cada sitio de muestreo. La duración de cada epidemia ($t_i - t_0$) se calculó como la diferencia entre el día de finalización de los ensayos (t_i) y el día en que se observó la enfermedad por primera vez en el lote (t_0). La incidencia inicial (y_0) se calculó cuando la enfermedad apareció por primera vez en el lote (t_0), y la incidencia final (y_f) cuando los ensayos se dieron por finalizados (t_i). Para analizar la relación entre la DIE en el suelo y la incidencia final de la enfermedad, ésta fue graficada en función de la DIE para cada sitio. La descripción de las curvas de progreso de la enfermedad se realizó mediante análisis gráficos, teniendo en cuenta el momento de inicio de las curvas, el comportamiento de la incidencia en las sucesivas fechas de evaluación, la forma de las curvas y la relación de las curvas con la DIE vía modelización estadística.

Se ajustaron modelos no lineales mixtos. Bajo esta clase de modelos se consideró la curva de progreso de enfermedad observada en cada sitio de muestreo como aleatoria, con parámetros específicos de cada sitio cuyos valores medios se supusieron dependientes de la localidad, el año y la DIE. Este enfoque permite utilizar la información proveniente de los distintos ambientes (localidades, años, densidades iniciales de esclerocios) teniendo en cuenta al mismo tiempo la variabilidad natural esperada entre los sitios de muestreo. El modelo seleccionado tiene una componente sistemática basada en la ecuación del modelo logístico más componentes aleatorias para modelar correlaciones y heterogeneidades entre sitios de observación. La combinación de localidad y año de estudio se denominó "ambiente" y la ecuación del modelo propuesto fue:

$$E(Y_{ijkm} | u_{ijk}, v_{ijk}) = \frac{1}{1 + \exp\left(-\left(B_{ij} + u_{ijk}\right) - \left(r_{ij} + v_{ijk}\right)t_m\right)} \quad (1)$$

donde $E(Y_{ijkm} | u_{ijk}, v_{ijk})$, es la esperanza de la variable Y_{ijkm} (incidencia), dados los efectos aleatorios de sitio u_{ijk} y de pendiente v_{ijk} incorporados al modelo.

Y_{ijkm} = incidencia de enfermedad en el "ambiente" i , categoría de inóculo inicial j ($j = 1$ si $x_{ijk} \leq 15$ y $j = 2$ si $x_{ijk} > 15$), sitio k , tiempo t_m .

x_{ijk} = densidad inicial de esclerocios en el "ambiente" i , sitio k .

B = constante de integración que se llamará "intercepto".

r = tasa de progreso de la enfermedad.

t = tiempo.

Se supuso una distribución binomial para la cantidad de plantas enfermas ($50Y$) en cada "ambiente", sitio de muestreo y día de observación de manera tal que, condicionalmente a los efectos del sitio, $50Y|u, v \sim \text{Binomial}(50, E(Y|u, v))$. Para decidir la especificación de la distribución de probabilidad de los efectos aleatorios en el modelo se tuvo en cuenta la relación entre la DIE y la incidencia final (y_f) de la enfermedad (Figura 1), donde se observó que con DIE "alta" (>15 esclerocios/100 g de suelo) la incidencia final varió entre 64-100% y con DIE "baja" (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo) la incidencia final varió entre 0-100%. Además, se observó que cada sitio de muestreo tuvo una curva específica que mostró su propio progreso y que la variabilidad observada en las curvas epidémicas fue mayor cuando las curvas pertenecían a sitios de muestreo con DIE "baja", que cuando pertenecían a sitios con DIE "alta" (Figura 2). En consecuencia, se decidió la separación de los ajustes en dos categorías, uno para la categoría DIE "baja" y otro para la categoría DIE "alta". Los valores de los efectos aleatorios de sitio (u_{ijk}) y de pendiente (v_{ijk}) se supusieron normalmente distribuidos, con medias igual a cero y varianzas que podrían depender del "ambiente" y de si la DIE en un sitio de muestreo era "alta" o "baja", de manera tal que:

$$\begin{bmatrix} u_{ijk} \\ v_{ijk} \end{bmatrix} \sim N\left(\begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \sigma_{u,ij}^2 & \sigma_{uv,ij} \\ \sigma_{uv,ij} & \sigma_{v,ij}^2 \end{bmatrix}\right)$$

Como las observaciones del mismo sitio comparten el mismo valor de los efectos aleatorios, se induce una correlación positiva entre estas observaciones (Molenberghs & Verbeke, 2005). Así, en vez de modelar la curva de cada sitio con paráme-

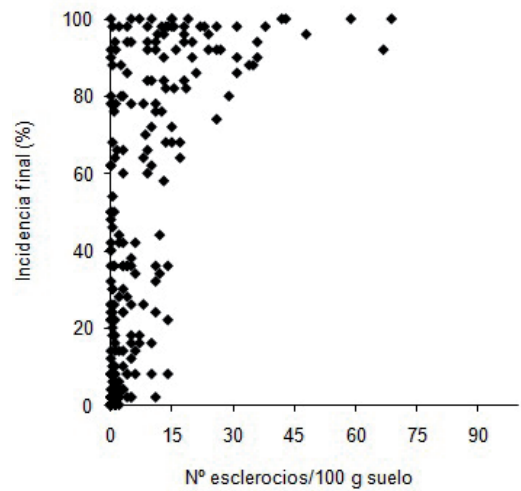


Figura 1. Relación entre densidad inicial de esclerocios (DIE)¹ e incidencia final² de la podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum*) en cultivos de ajo en Cruz del Eje (CE) y Jesús María (JM), Argentina, años 2001 a 2003.

