

# Escala Diagramática de Severidad para el Complejo Mancha de Asfalto del Maíz

## Diagrammatic Scale Severity for Tar Spot Complex in Maize

**Lervin Hernández Ramos**, Instituto de Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. México, CP 56230, México. **José Sergio Sandoval Islas**, Instituto de Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. México, CP 56230, México. Correspondencia: (lervin.hernandez@colpos.mx).

**Recibido:** Julio 22, 2014

**Aceptado:** Diciembre 20, 2014

Hernández Ramos L y Sandoval Islas JS. 2015. Escala diagramática de severidad para el Complejo Mancha de Asfalto del maíz. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 95-103.

**Resumen.** El complejo mancha de asfalto del maíz, inducido por los hongos *Phyllachora maydis* y *Monographella maydis*, es una enfermedad de importancia económica en México, debido a que provoca severas pérdidas en rendimiento. Dada su importancia se requieren métodos estandarizados de cuantificación de los daños ocasionados por la enfermedad, que permitan realizar estudios epidemiológicos reproducibles; con este propósito fue elaborada una escala logarítmica de severidad con los intervalos y punto medio de cada clase de 0(0-0), 3(1-6), 12(7-22), 38(23-55), 72(56-84), 91(85-95) y 98(96-100) % de área foliar afectada, analizándose su exactitud, precisión y reproducibilidad. La evaluación consideró a diez evaluadores y 50 plantas con distintos niveles de severidad, determinadas con el Software ImageTool 3.0. La precisión y exactitud se calculó mediante un análisis de regresión lineal, entre la severidad real y estimada. Todos los evaluadores mostraron una tendencia

**Abstract.** The tar spot complex of maize, induced by the fungi *Phyllachora maydis* and *Monographella maydis*, is a disease of economic importance in Mexico and Central America because it causes severe yield losses. Given the growing importance, standardized methods are required to quantify disease that allow for reproducible epidemiological methods. For this purpose a logarithmic scale of severity was developed with intervals and midpoints of 0(0-0), 3(1-6), 12(7-22), 38(23-55), 72(56-84), 91(85-95) and 98(96-100)% of the affected leaf area, analyzing accuracy, precision and reproducibility. The evaluation considered ten evaluators and 50 plants with different levels of severity, determined by the Image Tool 3.0 Software. The precision and accuracy was determined by a simple linear regression analysis between actual and estimated severity. All evaluators tended to overestimate the disease, and recorded values of the  $b_1$  coefficient statistically equal to 1 ( $P < 0.01$ ), so that the disease evaluation with the proposed scale gives values close to real results. High levels of accuracy were observed;  $r^2$  was comprised between the range of 0.71 and 0.91, indicating that the scale can be successfully implemented in the evaluation of the tar spot complex disease.

a sobreestimar la enfermedad; y registraron valores del coeficiente  $b_1$  estadísticamente igual a 1 ( $P < 0.01$ ), por lo que la evaluación del CMA con la escala propuesta arroja resultados cercanos a los valores reales. Se observaron buenos niveles de precisión, la  $r^2$  estuvo comprendida entre el rango 0.71 a 0.91; indicando que la escala puede ser implementada exitosamente en la evaluación de los daños de la enfermedad.

**Palabras clave:** *Phyllachora maydis*, *Monographella maydis*, *Zea mays*.

El Complejo Mancha de Asfalto (CMA), asociado a los hongos *Phyllachora maydis* Maubl. y *Monographella maydis* Müller & Samuels, es una enfermedad que se ha convertido en el principal factor limitante en la producción de maíz (*Zea mays* L.) en diversas zonas del trópico húmedo, subhúmedo y zonas de transición (Hock *et al.*, 1989), en distintas regiones de México y Centroamérica. La incidencia del CMA provoca pérdidas severas en rendimiento y deteriora la calidad del forraje, además, tiene el potencial para destruir las parcelas en su totalidad (Pereyda *et al.*, 2009). En México, la enfermedad se considera potencialmente importante en unas 800 mil hectáreas distribuidas en los Estados de Michoacán, Puebla, Veracruz, Guerrero, Oaxaca y Chiapas (Gómez *et al.*, 2013).

