

ITSEIN: software para el cálculo del límite de tolerancia a *Meloidogyne* spp. en cultivos de importancia económica



ITSEIN: software for the calculation of the tolerance limit to *Meloidogyne* spp. in crops of economic importance

<https://eqrcode.co/a/hsQrsm>

Dunia Pineda¹, Ileana Miranda¹, Daine Hernández-Ochandía¹, Mayra G. Rodríguez¹,
 Ricardo Holgado^{2*}

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Carretera Jamaica y Autopista Nacional, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

²Norwegian Institute for Bioeconomic Research (NIBIO). P.O. Box. 115, 1431 Ås. Noruega.

RESUMEN: El presente trabajo tuvo como objetivo implementar un sistema informático para el cálculo del límite de tolerancia al nematodo agallador *Meloidogyne* spp. A partir del modelo exponencial de Seinhorst, este sistema informático se nombró, por los autores, ITSEIN (Índice de Tolerancia Seinhorst). El sistema se creó en R 3.5.0, con el IDE de desarrollo RStudio 1.1.447 y la librería para implementar interfaz de usuario *Shiny*. Los datos iniciales son introducidos por el usuario o importados desde un archivo *.csv. Permite graficar, al unisono, las curvas Seinhorst de varios cultivares, lo que facilita compararlos según la densidad poblacional de nematodos que toleran. El sistema muestra parámetros estimados por la regresión no lineal (valor mínimo y pérdida esperada del parámetro agronómico evaluado e índice de tolerancia) y permite graficar la relación entre población inicial y población final del nematodo, expresada como factor de reproducción. Para la validación del sistema se emplearon datos experimentales de masa fresca de biomasa área obtenida a los 60 días después de inocular las plantas (denominados 1 y 2 a los efectos de este trabajo), con seis densidades poblacionales del nematodo (0,125; 0,250; 1; 4; 16 y 64 juveniles de segundo estadio (J_2) y huevos por gramo de sustrato). El programa ITSEIN permitió calcular los límites de tolerancia al nematodo agallador para cultivares cubanos de Papa *Solanum tuberosum* L., por lo que se demostró que el software es una herramienta de apoyo en la toma de decisiones y el establecimiento de estrategias para el manejo de nematodos agalleros.

Palabras clave: ecuación de Seinhorst, librería Shiny, límite de tolerancia, nematodos agalleros, RStudio.

ABSTRACT: The present work was aimed to implement a computer system for calculating the tolerance limit to the root-knot nematode *Meloidogyne* spp. From the exponential model of Seinhorst, a computer system was named ITSEIN (Seinhorst Tolerance Index) by the authors. The system was created in R 3.5.0, with the RStudio 1.1.447 development IDE and the library to implement the Shiny user interface. Initial data is entered or imported from a *.csv file by the user. It allows graphing the Seinhorst curves of various cultivars in unison, which facilitates comparing them according to the population density of nematodes they tolerate. The system displays parameters estimated by non-linear regression (minimum value and expected loss of the evaluated agronomic parameter and tolerance index) and allows graphing the relation between the initial population and the final population of the nematode, expressed as a reproduction factor. For validating the system, we used the experimental data collected from fresh mass areas (biomass area) obtained 60 days after inoculating potato plants (called 1 and 2 for the purposes of this work). Potato plants were inoculated with root-knot nematode juveniles (J_2) and eggs (inoculum) at six inoculum densities per gram of substrate (0,125; 0,250; 1; 4; 16 and 64). Calculation of the tolerance limits to the root-knot nematode for two cuban potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) was possible by using the ITSEIN program, being demonstrated that this software could be used as a support tool for the decision making and establishment of strategies for root-knot nematode management.

Key words: phytoparasitic nematodes, Rstudy, Shiny library, Seinhorst equation.

INTRODUCCIÓN

La modelación matemática es un mecanismo de pronóstico que puede y debe ser utilizado en los estudios de procesos biológicos. El uso de técnicas estadísticas, para una correcta interpretación de datos, con vínculo estrecho con programas avanzados de cómputo, constituye una alternativa robusta para la obtención de resultados en la mayoría de las ramas de la ciencia (1).

El modelo matemático, o ecuación de Seinhorst (2), expresa la relación de la densidad poblacional inicial de nema-

todos fitoparásitos con el daño que le pueda ocasionar al cultivo. La ecuación de Seinhorst describe la relación entre la densidad poblacional de nematodos que infestan las raíces al inicio del ciclo del cultivo y el rendimiento de las plantas atacadas; permite determinar hasta qué densidad poblacional del nematodo, los rendimientos de la planta no son gravemente afectados; esto se conoce como Límite de Tolerancia (LT) (2). Diversos autores indicaron los valores del LT para genotipos de valor agrícola (3, 4) elementos imprescindibles en la toma de decisiones, para el diseño e implantación de estrategias de prevención y manejo de la plaga (5, 6).