¹ número de esclerocios viables/100 g de suelo. ² porcentaje de plantas enfermas en cada sitio de muestreo.

tros individuales se diseñó un modelo logístico mixto, con efectos aleatorios de sitio sobre el intercepto y/o la pendiente. Un modelo que incluyera todo lo anteriormente especificado tendría 45 parámetros, debido a que en el "ambiente" JM (2001) no hay categoría de inóculo mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo. Además, tendría "interceptos" diferentes para cada "ambiente" y categoría de DIE (9 parámetros); pendientes diferentes para cada "ambiente" y categoría de DIE (9 parámetros); efectos aleatorios que modifican tanto el "intercepto" como la pendiente; varianzas de ambos efectos aleatorios diferentes para cada "ambiente" y categoría de DIE (18 parámetros) y covarianzas entre efectos aleatorios diferentes para cada "ambiente" y categoría de DIE (9 parámetros). Sin embargo, es posible lograr un buen ajuste con un modelo más parsimonioso, y para ello se probaron los ajustes de siete modelos reducidos respecto a este modelo completo (Tabla 1). La modelización se realizó usando el programa SAS versión 9.1, procedimiento PROC NL MIXED (SAS Institute, 2006) a partir de un total de 2375 observaciones. Se obtuvieron estimaciones máximoverosimiles de los parámetros de las curvas de progresos modeladas, los que fueron comparados vía el criterio de Schwarz (BIC), donde menor BIC indica mejor ajuste del modelo a los datos. Para comparar las curvas ajustadas se consideraron los parámetros "intercepto" (B) y pendiente o tasa de incremento de la enfermedad (r) estimados.

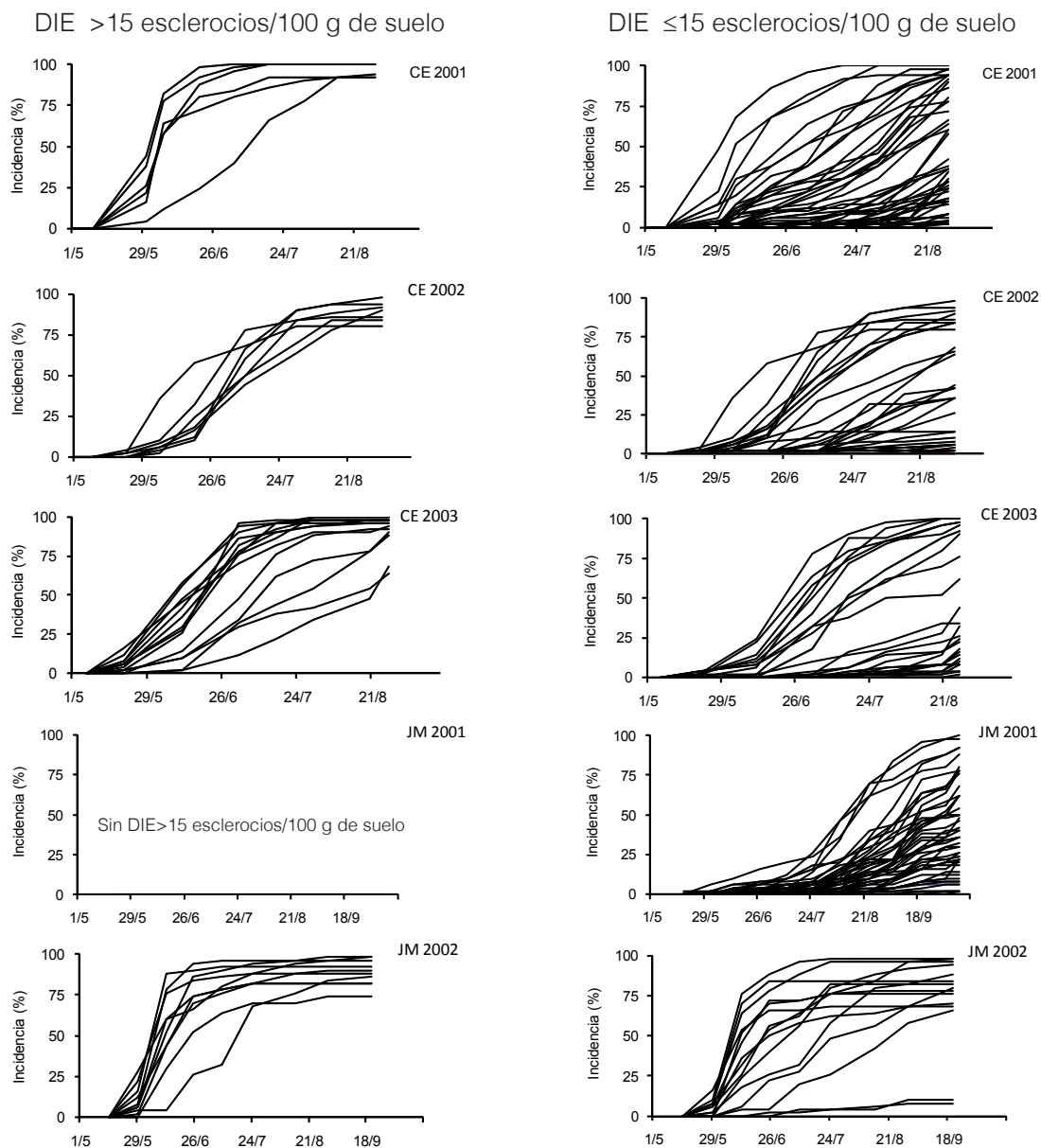


Figura 2. Curvas de progreso de la podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje (CE) y Jesús María (JM), Argentina, años 2001 a 2003, para sitios con dos categorías de densidad inicial de esclerocios (DIE).

DIE >15: categoría de densidad inicial de esclerocios mayor a 15 esclerocios /100 g de suelo; DIE ≤15: categoría de densidad inicial de esclerocios menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Densidad de esclerocios

En CE, la DIE alcanzó, en los distintos sitios de muestreo, valores entre 0-69, 0-67 y 0-59 esclerocios viables/100 g de suelo en los años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. En JM, en el primer año

de estudio se registraron DIE muy bajas, entre 0-1,2 esclerocios viables/100 g de suelo, pero en el año 2002 se encontraron DIE marcadamente superiores, registrándose valores de hasta 36 esclerocios viables/100 g de suelo (Figura 3). La variabilidad en la DIE de los sitios de muestreo fue más notable en CE, donde la infección ocurrió naturalmen-

Tabla 1. Características de los modelos no lineales mixtos con efecto aleatorio de sitio, ajustados para cinco "ambientes": Cruz del Eje (CE), años 2001, 2002 y 2003 y Jesús María (JM), años 2001 y 2002, y para dos categorías de densidad inicial de esclerocios (DIE): menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo y mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo.