A nivel de campo, se ha observado que siempre el maíz es primeramente infectado por *P. maydis*, produciendo pequeñas manchas negras en forma de costras carbonosas sobresalientes, que por su aspecto se les denomina manchas de asfalto (Hock *et al.*, 1989). Posteriormente se forma un halo necrótico alrededor de cada una de las lesiones de *P. maydis* debidas a la infección secundaria de *M. maydis*, dando origen al denominado síntoma ojo de pescado (Hock *et al.*, 1992). De todos los organismos asociados *M. maydis*, el causante de

**Key words:** *Phyllachora maydis*, *Monographella maydis*; *Zea mays*.

The Tar Spot Complex (TSC), associated with the *Phyllachora maydis* Maubl and *Monographella maydis* Müller & Samuels fungi, is a disease that has turned into the main limiting factor for maize production (*Zea mays* L.) in a number of humid/sub-humid, tropical regions and transitional zones (Hock *et al.*, 1989) in several regions of Mexico and Central America. The incidence of TSC causes severe yield losses and deteriorates the quality of the fodder; furthermore, it has the potential to entirely destroy parcels of land (Pereyda *et al.*, 2009). In Mexico, the disease is considered potentially significant in around 800 thousand hectares distributed among the states of Michoacán, Puebla, Veracruz, Guerrero, Oaxaca and Chiapas (Gómez *et al.*, 2013).

In the field, it has been observed that the maize is first infected by *P. maydis*, causing small black stains in the form of exalted carbonaceous scabs, that due to their appearance are denominated asphalt stains (Hock *et al.*, 1989). Subsequently, a necrotic diameter is formed around each one of the lesions of *P. maydis* due to the secondary infection of *M. maydis*, originating the so called fish-eye symptom (Hock *et al.*, 1992). From all the organisms associated with *M. maydis*, the one that causes foliar necrosis has the most devastating effect. Under favorable conditions, the foliage of the plant may completely dry out in less than eight days due to the fusion of the lesions of the two pathogenic organisms and due to the possible production of a toxin (Hock *et al.* 1995).

Given the increasing importance of the Tar Spot Complex, standardized methods for the quantification of the disease are required, methods that allow the conduction of accurate, precise, and reproducible epidemiological studies;

la necrosis foliar, tienen el efecto más devastador; bajo condiciones favorables el follaje de la planta puede secarse completamente en menos de ocho días debido a la fusión de las lesiones de los dos organismos patogénicos y a la posible producción de una toxina (Hock *et al.* 1995).

Dada la creciente importancia del CMA, se requieren de métodos estandarizados de cuantificación de la enfermedad que permitan realizar estudios epidemiológicos reproducibles, exactos y precisos; entendiendo como exactitud a la proximidad que tiene un valor estimado con el valor real, precisión como la variación o repetitividad asociadas con una estimación; y reproducibilidad a la ausencia de variación en las estimaciones cuando diversos evaluadores cuantifican la misma característica (Nascimento *et al.*, 2005).

Dentro de los métodos para medir la intensidad de una enfermedad el uso de escalas logarítmicas diagramáticas es el más ampliamente utilizado. Estas escalas consisten en la representación ilustrada de una serie de plantas o partes de plantas mostrando los síntomas de una enfermedad en diferentes grados de severidad (Nascimento *et al.*, 2005) y están basadas en el principio de Weber-Fechner que establece que la agudeza visual del daño es proporcional al logaritmo del estímulo hasta en un 50% de severidad y a partir de este valor, la relación es inversamente proporcional al logaritmo del estímulo ocasionado por la cantidad de tejido sano restante (Mora *et al.*, 2000).

