**IX CONFERENCIA CIENTÍFICA INTERNACIONAL DESARROLLO AGROPECUARIO Y SOSTENIBILIDAD “AGROCENTRO 2019”**

**Distribución espacial de la roya naranja de la caña de azúcar en hojas infectadas por *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler.**

**Spatial distribution of orange rust from sugarcane on leaves infected by *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler**

**Osmany de la Caridad Aday Díaz1, Javier Delgado Padrón2, Héctor García Pérez2 y Gudelia Pérez Chávez2**

1-Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA Centro Villa Clara), Villa Clara, Cuba. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, La Habana, Cuba. E-mail: osmany.aday@inicavc.azcuba.cu

2- Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, Carretera CUJAE Km 1½, Boyeros, La Habana, Cuba. C.P. 19390.

**Resumen:** La roya naranja de la caña de azúcar [*Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler], es una enfermedad de peligro potencial para la agroindustria azucarera en Cuba. El objetivo de la investigación fue determinar la distribución espacial de la roya naranja en hojas infectadas por *P. kuehnii*, tipo de distribución de las pústulas y el posible uso de una variable cuantitativa que permita estimar el área foliar afectada (AFA) con una precisión superior a la observación del ojo humano. Del cultivar C01-227 se colectaron 25 hojas y se seleccionó la hoja +5. El tipo de distribución espacial de las pústulas se determinó calculando la relación varianza /media y el índice Morisita. Se determinó un máximo de 6,88 pústulas por cm2 en hojas con 25 % del AFA y un promedio de 2,26 en hojas con afectación desde 5 hasta 25 % del AFA, la distribución de estas resultó ser agregada. El número de pústulas por cm2 fue significativamente superior en los tercios medio y apical, se determinó que su valor promedio en el tercio medio de la hoja o su valor máximo no está relacionado directamente con área foliar afectada en toda la hoja.

***Abstract:*** *The orange rust of the sugar cane [Puccinia kuehnii (W. Krüger) E. J. Butler], is a disease of potential danger for the sugar industry in Cuba. The objective of the research was to determine the spatial distribution of orange rust in leaves infected by P. kuehnii, type of distribution of the pustules and the possible use of a quantitative variable that allows estimating the affected leaf area (AFA)* *with a superior precision to observation of the human eye. From the cultivar C01-227, 25 leaves were collected and the +5 leaf was selected. The type of spatial distribution of the pustules was determined by calculating the variance / mean ratio and the Morisita index. A maximum of 6,88 pustules per cm2 was determined in leaves with 25 % of AFA and an average of 2,26 in leaves with affectation from 5 to 25 % of AFA, the distribution of these was added. The number of pustules per cm2 was significantly higher in the middle and apical thirds, it was determined that their value average in the half third of the leaf or their maximum value is not related directly with area to foliate affected in the whole leaf.*

**Palabras Clave:** distribución espacial, índices de agregación, *Puccinia kuehnii*, roya naranja.

***Keywords:*** spatial distribution, aggregation indices, *Puccinia kuehnii*, orange rust.

**1. Introducción**

La roya naranja causada por el hongo *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler, es una enfermedad con un alto potencial de daño sobre los cultivares de caña de azúcar susceptibles (Minchio *et al*., 2011). El síntoma más común es la pústula que es una pequeña mancha necrótica con la elevación de la epidermis, que se rompe por la fuerza que produce por la formación de las uredinias y urediniosporas del hongo.

Amorim y Bergamin Filho (2011), plantean que en la evaluación de la resistencia a enfermedades, estudios epidemiológicos y de estimación de daños se deben emplear métodos que propicien resultados precisos y reproducibles. Según estos autores la severidad es la variable más apropiada para evaluar plantas donde el porcentaje de área de tejido vegetal cubierto con síntomas es alto debido a la intensidad de la enfermedad. Por otro lado consideraron que la determinación precisa del área afectada resulta complicada.

Por otro lado Campbell y Madden (1990) señalaron que es esencial conocer las características de la distribución espacial de los patógenos o de su población en las plantas enfermas para el desarrollo de modelos de su epidemiología y programas de muestreo para el manejo de las enfermedades. Se usan a menudo tres clasificaciones de los modelos espaciales de distribución; agregado, al azar y uniforme. Es necesario el análisis estadístico para describir un modelo o determinar qué clasificación de este se ajusta a la distribución espacial del patógeno en estudio (Sparks *et al*., 2008).