Modelo	p	"Intercepto"	Pendiente	Varianza del efecto aleatorio	Covarianza	-2L	BIC
1	11	Aleatorio, het. a	Fija, het. a	Hom. a, hom. i	-	9790,4	9851,4
2	15	Aleatorio, het. a	Fija, het. a	Het. a, hom. i	-	9728,5	9811,6
3	23	Aleatorio, het. a, het. i	Fija, het. a	Het. a, het. i	-	9595,1	9722,6
4	36	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Het. a, het. i	No	8670,5	8870,0
5	22	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Hom. a., het. i	No	8734,4	8856,3
6	24	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Hom. a, het. i	Si	8721,5	8854,5
7	45	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Het. a, het. i	Si	8638,3	8887,6

p: número de parámetros del modelo; het. a: heterogéneo por "ambiente"; hom. a: homogéneo por "ambiente"; het. i: heterogéneo por densidad inicial de inóculo; hom. i: homogéneo por densidad inicial de inóculo; covarianza: covarianza del efecto aleatorio intercepto - pendiente; -2L: valores de -2 Log verosimilitud; BIC: valores del criterio de Schwarz

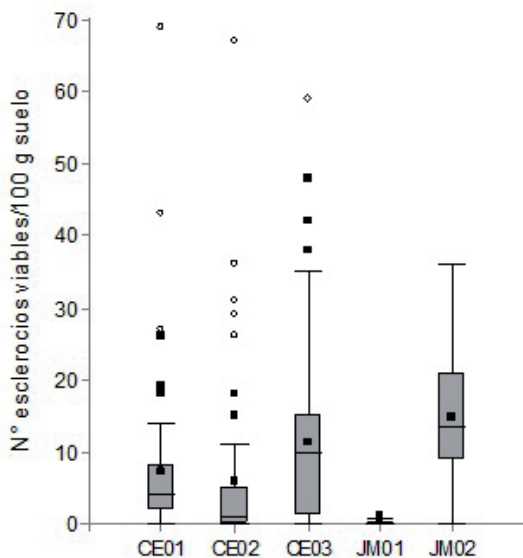


Figura 3. Densidades de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelos de Cruz del Eje (CE) y Jesús María (JM), Argentina, en años consecutivos (2001 a 2003 en CE y 2001 a 2002 en JM).

te, que en JM, donde el suelo fue artificialmente infestado homogeneizando la distribución de los esclerocios. Sin embargo, a causa de la tendencia natural de *S. cepivorum* a la agregación del inóculo (Crowe *et al.*, 1980; Adams, 1981; Crowe, 1996), en el segundo año de ensayos en JM la variación en la DIE fue notoriamente mayor que en el primer año. Variaciones notables en la DIE de *S. cepivorum* han sido también reportadas en otros suelos

naturalmente infestados. Al respecto, entre 6-136 esclerocios/100 g de suelo han sido hallados en los distintos sitios de muestreo de un mismo lote en New Jersey (Adams, 1981), y entre 0,1-100 esclerocios/100 g de suelo en lotes que habían sido cultivados con especies de *Allium* entre 1 y 8 años antes en California (Crowe *et al.*, 1980).

Día de inicio y duración de la epidemia

En CE la enfermedad fue detectada por primera vez en el lote (t_0) los días 30/5/2001, 22/5/2002 y 20/5/2003, habiendo transcurrido 82 días desde la plantación en 2001 y 2002 y 54 días en 2003. En esos momentos las plantas tenían entre tres y seis hojas y la bulbificación se inició a los 116 días en promedio desde la plantación. En JM la enfermedad fue detectada por primera vez en el lote (t_0) los días 18/5/2001 y 29/5/2002, a los 38 y 34 días desde la plantación, respectivamente; las plantas tenían entre dos y tres hojas y la bulbificación se inició a los 110 días en promedio desde la plantación. La enfermedad apareció por primera vez en los lotes (t_0) en 22, 10 y 18 sitios de muestreo en 2001, 2002 y 2003 respectivamente en CE, y en 1 y 18 sitios de muestreo en 2001 y 2002 respectivamente, en JM. A partir de (t_0) la enfermedad continuó apareciendo progresivamente en los restantes sitios de muestreo, hasta la finalización del ensayo (t_f), entre 13 y 21 semanas después. Consecuentemente, en CE y JM la enfermedad apareció por primera vez (t_0) en un período de corta duración, entre el 18 y el 30 de mayo, independientemente de la fecha de plantación de los ensayos, antes de la bulbificación, y continuó apareciendo progresivamente hasta la cosecha (t_f). Estos resultados son

coincidentes con numerosos autores que señalan que bajo condiciones ambientales favorables para la enfermedad, las plantas de género *Allium* pueden enfermarse en cualquier estado de desarrollo (Crowe *et al.*, 1980; Crowe & Hall, 1980; Entwistle, 1990; Mc Lean & Stewart, 2000; Ponce-Herrera *et al.*, 2008). Sin embargo, Pinto *et al.* (1998), encontraron que los primeros síntomas de enfermedad siempre aparecieron después de los 60 días de la plantación, hecho que adjudican a una estrecha relación entre la temperatura propicia para el patógeno y la bulbificación del ajo. A diferencia de estos resultados, en los ensayos realizados en la región central de la Argentina transcurrieron menos de 60 días entre la plantación y (t_0) en tres de los cinco años estudiados, y las plantas se enfermaron cuando eran más pequeñas, a partir del estado del estado de dos hojas. La aparición de la enfermedad (t_0) tampoco coincidió con la emergencia de las plantas, como sugieren otros autores (Crowe & Hall, 1980; Entwistle, 1990), debido a que las condiciones de temperatura en CE y JM no fueron conductivas para la enfermedad cuando se realizó la plantación del ajo. Por otra parte, la aparición progresiva de la podredumbre blanca a partir de (t_0) también fue registrada por Crowe y Hall (1980) en ensayos con ajo, donde observaron nuevas plantas enfermas hasta 13,5 semanas después de la plantación.