A pesar de la creciente importancia del complejo mancha de asfalto del maíz y la consecuente necesidad de llevar a cabo estudios epidemiológicos o de control, no se tiene la existencia de un método estandarizado de cuantificación de la enfermedad que provea de resultados fácilmente reproducibles entre investigadores o instituciones, por lo que el objetivo de esta investigación fue diseñar y validar una escala logarítmica diagramática de severidad

understanding ‘accuracy’ as the proximity that an estimated value has to the real value, ‘precision’ as the variation or repeatability associated with an estimation, and ‘reproducibility’ as the absence of change in the estimations when several evaluators quantify the same characteristics (Nascimento *et al.*, 2005).

Among the methods of measurement for the intensity of a disease, the use of diagrammatic logarithmic scales is the most widely used. These scales consist in the representation of a series of plants or parts of plants that show the symptoms of a disease in varying degrees of severity (Nascimento *et al.*, 2005) and are based on the Weber-Fechner law which states that the visual acuity of the damage is proportional to the stimulus logarithm up until a 50% severity, and from this value on, the relation is inversely proportional to the stimulus logarithm caused by the quantity of remaining healthy tissue (Mora *et al.*, 2000).

Despite the increasing importance of TSC in maize and the resulting need to carry out epidemiological or control studies, there is no standardized quantification method of the disease that provides easily reproducible results among investigators or institutions; therefore, the objective of this investigation was to design and validate a diagrammatic logarithmic severity scale for the maize – *Phyllachora maydis* and *Monographella maydis* – pathosystem that allows the evaluation of the damage caused by the disease in fields, analyzing the accuracy, precision and reproducible values generated with its use.

#### **Design of the diagrammatic logarithmic scale.**

The methodology proposed by Mora *et al.* (2000) was employed, utilizing 50 leaves with a wide range of severity levels, originating from different hybrids with different genetic basis, which allowed the representation of different severity levels.

para el patosistema maíz – *Phyllachora maydis* y *Monographella maydis* que permita la evaluación de los daños de la enfermedad en campo, analizando los valores de exactitud, precisión y reproducibilidad generados con su utilización.

**Diseño de la escala logarítmica diagramática.** Se empleó la metodología propuesta por Mora *et al.* (2000), incluyendo 50 hojas con un amplio rango de severidad, provenientes de diferentes híbridos con una base genética distinta, lo que permitió que quedaran representados los distintos niveles de severidad. La documentación fotográfica fue obtenida en las parcelas de la estación experimental Agua Fría CIMMYT, Puebla y en comunidades de Chilpancingo en Guerrero, durante 2013. Mediante el software Image Tool 3.0 se determinó el área total foliar y el área total enferma de cada imagen digitalizada; la proporción de tejido sano y enfermo permitió calcular el porcentaje de severidad de la enfermedad. La escala logarítmica se generó mediante el programa 2-Log V1.0 propuesto por Mora *et al.* (2000).

**Validación de la escala diagramática.** Se utilizó una secuencia de 50 fotografías de hojas y plantas de maíz con diversos niveles de severidad del CMA, determinándose previamente el área afectada de cada una de ellas. La severidad de cada imagen fue evaluada con ayuda de la escala por diez evaluadores, cinco de ellos con experiencia en la cuantificación de la severidad de enfermedades y cinco sin experiencia directa en el ámbito fitopatológico. La exactitud y precisión de cada evaluador fue determinada por medio de un análisis de regresión lineal simple tal como lo describen Nutter *et al.* (1991).

La exactitud de cada evaluador fue determinada mediante la prueba T aplicada al intercepto de la regresión lineal ( $b_0$ ), para verificar la hipótesis

The photographic documentation was obtained from the parcels in the experimental station Agua Fría CIMMYT, Puebla and from communities in Chilpancingo, Guerrero in 2013. The total foliar area and the total diseased area of each digitalized image was determined through the Image Tool 3.0 software; the ratio of the healthy and diseased tissue allowed the calculation of the severity of the disease. The logarithmic scale was generated through the 2-Log V1.0 program, proposed by Mora *et al.* (2000).

**Validation of the diagrammatic scale.** A sequence of 50 photographs of leaves and maize plants with different TSC severity levels was used, previously determining the affected area of each one of them. The severity of each image was evaluated by ten evaluators with the help of the scale, five of them with experience in the quantification of disease severity and five without direct experience in the phytopathological area. The accuracy and precision of each evaluator was determined through a simple analysis of linear regression as described by Nutter *et al.* (1991).