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la distribución espacial de la roya naranja en hojas infectadas por *P. kuehnii*, tipo de distribución de las pústulas y el posible uso de una variable cuantitativa que permita estimar el área foliar afectada con una precisión superior a la observación del ojo humano.

**2. Metodología**

Se colectó la hoja +5 (quinta hoja con cuello visible desde el ápice del tallo hacia abajo) de 25 tallos de caña de azúcar del cultivar C01-227, este se clasifica como susceptible a la roya naranja (Valdés *et al*., 2016). En la hoja +5 se localizan los valores medios de área foliar afectada (AFA) muy similares a la media observada en toda la planta infectada por esta roya (Aday *et al*., 2017).

Sobre cada hoja se colocó un plástico transparente con cuadrículas de 1 cm2. Cada hoja fue escaneada con auxilio de una impresora multifuncional “HP Laser Jet Pro MFP M 127 fn” y posteriormente cada imagen fue analizada. Se determinó el número de pústulas producidas por *P. kuehnii* y pústulas por cm2, en los tercios basal, medio y apical de la hoja +5 (enumerados 1, 2 y 3, respectivamente).

Se estimó además de forma visual el porcentaje de Área Foliar Afectada (%AFA), con el empleo de la escala diagramática de Alfonso *et al*. (2000), empleada para evaluar la roya parda (*Puccinia melanocephala* H. y P. Sydow) y que actualmente se utiliza en Cuba para la evaluación de la roya naranja.

Se calcularon las variables biométricas media, desviación estándar, coeficiente de variación, valor máximo y mínimo y el error estándar respecto a la media del número de pústulas por cm2 en diferentes dimensiones de las estaciones de muestreo desde 1 cm2 hasta 10 cm2, en toda la hoja y en el tercio medio.

Como una medida particular para definir el tipo de distribución espacial o índice de agregación de las pústulas se determinó la relación entre la variación o varianza de la población (σ) y la media (µ). El modelo de distribución se clasificó como uniforme cuando la varianza es menor que la media (α<µ); aleatorio si la varianza y la media son iguales (σ=µ); agregado si la varianza es mayor que la media (σ> µ), según Campbell y Madden (1990).

Para definir el tipo de distribución espacial de las pústulas en 2 cm2 en el tercio medio de las hojas se calculó el índice o relación entre la varianza y media, así como el índice Morisita:

*Iδ= [Sni(ni-1)/n(n-1)]N*

Donde *Iδ* es el índice de Morisita, *ni* es el número de individuos en "*i*" ésima unidad muestreal, *n* es el número de individuos en todas unidades muestreales y *N* es el número de unidades muestreales. Valores de *Iδ* menor, igual o mayor de 1 indican distribuciones de tipo uniforme, Poisson y agregada, respectivamente según Morisita (1959).

Finalmente se determinó la relación entre el número de pústulas por cm2 con AFA en el tercio medio de la hoja y con el AFA en toda la hoja. En todos los casos se obtuvieron modelos de regresión lineal para la estimación del AFA a partir de las variables cuantitativas obtenidas del conteo de las pústulas de *P. kuehnii*.

**3. Resultados y discusión**

En el cultivar C01-227 se determinó un mayor número promedio de pústulas de *P. kuehnii* en los tercios medio y apical de las hojas (tercios 2 y 3), sin diferencias significativas en estas porciones de la hoja. La variabilidad en cuanto al número de pústulas fue mayor en el tercio basal y apical, en este último se localizaron los valores máximos (Tabla 1).

Tabla 1. Número de pústulas producidas por *P. kuehnii* en hojas del cultivar de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) C01-227 (susceptible).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tercio | N | Media | DE | CV (%) | Valor máximo |
| 1 | 25 | 102,24 b | 91,93 | 89,92 | 333 |
| 2 | 25 | 246,16 a | 159,41 | 64,76 | 665 |
| 3 | 25 | 314,76 a | 285,29 | 90,64 | 1098 |
| Total | 75 | 220,71 | 213,52 | 96,74 |  |

*CV: Coeficiente de Variación; DE: Desviación Estándar*

*Media con letras distintas en la misma columna difieren significativamente según la prueba Kruskall – Wallis/ Mann-Whitney para p<0.05. n=25*

En correspondencia con este análisis el número de pústulas por cm2 fue significativamente superior en los tercios medio y apical, con menor variabilidad en el tercio medio (Tabla 2).