Cuando un sitio de muestreo tuvo DIE mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la enfermedad apareció en un período corto, entre uno y 44 días, en los distintos sitios. En CE en 2001 apareció el 30/05, en 2002 entre (t_0) y el 05/06, y en 2003 entre (t_0) y el 03/07. En JM en 2002 la enfermedad apareció entre (t_0) y el 13/06. En cambio, cuando un sitio de muestreo tuvo una DIE menor, hasta 15 esclerocios/100 g de suelo, la enfermedad apareció en un período más largo, entre (t_0) y la cosecha del cultivo (tf). Esto pudo deberse a que con DIE altas las raíces se pusieron prontamente en contacto con los esclerocios, las plantas se enfermaron cuando aún eran pequeñas y los síntomas se manifestaron rápidamente (Crowe *et al.*, 1980; Crowe & Hall, 1980; McLean & Stewart, 2000). Mientras tanto, con DIE bajas las raíces se pusieron en contacto con los esclerocios en distintos momentos. Algunas plantas se enfermaron cuando eran pequeñas, otras cuando eran más grandes, e incluso pudo ocurrir que ninguna raíz se pusiera en contacto con un esclerocio o que al infestarse plantas muy grandes ya no hubiera manifestación visible de los síntomas (Crowe, 1996; McLean & Stewart, 2000).

La duración de la epidemia comprendió 91, 105 y 99 días en 2001, 2002 y 2003, respectivamente

en CE y 145 y 120 días en 2001 y 2002, respectivamente en JM. A causa de que el día de inicio de la epidemia (t_0) ocurrió de manera estable en la última quincena de mayo en las dos localidades, la mayor duración de la epidemia ($t_f - t_0$) en JM puede explicarse en el hecho que en esta localidad los ensayos se cosecharon más tarde (t_f) debido a que la longitud del ciclo del cultivo fue mayor, al crecer en una zona de temperaturas medias más bajas.

Incidencia inicial y final de la podredumbre blanca

La incidencia inicial (y_0) varió en los distintos sitios de muestreo entre 0-48%, 0-4% y 0-16% en 2001, 2002 y 2003, respectivamente, en CE y entre 0-2% y 0-28% en 2001 y 2002, respectivamente, en JM. La incidencia final (y_f) alcanzó valores entre 2-100%, 0-98% y 0-100% en 2001, 2002 y 2003, respectivamente, en CE y entre 0-100% y 8-98% en 2001 y 2002, respectivamente, en JM. Esta notable variabilidad observada tanto en la (y_0) como en la (y_f) es una característica frecuente en las enfermedades de raíces que tienen inóculo inicial agregado en el suelo (Crowe *et al.* 1980; Campbell, 1986; Campbell & Madden, 1990). Cuando la DIE de un sitio fue mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo (DIE "alta"), la incidencia final de la enfermedad fue alta en todos los casos, entre 64-100%. En cambio, cuando la DIE fue menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo (DIE "baja"), la incidencia final fue muy variable, entre 0-100% (Figura 1). Esta fuerte dependencia de la incidencia final de la podredumbre blanca con respecto a la DIE en cultivos de ajo de CE y JM, ha sido reportada también por otros autores para cultivos de Aliáceas (Adams, 1981; Crowe, *et al.*, 1980; Coley-Smith, 1990; Delgadillo *et al.*, 2002; Ponce-Herrera *et al.*, 2008).

Descripción de las curvas de progreso de la podredumbre blanca

Se observa una gran variabilidad entre las curvas de progreso de la enfermedad correspondientes a cada sitio de muestreo, en ambas localidades y en todos los años estudiados (Figura 2). El inicio de las curvas epidémicas ocurrió en un período que abarcó desde (t_0) hasta la cosecha del cultivo (tf), en CE 2001, 2002 y 2003 y en JM 2001. En cambio, en JM en 2002, el inicio de las curvas epidémicas se concentró en un período que abarcó desde (t_0) hasta la cuarta fecha de evaluación de la incidencia. Hubo curvas que progresaron rápidamente, alcanzando en poco tiempo incidencias de 80-100%, particularmente en CE 2001 y 2003 y en JM 2002. Otras curvas fueron progresando

más lentamente y alcanzaron valores de incidencia superiores a 80% recién en las últimas fechas de evaluación. También hubo curvas que progresaron aún más lentamente que las anteriores y cuya incidencia final siempre estuvo por debajo de 80%. Algunas curvas alcanzaron una incidencia de 100% recién en el momento de la finalización del ensayo. Es notorio que las curvas epidémicas que comenzaron tarde alcanzaron siempre incidencia final menor a 50%.

La DIE indujo gran variabilidad en las curvas de progreso de la podredumbre blanca en JM y CE. Las curvas epidémicas de los sitios de muestreo con DIE "alta" comenzaron temprano, en (t_0) o en la segunda fecha de evaluación de la incidencia, progresaron rápido, tuvieron forma predominantemente sigmoidea y alcanzaron incidencia final alta, entre 64-100%. En cambio, las curvas de los sitios de muestreo con DIE "baja" mostraron gran variabilidad, comenzaron desde (t_0) hasta la cosecha del ensayo (t_1), progresaron con tasas variables, tuvieron forma sigmoidea o exponencial y alcanzaron incidencia final muy variable, entre 0-100%. Coincidentemente, Ponce-Herrera *et al.* (2008), comprobaron un fuerte efecto de la DIE de *S. cepivorum* en las características de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de cebolla. A diferencia de las curvas epidémicas obtenidas en CE y JM, Pinto *et al.* (1998) encontraron que el progreso de la podredumbre blanca en diferentes cultivares de ajo fue exponencial sólo en las dos a tres primeras semanas y después lineal. La forma sigmoidea o exponencial de las curvas epidémicas obtenidas en las dos localidades de la región central de la Argentina describe la infección progresiva de las plantas que ocurre, según lo expresan numerosos autores (Crowe *et al.*, 1980; Crowe & Hall, 1980; Campbell, 1986; McLean & Stewart, 2000), a medida que las raíces en crecimiento localizan los esclerocios distribuidos en el perfil del suelo o cuando las plantas son alcanzadas por el micelio proveniente de plantas enfermas muy próximas.

Modelización de las curvas de progreso de la podredumbre blanca

Como forma paramétrica del modelo utilizado para describir el progreso de la incidencia de la podredumbre blanca se eligió la ecuación logística. Si bien en algunos casos la forma de las curvas epidémicas fue exponencial y no sigmoidea, esto pudo deberse a que la cosecha del cultivo impidió la suficiente observación en el tiempo como para advertir la inflexión, debido a que hubo sitios en los cuales la enfermedad empezó más tarde. Además,

la forma exponencial es similar a la primera parte de una curva que sería sigmoidea si hubiera tenido más tiempo para progresar (Campbell & Madden, 1990). Asimismo, se consideró que la forma general del modelo debía ser la misma para ambas localidades, años y sitios de muestreo, y que una curva de dos parámetros era preferible a una de más parámetros para la estructura del valor poblacional esperado (intercepto y tasa de incremento de enfermedad).