The accuracy of each evaluator was determined through the T test applied to the intercept of the linear regression ( $b_0$ ), to verify the  $H_0: b_0=0$  hypothesis; and with the coefficient of the slope of the line ( $b_1$ ) to estimate if it was different from 1 ( $H_0: b_1=1$ ), with  $P \leq 0.01$ . The accuracy of the tests was estimated with the coefficient of determination ( $r^2$ ) of the same linear regression and with the absolute deviation of the error. The simple linear regression analysis was done through the GLM procedure of the SAS 9.0 statistical package.

In the field, the maximum severity value of TSC observed was 100 %, causing the premature senescence and death of the entire plant; conversely, the inferior limit had 0% severity. Considering both limits, the diagrammatic logarithmic scale

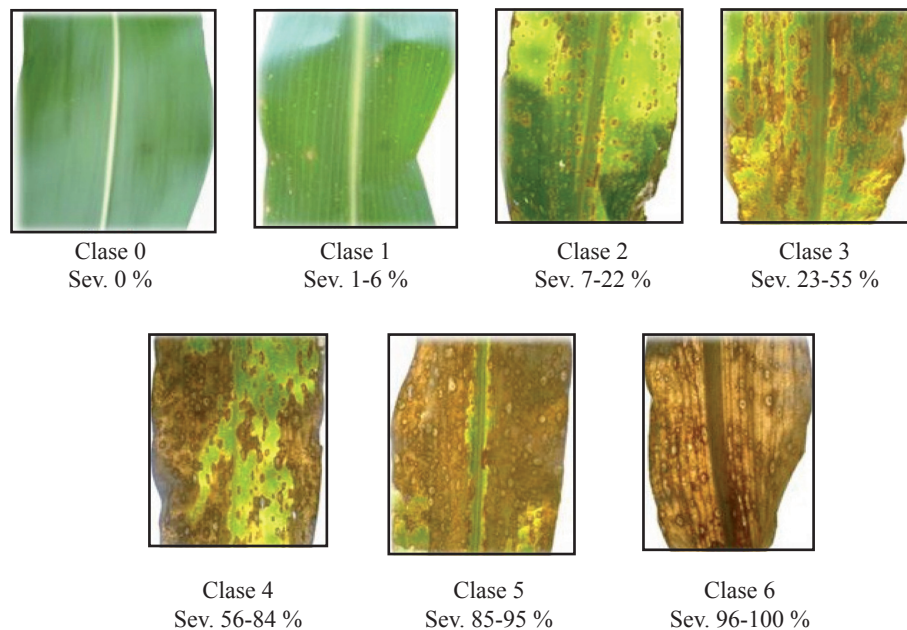
$H_0: b_0=0$ ; y con el coeficiente de la pendiente de la recta ( $b_1$ ) para estimar si fue diferente de 1 ( $H_0: b_1=1$ ), con  $P \leq 0.01$ . La precisión de los ensayos fue estimada con el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de la misma regresión lineal y por la varianza absoluta del error. El análisis de regresión lineal simple fue realizado mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS 9.0.

A nivel de campo el valor máximo de severidad del CMA observado fue de 100%, causando senescencia y muerte prematura de toda la planta; en contraste, el límite inferior resultó con 0 % de severidad. Considerando ambos límites, la escala logarítmica diagramática de severidad estuvo constituida por siete clases, representadas por los intervalos de 0(0-0), 3(1-6), 12(7-22), 38(23-55), 72(56-84), 91(85-95) y 98(96-100) % de área foliar necrosada (Figura 1).

La exactitud, representada por el grado de proximidad de los valores estimados a los valores

was constituted by seven classes, represented by the intervals 0(0-0), 3(1-6), 12(7-22), 38(23-55), 72(56-84), 91(85-95) and 98(96-100)% of the necrotic foliar area (Figure 1).