Tabla 2. Número de pústulas por cm2producidas por *P.kuehnii* en hojas del cultivar de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) C01-227 (susceptible).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tercio | N | Media | DE | CV (%) | Valor máximo |
| 1 | 25 | 1,14 b | 0,93 | 81,71 | 3,26 |
| 2 | 25 | 2,12 ab | 1,42 | 67,27 | 5,58 |
| 3 | 25 | 3,04 a | 2,39 | 78,60 | 8,13 |
| Total | 75 | 2,10 | 1,85 | 88,02 |  |

*CV: Coeficiente de Variación*

*DE: Desviación Estándar*

*Media con letras distintas en la misma columna difieren significativamente según la prueba Kruskall – Wallis/ Mann-Whitney para p<0.05. n=25*

Estos resultados indican que para evaluar de forma cuantitativa la infección de *P. kuehnii*, cuando se utiliza como variable a medir el número de pústulas por cm2, el tercio medio de la hoja resulta la porción de la hoja más adecuada con la menor variación y un valor muy próximo a la media de toda la hoja.

Klosowski (2012), observó que la mayoría de las veces las pústulas están agrupadas y en esos casos es difícil determinar con exactitud su número, el cual según Souza (2013), puede llegar a 37 por cm2. En esta investigación, se determinó en el cultivar C01-227 un máximo de 6,88 pústulas por cm2 en hojas con 25% del AFA y un promedio de 2,26 en hojas con una afectación desde 5 hasta 25% del AFA. Aunque el AFA por pústulas de *P. kuehnii* en las hojas evaluadas fue variable, siempre su distribución resultó ser agregada (Tabla 3).

Tabla 3. Distribución espacial de las pústulas por cm2producidas por *P. kuehnii* en hojas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cultivar C01-227 (susceptible).

| Muestra | Pústulas*/*cm2 | AFA (%) | DE | Varianza | CV (%) | ÍndiceV/m |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 1,58 | 5 | 2,06 | 4,24 | 130,31 | 2,68 |
| 2 | 1,94 | 15 | 2,76 | 7,66 | 142,72 | 3,95 |
| 3 | 0,90 | 5 | 6,78 | 4,97 | 75,36 | 51,07 |
| 4 | 2,09 | 15 | 3,94 | 15,55 | 188,44 | 7,43 |
| 5 | 3,54 | 15 | 3,38 | 11,44 | 95,38 | 3,22 |
| 6 | 2,90 | 15 | 3,15 | 9,94 | 108,74 | 3,42 |
| 7 | 1,25 | 5 | 1,85 | 3,43 | 148,06 | 2,743 |
| 8 | 4,49 | 25 | 36,57 | 13,37 | 81,5 | 29,82 |
| 9 | 2,49 | 15 | 2,66 | 7,08 | 106,70 | 2,84 |
| 10 | 6,88 | 25 | 4,44 | 19,78 | 64,68 | 2,87 |
| 11 | 2,47 | 15 | 2,57 | 6,62 | 104,06 | 2,67 |
| 12 | 3,13 | 15 | 2,91 | 8,47 | 93,00 | 2,70 |
| 13 | 2,65 | 15 | 2,44 | 5,97 | 92,37 | 2,25 |
| 14 | 3,23 | 25 | 3,70 | 13,72 | 114,77 | 4,25 |
| 15 | 3,24 | 25 | 2,62 | 6,91 | 81,16 | 2,13 |
| 16 | 1,08 | 15 | 1,86 | 3,48 | 173,09 | 3,23 |
| 17 | 2,95 | 25 | 3,34 | 11,22 | 113,54 | 3,80 |
| 18 | 1,34 | 15 | 1,69 | 2,88 | 126,76 | 2,15 |
| 19 | 0,31 | 5 | 1,08 | 1,17 | 352,32 | 3,82 |
| 20 | 1,36 | 15 | 1,88 | 3,55 | 137,99 | 2,60 |
| 21 | 0,39 | 5 | 3,33 | 11,11 | 854,66 | 28,49 |
| 22 | 0,93 | 5 | 1,47 | 2,17 | 158,54 | 2,33 |
| 23 | 3,42 | 25 | 3,52 | 12,42 | 102,89 | 3,62 |
| 24 | 0,83 | 5 | 1,58 | 2,51 | 189,56 | 3,00 |
| 25 | 1,17 | 5 | 2,28 | 5,20 | 195,43 | 4,45 |