Por otra parte, se observó que la incidencia promedio de la enfermedad aumentó con el tiempo y consecuentemente las variancias resultaron no homogéneas a través del tiempo, ya que la variancia es una función de la media. Como los datos de incidencia son proporciones se supuso una distribución binomial, en la cual la variancia es proporcional a la incidencia esperada multiplicada por (1-incidencia esperada). Además, las observaciones no se consideraron independientes, debido a que se tomaron a lo largo del tiempo en los mismos sitios de muestreo. Si bien la mayoría de los resultados de una regresión no son muy afectados por desviación de la normalidad, ni por variancias desiguales, un supuesto definitivo e importante es que los datos sean independientes (Campbell & Madden, 1990). De este modo, los modelos y métodos de análisis clásicos no eran la mejor opción para describir adecuadamente las curvas epidémicas en esta situación. Consecuentemente, se supuso que las observaciones tomadas sobre el mismo sitio estuvieron positivamente correlacionadas por el efecto de sitio. El modelo seleccionado permite capturar esta dependencia positiva mediante el uso de efectos aleatorios de sitio, produciendo curvas sitio-específicas. A este modelo mixto con efecto aleatorio de sitio que permite modelar curvas de progreso de la enfermedad, se le adicionó además un parámetro relativo a la DIE, de manera tal que cada sitio de muestreo tuviera una curva específica para representar su propio y particular progreso, que dependió de su DIE. Los efectos aleatorios en el intercepto y/o la pendiente permitieron modelar la gran variabilidad entre las curvas individuales, de modo que estas curvas ya no fueron constantes sino variables aleatorias, y por consiguiente sus parámetros tienen asociada una distribución de probabilidades. La modelización del progreso de la enfermedad dentro del marco teórico de los modelos no lineales mixtos (con efectos aleatorios dependientes del sitio), permitió superar la falta de cumplimiento de los supuestos de los modelos y métodos de análisis clásicos, incorporar el efecto de la DIE en el modelo y expresar la variabilidad de las curvas epidémicas.

El modelo que mejor ajustó a los datos de incidencia de podredumbre blanca en CE (2001, 2002 y 2003) y JM (2001 y 2002), fue el número seis, debido a que fue el modelo con menor valor BIC (criterio de Schwarz) (Tabla 1). El modelo elegido tuvo "interceptos" y pendientes aleatorias y diferentes para cada combinación de "ambiente" y categoría de DIE (Tabla 2), efectos aleatorios de "intercepto" (u_{ijk}) y pendiente (v_{ijk}) correlacionados, varianzas de ambos efectos aleatorios y covarianza entre efectos aleatorios homogéneas para los "ambientes" pero diferentes para cada categoría de DIE. Consecuentemente, la forma general de las curvas epidémicas de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de CE y JM, dependió del "ambiente" y de la DIE, pero la variabilidad de los "interceptos" y pendientes dependió exclusivamente de la DIE.

El modelo manifestó menor variabilidad en los "interceptos" para las DIE "altas" (> 15 esclerocios/100 g de suelo), que para las DIE "bajas" (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo). Este comportamiento expresó el hecho de que con DIE "altas" la enfermedad apareció de manera más concentrada en el tiempo y no más allá de la mitad del ciclo del cultivo. En cambio, con DIE "bajas" fue apareciendo progresivamente desde (t_0) hasta la cosecha (t_p). Mientras que en las pendientes el modelo manifestó el efecto opuesto, la variabilidad fue mayor para las DIE "altas" que para las DIE "bajas". Esto expresó el hecho de que con DIE "altas" en el suelo, la enfermedad progresó con tasas más diferentes que con DIE "bajas", donde las tasas de progreso fueron más parecidas. No obstante, a simple vista

las curvas epidémicas de las DIE "bajas" parecen tener mayor variabilidad (Figura 2). Contribuye a esta impresión el hecho de que alcanzan incidencias finales muy variables, entre (0-100%). Esta aparente mayor variabilidad, se debió a que las curvas comenzaron en momentos muy diferentes y también a que muchas comenzaron tarde. Las que comenzaron tarde se encontraban en su parte exponencial cuando el cultivo se cosechó y ésta es la parte de una curva logística que muestra mayor variabilidad (Campbell & Madden, 1990). En cambio, las curvas epidémicas correspondientes a las DIE "altas", al comenzar más temprano tuvieron tiempo para terminar y alcanzar la forma sigmoidea típica del modelo logístico.

Con el uso de este modelo se estiman curvas típicas, con efectos aleatorios cero ($u=0$, $v=0$, se debe recordar que éstos son los valores centrales de las distribuciones de los u y v), cuyos valores de B y r dependen del "ambiente" y de la categoría de DIE (si es menor/igual o mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo) (Figura 4). De esta manera, cada curva típica expresa la forma general del modelo para todos los sitios dentro de cada "ambiente" y categoría de DIE. Sin embargo, como cada sitio de muestreo tiene sus propios valores de efectos aleatorios (u_{ijk} y v_{ijk}), que hacen que tanto el "intercepto" como la pendiente suban o bajen aleatoriamente, las curvas típicas no son todas las posibles. La curva de cada sitio se desvía de la curva típica mediante valores aleatorios, cuya variabilidad depende de si la DIE es menor/igual o mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo. Para expresar

Tabla 2. Parámetros "intercepto" (B) y pendiente (r) estimados para las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un sitio típico (efectos aleatorios ($u=0$, $v=0$), en cinco "ambientes", Cruz del Eje (CE) años 2001, 2002 y 2003 y Jesús María (JM) años 2001 y 2002 y dos categorías de densidad inicial de esclerocios (DIE).