* Correspondencia a: Ricardo Holgado. E-mail: ricardo.holgado@nibio.no

Recibido: 03/02/2021

Aceptado: 28/07/2021

Para la obtención de este modelo u otros, que relacionen la pérdida (en magnitud) de una variable agronómica con la densidad poblacional, aún se emplean programas estadísticos convencionales. Así por ejemplo, Moosavi (6) empleó SigMaPlot; mientras que, Shaver *et al.* (7) utilizaron SAS y Seid *et al.* (8) SPSS.

Hacia fines de los años 90, Viaene *et al.* (9) desarrollaron un sistema informático que, a partir de datos experimentales, ajustaba el modelo de la relación entre las densidades poblacionales de nematodos y el crecimiento de las plantas. La base de este sistema utilizó versiones para Macintosh y Mac; sin embargo, resulta inaccesible en algunos países. Adicionalmente, el sistema no muestra las curvas de las poblaciones en un mismo gráfico, lo que dificulta la comparación de los límites de tolerancia de dos o más cultivares.

Hacia mediados de la pasada década, se creó otro programa avanzado para el control de nematodos en cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.), que se denomina NemaDecide. Este sistema es un programa comercial, con licencia de pago, que actualmente se ofrece a los productores de papa con problemas relacionados con la presencia de nematodos de quistes de la Papa y emplea el límite de tolerancia como una de las variables de entrada (10).

En la actualidad, la mayoría de los autores utilizan el paquete estadístico R (4, 11, 12), por su riqueza en librerías y múltiples aplicaciones, además de ser un *software* gratuito. Pero, la complejidad de R para investigadores no afines a lenguajes de programación y la carencia de una interfaz de usuario amigable, impone una barrera para su explotación.

El lenguaje de programación R es preciso, incorpora mayor automatización en operaciones matemáticas, facilita análisis estadísticos avanzados y es capaz de leer la mayoría de los formatos provenientes de diversos paquetes estadísticos, entre otras múltiples ventajas.

El objetivo de este trabajo fue implementar en R, con interfaz de usuario amigable, un sistema informático para el cálculo del límite de tolerancia a nematodos agalleros de uno o varios cultivares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la implementación del sistema se utilizó el paquete estadístico R v.3.5.0, con el IDE de desarrollo RStudio v.1.1.447 y la librería *Shiny* para desarrollar aplicaciones web interactivas.

El server R es un software libre y de código abierto, diseñado para el análisis estadístico de los datos, disponible en plataformas Windows, Unix, Linux, MacOS. Se basa en el lenguaje de programación R; lenguaje bien desarrollado, simple y efectivo, orientado a objetos, facilita la edición de funciones y su implementación. Como característica importante, posee una lista extensa de librerías que enriquecen sus múltiples aplicaciones, lo que lo convierte en una de las herra-

mientas más potentes que existen en la actualidad para la ejecución de análisis estadístico y la representación gráfica de los resultados (13).

En esta lista se encuentra *Shiny*, paquete de R que permite implementar aplicaciones web dinámicas y de fácil interacción para el usuario común (14). El sistema, además, depende de otras librerías como: *reshape*, *broom*, *xtable*, *gdata*, *shinyjs*, *DT*, *minpack*. *lm*, *readr* y sus dependencias.

Para la modelación matemática, se trabajó con la primera ecuación de Seinhorst: $y = m + (1 - m) * z^{Pi - T}$, donde y es la producción relativa, m es la producción mínima relativa, Pi es la población inicial del nematodo que interactúa con el cultivo, T es el límite de tolerancia ante la plaga y z es una constante de estimación del modelo (2).

Se incluyó el cálculo del punto de equilibrio, definido como el valor para el cual $P_i = P_f$ (15), donde P_f es población final. Este punto se halló a partir del cálculo del punto de corte de la ecuación $P_f = a \cdot \ln(P_i) + b$ y la recta $P_i = P_f$. En el modelo a se describe el cambio promedio de la densidad del nematodo, cuando su población inicial se incrementa y en b , el promedio de la población final cuando la inicial es 1.

Para cada densidad poblacional, se calculó el Factor de reproducción (FR= Población final (Pf) / Población inicial (Pi) (16).

Para la validación del programa ITSEIN, se emplearon datos experimentales obtenidos de las evaluaciones, en condiciones semicontroladas, de dos cultivares cubanos de papa (*Solanum tuberosum* L.) obtenidos en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y evaluados en el Laboratorio de Nematología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

Las plantas se inocularon con una serie geométrica de densidades poblacionales de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood juveniles de segundo estadio (J_2) y huevos por gramo de sustrato a densidades de 0,125; 0,250; 1; 4; 16 y 64. El inóculo de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood se obtuvo utilizando la técnica de Hussey y Barker (17). Transcurridos 60 días, se determinaron la población final del nematodo y de la planta la masa fresca de biomasa área.