*CV: Coeficiente de Variación; DE: Desviación Estándar*

Según plantean Badii *et al*. (2011), el patrón de dispersión agregado implica el hecho de que encontrar un individuo en un punto o unidad de muestreo (UM), se incrementa la probabilidad de encontrar otro en la misma UM. Estos autores además plantearon que la distribución espacial es una de las propiedades más características de las especies, porque produce parámetros que las segregan y estos son expresiones poblacionales del comportamiento a nivel individual. Para el caso de la roya naranja, el posible uso de una variable cuantitativa para evaluar la severidad de la enfermedad necesita la determinación del tamaño más adecuado de la estación de muestreo o área de la hoja a evaluar.

El número de pústulas a contabilizar se incrementó hasta un promedio de 23,72 pústulas en 10 cm2, ello resulta muy trabajoso e incrementa la probabilidad de error (Tabla 4). Una estación de muestreo mayor de 2 cm2 incrementó exponencialmente la desviación y el error estándar de la observación respecto a la media, mientras que el coeficiente de variación se mantuvo próximo al 83 % en cualquiera de las estaciones de muestreo. Por consiguiente una estación longitudinal a la hoja, de 2 cm2 resultaría confiable y práctica para cuantificar número de pústulas por cm2.

Tabla 4. Variables biométricas y estadísticas para cada una de las dimensiones de estación de muestreo para evaluar el número de pústulas por cm2 producidas por *P. kuehnii*

| EM (cm2) | N | Media | DE | CV (%) | Mínimo | Máximo | EE |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 25 | 2,39 | 1,98 | 83,22 | 0,22 | 9,05 | 0,39 |
| 2 | 25 | 4,78 | 3,98 | 83,36 | 0,43 | 18,16 | 0,79 |
| 3 | 25 | 7,09 | 5,67 | 79,98 | 0,65 | 25,00 | 1,13 |
| 4 | 25 | 9,52 | 7,98 | 83,89 | 0,86 | 36,32 | 1,59 |
| 5 | 25 | 11,90 | 9,91 | 83,31 | 1,08 | 45,41 | 1,98 |
| 6 | 25 | 14,30 | 11,85 | 82,87 | 1,25 | 53,96 | 2,37 |
| 7 | 25 | 16,69 | 13,87 | 83,11 | 1,53 | 63,35 | 2,77 |
| 8 | 25 | 19,00 | 15,86 | 83,52 | 1,73 | 72,65 | 3,17 |
| 9 | 25 | 21,36 | 17,67 | 82,71 | 2,00 | 80,16 | 3,53 |
| 10 | 25 | 23,72 | 19,78 | 83,40 | 2,16 | 90,81 | 3,95 |
| Total | 250 | 13,08 | 13,84 | 105,82 | 0,22 | 90,81 | 2,76 |

*EM: Estación de muestreo; CV: Coeficiente de Variación; DE: Desviación Estándar; EE: Error Estándar*

En trabajos publicados por Pérez (2013) y Giacomini (2013), sobre investigaciones con inoculación artificial del hongo para medir la frecuencia de infección cuantificando el número de pústulas por cm2, en las metodologías de trabajo mencionan el uso de una platilla con dos ventanas continuas de 1 cm2 cada una como estación de muestreo, colocadas en el área donde mayor cantidad de pústulas aparecen después de la inoculación. Estos consideran apropiada esa dimensión de área de muestreo (2 cm2), en la evaluación de la roya naranja para estudios en condiciones controladas u otras con inoculación artificial de las plantas para evaluar resistencia de los cultivares de caña de azúcar a *P. kuehnii*.