Ambiente		DIE	B	r	σ_u	σ_v	ρ_{uv}
Localidad	Año						
CE	2001	≤ 15	-5,8952 b ⁽¹⁾	0,04960 c	2,0471	0,01536	0,2682
CE	2001	> 15	-3,0122 c	0,10177 f	0,7654	0,02561	-0,4734
CE	2002	≤ 15	-7,7227 a	0,02885 a	2,0471	0,01536	0,2682
CE	2002	> 15	-3,9562 c	0,06224 cd	0,7654	0,02561	-0,4734
CE	2003	≤ 15	-7,8876 a	0,05005 c	2,0471	0,01536	0,2682
CE	2003	> 15	-3,7960 c	0,07418 d	0,7654	0,02561	-0,4734
JM	2001	≤ 15	-7,0021 a	0,04016 b	2,0471	0,01536	0,2682
JM	2002	≤ 15	-2,6818 cd	0,04134 bc	2,0471	0,01536	0,2682
JM	2002	> 15	-1,8618 d	0,04992 c	0,7654	0,02561	-0,4734

DIE ≤ 15 : categoría de densidad inicial de esclerocios menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo; DIE > 15 : categoría de densidad inicial de esclerocios mayor a 15 esclerocios cada 100 gramos de suelo. B : "intercepto" estimado por el modelo logístico (ec. (1)); r : pendiente estimada por el modelo logístico (ec. (1)); σ_u : desvío estándar del efecto aleatorio de "intercepto"; σ_v : desvío estándar del efecto aleatorio de pendiente; ρ_{uv} : correlación entre los efectos aleatorios, $\rho_{uv} = \sigma_{uv} / \sigma_u \sigma_v$.

(1): Valores seguidos por la misma letra dentro de una columna no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$).

esta variabilidad se consideraron las curvas para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u=\pm 0,67\sigma_u$ y $v=\pm 0,67\sigma_v$, que representan las curvas asociadas a los primeros ($Q_{1(0,25)}$) y terceros ($Q_{3(0,75)}$) cuartiles

de las distribuciones marginales de ambos efectos aleatorios. Es decir que, $u=-0,67\sigma_u$ y $v=-0,67\sigma_v$ (Q_1) y $u=+0,67\sigma_u$ y $v=+0,67\sigma_v$ (Q_3), son los valores de los efectos aleatorios que representan el 50%

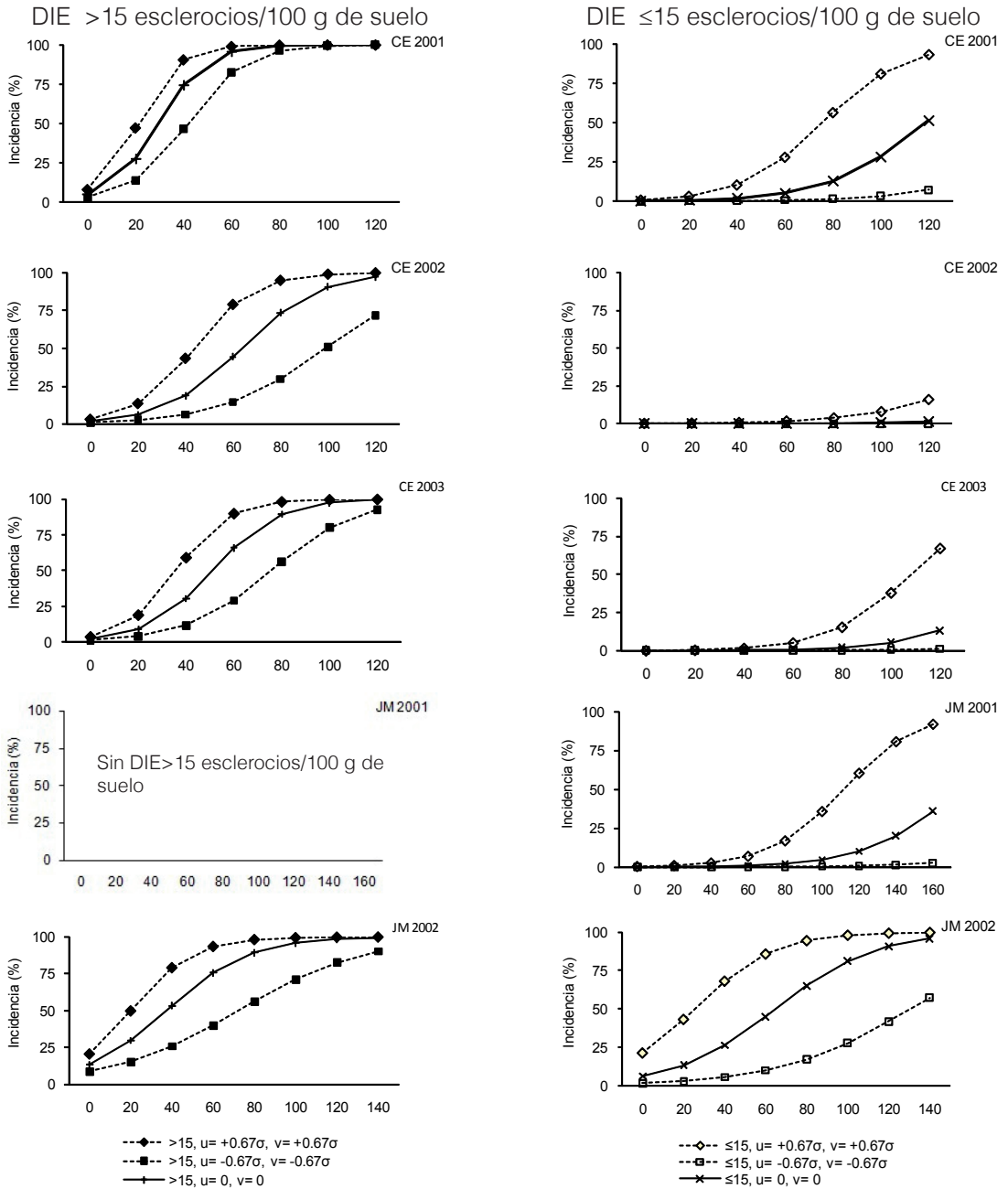


Figura 4. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios típicos con efectos aleatorios $u=0$, $v=0$ y para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u=\pm 0,67\sigma_u$ y $v=\pm 0,67\sigma_v$ (curvas percentiles Q_1 y Q_3), en Cruz del Eje (CE) y Jesús María (JM), Argentina, años 2001 a 2003 y dos categorías de densidad inicial de esclerocios (DIE). DIE >15: categoría de densidad inicial de esclerocios mayor a 15 esclerocios /100 g de suelo; DIE ≤15: categoría de densidad inicial de esclerocios menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo.

del área bajo la curva de la función de distribución acumulada de la variable aleatoria normal. Esto significa que el 50% de las curvas tuvieron tasas de progreso estimadas entre $r \pm 0,67\sigma_r$ y las formas que se muestran en la figura 4.