The accuracy, represented by the degree of proximity of the estimated values to the real values (Nutter *et al.* 1991), measured by the  $b_0$  intercept and by the  $b_1$  coefficient of the linear model, was greater for the evaluators with experience in the quantification of diseases (Table 1). The values of the  $b_0$  intercept were closer to zero for the first group. The value of the  $b_0$  intercept was positive in almost all cases, which indicates that there is a tendency to overestimate the severity of the disease; this tendency was greater for the evaluators without experience. Based on the null hypothesis ( $a=0$  o  $b=1$ ), the coefficient  $b_1$  was statistically equal to 1 ( $P < 0.01$ ) for most of the evaluators, indicating that the assessment of TSC generates results that are close to the real values, even when there is a



**Figura 1.** Escala diagramática de severidad para el Complejo Mancha de Asfalto del Maíz.  
**Figure 1.** Diagrammatic severity scale for the Tar Stain Complex in Maize.

reales (Nutter *et al.* 1991), medida por el intercepto  $b_0$  y el coeficiente  $b_1$  del modelo lineal, fue mayor para los evaluadores con experiencia en la cuantificación de enfermedades (Cuadro 1). Los valores del intercepto  $b_0$  fueron más cercanos a cero para el primer grupo. El valor del intercepto  $b_0$  fue positivo en casi todos los casos, lo que indica que hay una tendencia hacia sobreestimar la severidad de la enfermedad; esta tendencia fue mayor en los evaluadores sin experiencia. En base a la hipótesis de nulidad ( $a=0$  o  $b=1$ ), el coeficiente  $b_1$  fue estadísticamente igual a 1 ( $P<0.01$ ) para la mayoría de los evaluadores, indicando que la evaluación del CMA arroja resultados cercanos a los valores reales, aún cuando existe la tendencia hacia sobreestimar los mismos; Nascimiento *et al.* (2005) señalan que una sobreestimación en la mayoría de los evaluadores indica la presencia de desvíos positivos constantes para todos los niveles de severidad de la enfermedad.

De acuerdo a Sherwood *et al.*, (1983) las hojas con severidades similares pero con un número

tendency to overestimate them. Nascimiento *et al.* (2005) point out that an overestimation of the majority of evaluators indicates the presence of positive constant deviations for all levels of severity of the disease.

According to Sherwood *et al.*, (1983) the leaves with similar severities but with a different number of lesions generate a tendency to overestimate the disease, mainly when the number of lesions is high and their size is small, such is the case of TSC, where the usual symptom denominated “fish-eye” is presented in a high number of lesions. The overestimation of the severity levels using logarithmic scales has been common in several pathosystem. This has been reported, among others, by Barbosa *et al.*, (2006) for *Puccinia horiana*; and Aquino *et al.*, (2008) for *Ramularia gossypii*.

The precision (reproducibility or variation associated with an estimation), estimated by the coefficient of determination ( $r^2$ ) and by the variability of the absolute errors (Nutter *et al.*, 1991),

**Cuadro 1.** Estimación de los parámetros de intercepción ( $b_0$ ), pendiente ( $b_1$ ) y coeficiente de determinación ( $r^2$ ) del análisis de regresión lineal simple calculado entre la severidad real y estimada del CMA, realizada por 10 evaluadores con y sin experiencia en la cuantificación de enfermedades.

**Table 1.** Estimate of the interception parameters ( $b_0$ ), slope ( $b_1$ ), and coefficient of determination ( $r^2$ ) of the simple linear regression analysis calculated between the real and estimated severity of TSC, carried out by 10 evaluators with and without experience in the quantification of diseases.