La distribución de las pústulas producidas por *P. kuehnii* en 2 cm2 en el tercio medio de hojas infectadas del cultivar C01-227, arrojó un promedio de 4,75 pústulas y un máximo de 54, en hojas con un AFA de entre 5 y 25%. Su distribución espacial fue agregada en esa porción de la hoja según los resultados del cálculo de los índices relación varianza/media y el de Morisita (Tabla 5). En la práctica lo que puede medirse en un programa de muestreo es la media y la varianza, al respecto Badii *et al*. (2011) plantean que estas dos se pueden combinar de varias formas para producir coeficientes o índices de agregación, como apoyo conceptual para el manejo de datos.

Tabla 5. Distribuciones espaciales de las pústulas de *P. kuehnii* en 2 cm2, en el tercio medio de hojas infectadas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cultivar C01-227.

| Hoja | Media | Máximo | AFA (%) | Varianza | ÍndiceV/m | Índicede Morisita |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2,81 | 16 | 5 | 2,44 | 2,11 | 1,08 |
| 2 | 3,91 | 24 | 5 | 32,39 | 8,27 | 2,80 |
| 3 | 1,48 | 18 | 5 | 11,05 | 4,47 | 6,19 |
| 4 | 5,58 | 54 | 15 | 98,53 | 17,64 | 4,47 |
| 5 | 4,10 | 16 | 15 | 17,48 | 4,26 | 1,76 |
| 6 | 4,85 | 19 | 15 | 20,83 | 4,29 | 1,75 |
| 7 | 2,97 | 19 | 5 | 21,54 | 7,25 | 2,99  |
| 8 | 7,24 | 23 | 15 | 28,22 | 3,89 | 1,39 |
| 9 | 6,52 | 14 | 15 | 17,27 | 2,65 | 1,26 |
| 10 | 18,16 | 37 | 25 | 50,69 | 32,32 | 1,08 |
| 11 | 4,02 | 23 | 15 | 21,11 | 5,25 | 2,07 |
| 12 | 6,96 | 21 | 15 | 23,19 | 3,33 | 1,26 |
| 13 | 5,05 | 15 | 15 | 15,21 | 3,00 | 1,31 |
| 14 | 8,26 | 36 | 25 | 81,60 | 9,14 | 1,85 |
| 15 | 9,31 | 25 | 25 | 18,97 | 2,03 | 1,10 |
| 16 | 1,95 | 12 | 5 | 7,76 | 3,97 | 2,39 |
| 17 | 4,09 | 17 | 15 | 18,08 | 4,42 | 1,71 |
| 18 | 2,54 | 11 | 15 | 6,91 | 2,72 | 1,67 |
| 19 | 1,46 | 13 | 5 | 9,18 | 6,29 | 4,82 |
| 20 | 1,93 | 13 | 15 | 8,18 | 4,24 | 2,47 |
| 21 | 0,43 | 9 | 5 | 2,11 | 4,87 | 9,88 |
| 22 | 2,12 | 11 | 5 | 6,83 | 3,22 | 2,11 |
| 23 | 11,20 | 30 | 25 | 60,78 | 5,43 | 1,37 |
| 24 | 0,98 | 6 | 5 | 1,55 | 1,57 | 1,75 |
| 25 | 0,84 | 4 | 5 | 1,56 | 1,32 | 1,55 |

*Índice V/m: Varianza/media*

Los análisis de regresión simple de modelos lineales y ajustados no mostraron una fuerte relación entre el número promedio de pústulas por centímetro cuadrado en tercio medio de la hoja con el AFA por pústulas en el tercio medio de la hoja y en toda la hoja. La relación fue muy débil cuando se relacionó el máximo número de pústulas por centímetro cuadrado observadas en el tercio medio de la hoja con el AFA en tercio medio y en toda la hoja. Similares resultados se obtuvieron al considerar el promedio y el máximo de pústulas en 2 cm2 (Tabla 6).

Tabla 6. Relaciones entre el número medio y máximo de pústulas por cm2 y en 2 cm2 con el área foliar afectada.