Es importante destacar que la gran variabilidad que se observa en las curvas epidémicas de los distintos sitios de muestreo no podría ser expresada mediante una sola curva de progreso estimada con un modelo clásico. En cambio, con la utilización del modelo desarrollado en esta investigación la representación de las curvas epidémicas en cada "ambiente" y categoría de DIE, se hace mediante un grupo de curvas específicas de sitio, que son la típica (mediana), que representa la forma general del modelo y las curvas Q_1 y Q_3 expresan la variabilidad existente y representan las formas entre las cuales estarían el 50% de la población de curvas. En este aspecto, Torres y Macchiavelli (2007) propusieron el concepto de "curvas percentiles" para las curvas específicas de sitio generadas con los efectos aleatorios, y una metodología de análisis estadístico para estimar estas curvas en un modelo logístico con "interceptos" y pendientes aleatorios. También propusieron describir las curvas de progreso de la enfermedad utilizando un conjunto de curvas compuesto por una curva promedio poblacional, que es la curva media de la distribución marginal inducida por los efectos aleatorios y un grupo importante de curvas específicas de sitio, que son la curva típica (mediana) y las curvas percentiles asociadas a los primeros (Q_1) y terceros (Q_3) cuartiles de las distribuciones marginales inducidas de ambos efectos aleatorios. Sin embargo, en el trabajo propuesto por Torres y Macchiavelli (2007), puede observarse que las curvas medias tienen pendientes diferentes a las curvas medianas (típicas), y también que las curvas percentiles Q_1 y Q_3 copian más exactamente la forma de las curvas medianas. Debido a esto, para representar a las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de CE y JM de cada "ambiente" y categoría de DIE, se sugiere utilizar las curvas típicas (medianas) y las percentiles Q_1 y Q_3 . Se destaca que las curvas Q_1 y Q_3 son importantes para expresar la variabilidad de la población de curvas, ya que la curva mediana y/o media por sí solas no permiten visualizar la variabilidad existente entre los sitios de muestreo. Para las curvas extremas deberían considerarse valores de efectos aleatorios más extremos, por ejemplo $u = \pm 1,96\sigma_u$ y $v = \pm 1,96\sigma_v$, que son los valores de los efectos aleatorios que representan el 95% del área bajo la curva de la función de distribución acumulada de la variable aleatoria normal. Por lo tanto las

curvas de la mayoría de los sitios (95%) mostrarían tasas de progreso entre $r \pm 1,96\sigma_r$. Con el uso de este modelo se pueden hacer inferencias acerca de la dinámica de la enfermedad, por ejemplo predecir cuál sería la incidencia para un "ambiente" dado en un momento específico, tanto para un sitio típico (con efectos aleatorios cero), como para un sitio específico, es decir especificando los valores de los efectos aleatorios del sitio sobre el intercepto (u) y la pendiente (v).

Comparación de las curvas de progreso de la podredumbre blanca

Para las DIE "altas" en CE la enfermedad progresó (r) significativamente más rápido ($p < 0,05$) (> 15 esclerocios/100 g de suelo) que para las DIE "bajas" (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo) (Tabla 2). Asimismo, los "interceptos" (B) de las curvas epidémicas para las DIE "altas" mostraron valores más altos ($p < 0,05$) que para las DIE "bajas". Es decir que en los sitios con DIE "altas" las curvas de progreso de la enfermedad comenzaron antes que en los sitios con DIE "bajas". A diferencia, en JM en el año 2002, la enfermedad progresó de manera semejante ($p > 0,05$) para ambas DIE. Además, si bien el "intercepto" para la DIE "alta" mostró un valor ligeramente superior, no alcanzó a diferenciarse significativamente ($p > 0,05$) del correspondiente a la DIE "baja". Es decir que la curva de progreso de la enfermedad comenzó a subir en momentos semejantes para las dos categorías de DIE.

En CE, cuando la DIE fue "alta", la enfermedad progresó más rápido ($p < 0,05$) en el año 2001 y más despacio y de manera semejante ($p > 0,05$) en los años 2002 y 2003. Por otra parte, los "interceptos" de las curvas epidémicas de los tres años no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$). En cambio, cuando en CE la DIE fue "baja", la enfermedad progresó más lentamente ($p < 0,05$) en 2002 que en 2001 y 2003, años en los que la enfermedad progresó de manera semejante ($p > 0,05$). Además, el mayor valor ($p < 0,05$) de "intercepto" se obtuvo para el año 2001, es decir que la enfermedad apareció más temprano ese año, siguiéndole las curvas del 2003 y 2002, que tuvieron "interceptos" más bajos y semejantes ($p > 0,05$). En JM, las tasas de progreso de la enfermedad para las DIE "bajas" fueron semejantes ($p > 0,05$) en los años 2001 y 2002. Por otra parte, en 2001 el "intercepto" de la curva epidémica fue notoriamente más bajo ($p < 0,05$) que el correspondiente a la curva del año 2002, lo que se corresponde con una aparición más tardía de la enfermedad.

Al comparar ambas localidades dentro de los mismos años, puede observarse que cuando la DIE fue "baja", en CE en el año 2001, la enfermedad creció más rápido ($p < 0,05$) y la curva comenzó a subir más temprano ($p < 0,05$) que en JM. En el año 2002 ocurrió lo contrario: la enfermedad progresó más lento ($p < 0,05$) y la curva empezó a subir más tarde ($p < 0,05$) en CE que en JM. Cuando la DIE fue "alta", en el año 2002 la enfermedad progresó de manera semejante ($p > 0,05$) en ambas localidades. En cambio, el "intercepto" fue menor ($p < 0,05$) en CE que en Jesús María, es decir que la enfermedad comenzó antes en JM. La posibilidad de comparar epidemias mediante los parámetros B y r estimados para las curvas "típicas" mediante el modelo mixto desarrollado en la presente investigación, indican que estos parámetros podrían utilizarse para comparar los efectos de fungicidas o de diferentes técnicas de manejo, en epidemias de podredumbre blanca en otras situaciones de ensayo.