Evaluador	Con Experiencia			Evaluador	Sin Experiencia		
	$b_0$	$b_1$	$r^2$		$b_0$	$b_1$	$r^2$
1	2.52	1.01	0.91	6	12.53**	1.01	0.70
2	2.63	0.96	0.81	7	12.14**	0.97	0.80
3	0.09	0.99	0.83	8	5.10*	0.93	0.72
4	3.79	1.04	0.92	9	-5.73*	0.94	0.72
5	2.25	0.95	0.85	10	20.91**	0.89*	0.65
Media	2.26	0.99	0.87	Media	8.99	0.95	0.72

\*, \*\* Situación donde el valor del intercepto de la recta ( $b_0$ ) o el coeficiente de la pendiente ( $b_1$ ) fueron estadísticamente diferentes de 0 y 1 respectivamente; basado en la prueba de T con  $\alpha=0.05$  y  $0.01$ , respectivamente / \*, \*\*Situation where the intercept value of the line ( $b_0$ ) or the coefficient of the slope ( $b_1$ ) were statistically different from 0 and 1 respectively; based on the T test with  $\alpha=0.05$  and  $0.01$ , respectively.

diferente de lesiones generan una tendencia a sobreestimar la enfermedad, principalmente cuando el número de lesiones es muy alto y su tamaño pequeño, tal es el caso de CMA, donde el típico síntoma denominado “ojo de pescado” se presenta en un gran número de lesiones. La sobreestimación de los niveles de severidad utilizando escalas logarítmicas ha sido común en varios patosistemas, así lo han reportado entre otros, Barbosa *et al.*, (2006) para *Puccinia horiana*; y Aquino *et al.*, (2008) para *Ramularia gossypii*.

La precisión (repetitividad o variación asociada con una estimación), estimada por el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y por la varianza de los errores absolutos (Nutter *et al.*, 1991) fue mucho mayor en aquellos evaluadores con experiencia, fluctuando en el rango de 0.81 a 0.92 (Figura 2). Los niveles de precisión observada indican que el primer contacto con la escala es adecuado para ser implementada exitosamente en la evaluación del CMA. Al respecto, Michereff *et al.*, (2006) determinaron valores de precisión adecuados en una primera evaluación con el uso de escalas; en contraparte, Tovar *et al.*, (2002) tuvieron que familiarizar a los evaluadores para incrementar los valores de precisión y exactitud.

Los valores de precisión observados en los evaluadores sin experiencia son aceptables; un entrenamiento previo podría tener una influencia positiva en la calidad de las evaluaciones. Esto ha sido demostrado para otros patosistemas: Barbosa *et al.* (2006) y Aquino *et al.*, (2008) elevaron considerablemente la exactitud y precisión de las estimaciones de evaluadores sin experiencia luego de entrenamientos previos; los mismos autores señalan que no hubo una mejora significativa para aquellos evaluadores experimentados.

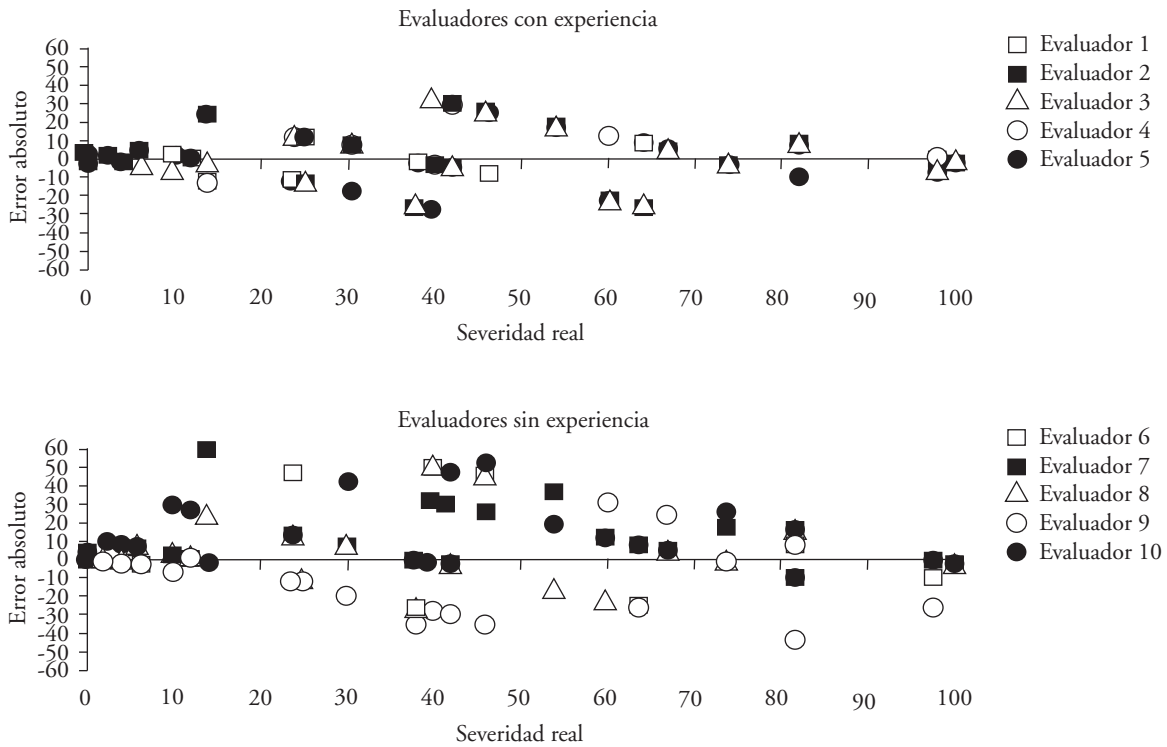
La reproducibilidad de la escala fue alta, dado que diferentes evaluadores, utilizando una misma escala en la evaluación del material, estimaron porcentajes similares de severidad. La regresión lineal