|  Relación | CC | R2 | EE | P |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| AFA del Tm y Pústulas/cm2 |  |  |  |  |
| Modelo linealAFA = 5,39912 + 3,01756\* Pústulas/2cm2 | 0,83 | 68,62 | 4,14 | 0,000 |
| AFA del Tm y Máx. Pústulas/cm2 |  |  |  |  |
| Modelo linealAFA = 7,56574 + 0,418128\* Máx. Pústulas/cm2 | 0,44 | 19,05 | 6,64 | 0,029 |
| AFA de la hoja y Pústulas/cm2 |  |  |  |  |
| Modelo lineal AFA= 7,2464 + 2,91394\* Pústulas/cm2 | 0,76 | 58,06 | 5,02 | 0,000 |
| AFA de la hoja y Máx. Pústulas/2cm2 |  |  |  |  |
| Modelo lineal AFA = 9,44367 + 0,395044\*Máx. Pústulas/2cm2 | 0,39 | 15,43 | 7,13 | 0,052 |
| AFA del Tm y Pústulas/2cm2 |  |  |  |  |
| Modelo linealAFA = 5,41035 + 1,50431\* Pústulas/2cm2 | 0,83 | 68,64 | 4,13 | 0,000 |
| AFA del Tm y Máx. Pústulas/2cm2 |  |  |  |  |
| Modelo linealAFA = 4,9387 + 0,3941\* Máx. Pústulas/2cm2 | 0,59 | 35,34 | 5,94 | 0,001 |
| AFA de la hoja y Pústulas/2cm2 |  |  |  |  |
| Modelo lineal AFA de la hoja = 7,2512 + 1,45391\* Pústulas/2cm2 | 0,76 | 58,19 | 5,01 | 0,000 |
| AFA de la hoja y Máx. Pústulas/2cm2 |  |  |  |  |
| Modelo lineal  AFA = 6,65841 + 0,387942\* Máx. Pústulas/2cm2 | 0,56 | 31,08 | 6,44 | 0,003 |

*Pústulas/cm2: Valor medio del número de pústulas observadas en un cm2 en el tercio medio de la hoja*

*Pústulas/2cm2: Valor medio del número de pústulas observadas en dos cm2 en el tercio medio de la hoja*

*AFA: Área Foliar Afectada (%); Tm: Tercio medio*

*Máx. Pústulas: Máximo número de pústulas observadas en el tercio medio de la hoja*

*CC: Coeficiente de Correlación; EE: Error Estándar del estimado*

Badii *et al*. (2011) determinaron que independientemente de las causas de la agregación, su ocurrencia conduce a dificultades tanto en el muestreo como en el análisis. Generalmente, las densidades de las poblaciones con distribución de tipo agregada tienden a subestimarse, porque un número desproporcionadamente grande de individuos se presentan en pocos agregados, los cuales son raramente incluidos en proporciones significativas en las muestras. Esto es lo que sucede con la roya naranja según los resultados obtenidos en este trabajo.

Rodríguez *et al*. (2007) emplearon una escala que considera el área foliar afectada con pústulas de roya parda (*Puccinia melanocephala* H. Sydow y P. Sydow) en 2 cm2 del tercio medio de la hoja. Estos mismos autores encontraron correlación entre las afectaciones por roya parda en los 2 cm2 y toda el área foliar, lo que aumentó la precisión de las observaciones. Posteriormente Montalván (2017) concluyó que a partir de las dimensiones de las pústulas de roya parda (largo y ancho) si se determina el número de pústulas en una estación de muestreo de 2 cm2 del tercio medio de la hoja, se puede calcular el área ocupada por pústulas [Pústulas/cm2 (%)] en dicha estación y basado en ello clasificar la resistencia de los cultivares a esa enfermedad.

En el caso de la enfermedad roya naranja, en condiciones de campo e infección natural, el número de pústulas por centímetro cuadrado en el tercio medio de la hoja o su valor máximo no están relacionados directamente con área foliar afectada en toda la hoja y no son indicadores confiables para su estimación, por ello esta deberá ser estimada visualmente por expertos o por medio de otras técnicas como el escaneado y procesamiento de imágenes para mayor precisión.

**4. Conclusiones**

1. Se determinó en el cultivar C01-227, susceptible a *P. kuehnii*, un máximo de 6,88 pústulas por cm2 en hojas con 25 % del AFA y un promedio de 2,26 en hojas con una afectación desde 5 hasta 25 % del AFA.
2. El número de pústulas producidas por *P. kuehnii* por cm2 fue significativamente superior en los tercios medio y apical, con menor variabilidad en el tercio medio donde se observó un valor muy próximo a la media de toda la hoja.
3. Aunque el área foliar afectada por pústulas de *P. kuehnii* en las hojas evaluadas fue variable, siempre su distribución resultó ser agregada.
4. En condiciones de campo e infección natural, el número promedio de pústulas por centímetro cuadrado en el tercio medio de la hoja o su valor máximo no están relacionados directamente con área foliar afectada en toda la hoja.