El modelo desarrollado en esta investigación permite expresar el comportamiento general y la variabilidad del progreso de la podredumbre blanca. Esto se logra mediante tres curvas específicas de sitio, que son la curva típica, que representa la forma general del modelo y sus correspondientes curvas percentiles Q_1 y Q_3 que expresan la variabilidad de las curvas típicas para cada "ambiente" (CE 2001, 2002 y 2003 y JM 2001 y 2002) y cada categoría de DIE (> 15 y ≤ 15 esclerocios/100 g de suelo). De esta forma en cada "ambiente" existen dos curvas típicas con sus correspondientes curvas percentiles, una para la DIE "alta" y otra para la DIE "baja". La forma general de las curvas epidémicas depende del "ambiente", que resume los efectos de la localidad y el año, y de la DIE, pero la variabilidad de los "interceptos" y pendientes depende exclusivamente de la DIE. La estrategia de modelación desarrollada en esta investigación podría ser utilizada para describir epidemias de podredumbre blanca en otras zonas de producción de ajo, debido a que todos los cultivares de ajo son susceptibles a la enfermedad y a que incorpora el efecto del "ambiente" y de la densidad de inóculo del patógeno. Sin embargo, es probable que en otros "ambientes" la variabilidad de la DIE sea diferente y que se encuentre otro tipo relación entre la DIE y la incidencia final de la enfermedad. Así, el valor de 15 esclerocios/100 g de suelo, con el cual se separaron las categorías de DIE para realizar los ajustes de este modelo, podría ser diferente en otras zonas de producción. También podría ocurrir que no fuera necesario separar los ajustes en dos

categorías de DIE, como sucedió en los ensayos realizados en JM (2001) donde solamente hubo categoría de DIE "baja" (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo). Debido a esto, la forma general de la curva de progreso de la enfermedad, expresada por la curva típica, y la variabilidad de los "interceptos" y pendientes, expresada por las curvas percentiles, resultarán diferentes en otra zona de producción de ajo. Asimismo, esta estrategia de modelación puede probarse en su capacidad para capturar y expresar la forma general del progreso y la variabilidad propia de curvas epidémicas de otras enfermedades de raíces producidas por patógenos habitantes del suelo, cuyos inóculos tienen un fuerte efecto en el progreso de las epidemias.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Agencia Córdoba Ciencia del Gobierno de la Provincia de Córdoba, Argentina, y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, por los subsidios otorgados, y al ingeniero agrónomo Eduardo Orecchia, director de la Agencia de Extensión Rural del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Cruz del Eje, Córdoba, Argentina, por la asistencia en los ensayos de campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, P. B., 1981. Forecasting onion white rot disease. *Phytopathology* 71(11):1178-1181.
- Campbell, C. L., 1986. Interpretation and uses of disease progress curves for root diseases. In *Plant Diseases Epidemiology. Population Dynamics and Management. Volume 1*, Kurt J. L. y Fry, W. E., (eds.). Collier Macmillan Canada, Inc., New York, pp. 38 - 54.
- Campbell, C. L. and L. V. Madden, 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 532 pp.
- Coley-Smith, J. R., 1990. White rot disease of *Allium*: problems of soil-borne diseases in microcosm. *Plant Pathology* 39:214-222
- Coley-Smith, J. R.; D. Parfitt and I. M. Taylor, 1987. Studies of dormancia in sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Plant Pathology* 36:594-599.
- Crowe, F. J., 1996. White rot. En: *Compendium of Onion and Garlic Diseases*, (eds.) Schwartz, H. F. and Mohan, S. K., APS Press, USA, pp. 14-16.
- Crowe, F. J. and D. H. Hall, 1980. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70 (1):70-73
- Crowe, F. J.; D. H. Hall, A. S. Greathead and K. G. Baghott, 1980. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum*

- and the incidence of white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70 (1):64-69
- Davidian, M and D. Giltinan, 2003. Nonlinear models for repeated measurement data: An overview and update. *Journal of agricultural, biological and environmental statistics* 8(4):387-419.
- Delgadillo Sánchez, F.; E. Zavaleta Mejía, S. Osada Casase, A. Arévalo Valenzuela, V. A. González Hernández, D. Nieto Angel e I. Torres Pacheco, 2002. Densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su control mediante tebuconazole en ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25 (4): 349 – 354.
- Entwistle, A. R., 1990. Allium white rot and its control. *Soil Use Manage* 6:201-209.
- Mann, L. K., 1952. Anatomy of the garlic bulb and factors affecting bulb development. *Hilgardia* 21: 195 – 251.
- McLean, K. L.; G. E. Harper, C. M. Frampton and A. Stewart 2005. Dormancy of *Sclerotium cepivorum* sclerotia in New Zealand soils. *New Zealand Plant Protection*, 58: 245 – 250.
- McLean, K. L. and A. Stewart. 2000. Infection sites of *Sclerotium cepivorum* on onion roots. *New Zealand Plant Protection*, 53: 118 – 121.
- Molenberghs, G. and G. Verbeke. 2005. Models for discrete longitudinal data. *Springer Series in Statistics*, Springer-Verlag, New-York, 683 pp.
- Pinto, C. M. F; L. A. Maffia, R. D. Berger, E. S. G. Mizubuti and V. W. D. Casali, 1998. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. *Plant Disease* 82(10):1142-1146.
- Ponce Herrera, V.; R. García Espinoza, M. del P. Rodríguez Guzmán y E. Zavaleta Mejía, 2008. Análisis temporal de la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) de la cebolla (*Allium cepa* L.) bajo tres niveles de inóculo del patógeno. *Agrociencia* 42 (1): 71 – 83.
- Punja, Z. K. and J. E. Rahe, 1993. *Sclerotium*. En: *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, (ed.). Singleton, J.D. Mihail, J.D. and Rush, C.M, APS Press, pp. 166-170.
- SAS Institute, 2006. SAS/STAT release 8.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Torres, P. A. and R. E. Macchiavelli, 2007. Marginal Interpretation of subject-specific curves: logistic-normal regression. Paper 182-2007. SAS Global forum 2007. Statistics and data analysis. URL: <http://www2.sas.com/proceedings/forum2007/182-2007.pdf>
- Zewide, T; C. Fininsa and P. K. Sakhuja, 2007. Management of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic using fungicides in Ethiopia. *Crop protection* 26 (6): 856 – 866