was greater for those evaluators with experience, fluctuating in the range of 0.81 to 0.92 (Table 1; Figure 2). The precision levels observed indicate that the first contact with the scale is appropriate for successful implementation in the evaluation of TSC. In regards to this, Michereff *et al.*, (2006) determined precision values appropriate for a first evaluation with the use of scales; conversely, Tovar *et al.*, (2002) had to familiarize the evaluators in order to increase precision and accuracy.

The precision values observed in the evaluators without experience are acceptable; prior training could have a positive influence on the quality of the evaluations. This has been demonstrated for other pathosystems: Barbosa *et al.*, (2006) and Aquino *et al.*, (2008) considerably elevated the accuracy and precision of the estimations of the evaluators without experience after prior training. The same author indicates that there was no significant improvement for the experienced evaluators.

The reproducibility of the scale was high using the same scale for the assessment of the material, given different evaluators estimated similar severity percentages. The linear regression of the severities estimated by the evaluators produced coefficients of determination that varied within the range of 65 to 91 (Table 1). Therefore, the use of the diagrammatic scale for the evaluation of TSC generates a high concurrence with the real severity values, reflected in a high precision among the evaluators.

Hock *et al.*, (1992) developed a scale that was also based on the logarithmic law for the in-field evaluation of the severity of TSC; however, the obtained precision values were not adequate. This was due to the complicated quantification system and to the elevated number of classes with which it was developed; furthermore, it considered the symptoms caused by both infectious agents separately. In this study, the symptoms of *P. maydis* and *M. maydis* were considered together, resulting



**Figura 2.** Errores absolutos (severidad real - severidad estimada) de las evaluaciones del CMA con el uso de la escala logarítmica; en la parte superior los evaluadores con experiencia en la cuantificación de enfermedades, en la parte inferior los evaluadores sin experiencia.

**Figure 2.** Absolute errors (real severity – estimated severity) of the TSC evaluations with the logarithmic scale; at the top: experienced evaluators in the quantification of diseases, at the bottom, inexperienced evaluators.

de las severidades estimadas por los evaluadores produjo coeficientes de determinación que variaron en el rango de 65 a 91 (Cuadro 1). Por lo tanto, el uso de la escala diagramática para la evaluación del CMA produce una alta concordancia con los valores reales de severidad, reflejado en una alta precisión entre los evaluadores.

Hock *et al.*, (1992) desarrollaron una escala basada también en el principio logarítmico para la evaluación en campo de la severidad del CMA, sin embargo, los valores de precisión obtenidos no resultaron adecuados, esto debido al complicado sistema de cuantificación y al número elevado de clases con el cual fue desarrollada; además consi-

in the observance of the combined symptoms of the disease by the evaluator.