**5. Referencias bibliográficas**

1. Aday, O., I. Alfonso, E. Rodríguez, F. R. Díaz, Y. Gil, B.L. Valdés y J. Barroso. Caracterización de los síntomas de la roya naranja *(Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler) en cuatro cultivares de caña de azúcar en Cuba*. Agrícola* 44 (2): 61-67, 2017.
2. Alfonso, I., M.T. Cornide, J. Sandoval, I. Rodríguez, E. Ojeda y J. Vallina. Sistema evaluativo de la resistencia a las principales enfermedades de la caña de azúcar en Cuba. Roya (*Puccinia melanocephala* Sydow & P. Sydow). *Cuba & Caña*, número especial: 33-42, 2000.
3. Amorim, L. y A. Bergamin Filho. Fenologia. Patometria e quantificação de danos. In: Amorim, L., J.A.M. Rezende, A. Bergamin Filho (Ed.) Manual de fitopatologia, 4 ed., V. 1: Princípios e conceitos. Piracicaba: Agronômica Ceres: 517-542, 2011.
4. Badii, M.H.A. Guillen, E. Cerna y J. Landeros. Analyses and Application of Multi stage Sampling, Sub-sample Estimation and Random Response Sampling. International Journal of Good Conscience 6 (2): 88-95, 2011.
5. Campbell, C.L. and Madden, L.V. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley & Sons, New York. 532p., 1990.
6. Giacomini, R. Reação de variedades de cana-de-açúcar à ferrugem alaranjada (*Puccinia Kuehnii*). Tese apresentada para obtencã do titulo de Doutor em Ciências. Área de concentracão: Fitopatologia. Universidade de São Paulo, Escola Superior do Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, Brazil: 62 p., 2013.
7. Klosowski, A.C. Escala diagramática, segregação da resistência em progênies de cana-de-açúcar e reação de cultivares à ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*). Tese de Mestre Ciências, Universidade Federal do Paraná, Brasil: 72 p., 2012.
8. Minchio, C.A., M.G. Canteriand J.A. Rocha. Germinação de uredósporos de *Puccinia kuehnii* submetidos a diferentes temperaturas e tempos de incubação. Summa Phytopathologica Botucatu 37: 211-214, 2011.
9. Montalván, J. Adecuaciones al sistema evaluativo de la roya parda (*Puccinia melanocephala* Sydow & P. Sydow) en pruebas de resistencia de cultivares de caña de azúcar en Cuba. Tesis de Doctorado, Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar y Universidad Agraria de La Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”, Cuba: 128 p., 2017.
10. Morisita, M. Measuring the dispersion of individuals and analysis of the distributional patterns. Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. E. 2: 215-235, 1959.
11. Pérez, S.G. Quantificação de parãmetros monocíclicos da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*) em cana de açúcar. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia. Universidade São Paulo, Escola Superior do Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, Brazil: 53 p., 2013.
12. Rodríguez, J.; A. Molina; Céspedes A. y L. Cabrera. Consideraciones sobre la evaluación de la roya común de la caña de azúcar. Problemas de las escalas. Estación Provincial de Investigaciones de la EPICA Mayarí: 10pp., 2007.
13. Souza, A. Ferrugem alaranjada da cana de açucar no Brasil: estudo de populações do patógeno e compotamento varietal. Tese Doutorado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, Brazil: 87 p. 2013.
14. Sparks, A.H., P.D. Esker, G. Antony, L. Campbell, E.E. Frank, L. Huebel, M.N. Rouse, B. Van Allen, and K.A. Garrett. Ecology and Epidemiology in R: Spatial Analysis. The Plant Health Instructor. Doi: 10.1094/PHI-A-2008-0129-03, 2008.
15. Valdés, B.L., O. Aday, B. Ocaña, L. Rojas, M. Hernández, M. Acosta, Víctor Gil, A. González, L. Rivero, M.I. Oloriz. Caracterización de la respuesta de cultivares de caña de azúcar a la roya naranja en casa de cultivo. *Biotecnología Vegetal* 16 (1): 21 - 29, 2016.