Finally, the use of standardized systems for the quantification of maize diseases, and those of any other crop, proves to be a powerful tool as it allows the perfect comparison of experiments carried out by different institutions and investigators. The diagrammatic logarithmic scale for the TSC proposed in this study represents a standardized quantification method for the disease that will help obtain easily reproducible results, due to its high levels of accuracy and precision among several evaluators, therefore, it can be used as supporting material for different



deraba de manera separada los síntomas producidos por ambos agentes infecciosos. En este estudio se consideraron conjuntamente los síntomas de *P. maydis* y *M. maydis* dando como consecuencia que el evaluador se fije de manera conjunta en los síntomas de la enfermedad.

Finalmente, el uso de sistemas estandarizados para la cuantificación de enfermedades en maíz, y en cualquier otro cultivo, resulta ser una poderosa herramienta dado que permite la perfecta comparación de experimentos llevados a cabo por diferentes instituciones e investigadores. La escala logarítmica diagramática para el CMA propuesta en este estudio representa un método estandarizado de cuantificación de la enfermedad que ayudará a obtener resultados fácilmente reproducibles, ya que provee de altos niveles de exactitud y precisión entre diversos evaluadores, por lo que puede ser utilizada como material de apoyo para estudios de diversa índole relacionados con la cuantificación de la severidad del CMA.

#### Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a todos los evaluadores del Colegio de Postgraduados que participaron en las etapas de validación de la escala logarítmica.

## LITERATURA CITADA

- Aquino LA, Berger PG, Rodríguez FA, Zambolim L, Hernández FR, Miranda LM. 2008. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de ramularia do algodoeiro. *Summa Phytopathologica* 34(4):361-363.
- Barbosa MA, Michereff SJ, Mora AG. 2006. Elaboration and validation of diagrammatic key to evaluate white rust severity in *Chrysanthemum*. *Summa Phytopathologica* 32:57-62.
- Gómez MN, González CM, Cantú AM, Sierra MM, Coutiño EB, Manjarrez SM. 2013. "H-563", Híbrido de maíz tropical tolerante a la enfermedad "Mancha de asfalto". *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(1):81-83.
- Hock J, Kranz J, Renfro BL. 1989. El "complejo mancha de asfalto" del maíz, su distribución geográfica, requisitos ambientales e importancia económica en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 7(2):129-135.
- Hock J, Kranz J, Renfro BL. 1992. Tests of standard diagrams for field use in assessing the tarspot disease complex of maize (*Zea mays*). *Tropical Pest Management* 38:314-318.
- Michereff SJ, Noronha MA, Andrade DEG, Oliveira EP, Xavier FMS, Moreira PAA. 2006. Development and validation of diagrammatic key for *Cercospora* leaf spot of sweet pepper. *Summa Phytopathologica* 32(3):260-266.
- Mora AG, Rivas VP, Góngora CC, Tovar SA, Cristóbal AJ, Loeza KE, Michereff JS, Marinelli A, Osada VK. 2000. Sistemas computarizados en la epidemiología: 2-Log ver. 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola. Puerto Vallarta, México.
- Nascimento RPA, Michereff JS, De la Rosa LR, Gómez MAA. 2005. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. *Summa Phytopathologica* 31: 59-64.
- Nutter FW, Teng PS, Shokes FM. 1991. Disease assessment terms and concepts. *Plant Disease* 75: 1187-1188.
- Pereyda HJ, Hernández MJ, Sandoval IJS, Aranda OS, De León GC, Gómez MN. 2009. Etiología y manejo de la mancha de asfalto (*Phyllachora maydis* Maubl.) del maíz en Guerrero, México. *Agrociencia* 43(5):511-519.
- Sherwood RT, Berg CC, Hoover MR, Zeiders KE. 1983. Illusions in visual assessment of *Stagonospora* leaf spot of orchardgrass. *Phytopathology* 73(2): 173-177.
- Tovar SA, Hernández MM, Cristóbal AJ, Romero HR, Mora AG. 2002. Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en Chirimoyo (*Annona cherimola* M.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:103-109.

~~~~~ Finaliza la versión en Inglés ~~~~~