RESULTADOS

Al comparar los resultados obtenidos con el programa ITSEIN ($Z=0,75$) y con los estimados por el programa SAS 9.0, se obtuvo un valor inferior ($Z=0,31$); esto puede deberse a que R permite seleccionar el método Gauss-Newton para la estimación; mientras que, SAS y otros paquetes estadísticos, solo incluyen el algoritmo numérico de Gauss o el de Newton y no el método combinado; y es precisamente el método combinado el que muestra una mejor estimación de los parámetros.

ITSEIN es un programa de multiplataforma, que requiere un mínimo de 32 MB de RAM, conexión a Internet para instalar las librerías necesarias y espacio de disco superior a 80 MB, para la utilización de imagen u otros elementos recuperados. Su despliegue se puede ejecutar también desde un servidor *Shiny* Server que requiere un mínimo de CPU de 2 CORE y memoria de 4G (18). Esto favorece su aplicación web y la multiplicidad de usuarios.

La entrada de datos se realiza en el panel izquierdo del sistema y se puede manejar en dos variantes: (i) insertar los datos iniciales directamente en el sistema e (ii) importarlos desde un archivo .csv.

Para la primera opción (i), aparece un campo a llenar con las densidades poblacionales iniciales (P_i), donde las poblaciones deben separarse por comas y los puntos delimitarán los valores decimales. Una vez cubierto este atributo, se debe especificar el número de cultivos que se van a analizar (número de variedades o genotipos) y, en dependencia del valor seleccionado, aparecerá una serie de campos a llenar para cada cultivar. Posteriormente, el usuario introducirá el nombre del cultivar (variedad o genotipo), el valor del vector de la variable agronómica a evaluar (ej. masa aérea foliar) (vector) y la población final. (Fig. 1A)

Para la segunda variante (ii), los datos se deben gestionar desde Microsoft Excel o algún programa afín, ya que la base de datos que se introduce es en formato .csv MACINTOSH. Para que la importación carezca de errores, los datos deben tener la siguiente estructura: la primera columna será la población inicial, la segunda el valor de la variable agronómica medida identificada, por el nombre del cultivar, la tercera columna es la población final para ese cultivar. En caso de estudiar más de un cultivar, se continúa

agregando columnas con los valores de la variable agronómica y de la población final. (Fig. 1B)

Las salidas del sistema se muestran en el panel derecho y se dividen en dos módulos: (i) Modelo de Seinhorst y (ii) Modelo Población inicial vs. Población Final.

Para la modelación de Seinhorst, se obtuvo la constante z , con la que se procedió a calcular el límite de tolerancia a nematodo ($Z^{-T} = 1.05$, (19)) y el porcentaje de disminución de la variable agronómica

$1 - \frac{\hat{y}}{\max(\hat{y})}$. Este módulo tiene como salidas la estimación del parámetro Z para cada modelo, el índice de tolerancia (Fig. 2) y una gráfica comparativa para conocer qué cultivar soporta mayor nivel de nematodos sin mostrar afectación de la variable agronómica en estudio. (Fig. 3)

El módulo Modelo Población inicial vs Población Final muestra la relación logarítmica de estos estados y calcula, además, el factor de reproducción (FR). Mediante esta última ecuación se puede evidenciar el punto en el cual se alcanza la densidad de equilibrio, definido como punto de corte entre la relación logarítmica y la recta $P_i = P_f$ (20) (Fig. 4)

DISCUSIÓN

El estudio del Límite de tolerancia (LT) de un cultivar, a una especie de nematodo fitoparásito, ofrece elementos relacionados con su resistencia/susceptibilidad a esa plaga, útiles para el manejo eficiente del nematodo en condiciones de campo; el sistema informático ITSEIN constituye una herramienta favorable para este propósito. Este sistema tiene, además, una interfaz de usuario amigable, comprensivo y fácil de emplear.

A

Insertar datos Importar datos

Población Inicial:

0,0,125,0,5,1,4,16,64

Las poblaciones se deben separar por comas y los puntos delimitarán los valores decimales

Número de variedades:

2

Las variedades se deben separar por comas y los puntos delimitarán los valores decimales

Variedad 1 Vector Población final

Variedad 2 Vector Población final

Summary Limpiar

B

Insertar datos Importar datos

Examinar

Browse... datos_variedades.xlsx

Upload complete

La base de datos entrada debe estar en formato .csv MACINTOSH y estructurada como se muestra en el ejemplo siguiente:

P	VariedadA	PF1	VariedadB	PF2
0.00	89.89	40.36	66.36	66.36
0.12	10.21	28.98	127.57	127.57
0.25	9.27	23.30	16.14	88.14
1.00	6.37	20.04	18.29	90.29
4.00	7.49	10.50	10.43	31.43
16.00	11.09	3.35	48.57	41.57
64.00	10.13	2.00	60.57	70.80

La primera columna será la población inicial, y en el resto de las columnas se pondrá las variedades con su nombre y población final

Aceptar Limpiar

Figura 1. Entrada de datos al sistema. A) Interfaz de inserción directa de datos al ITSEIN; B) Importación de datos desde archivo externo (csv). / Data entry to the system. A) Interface for direct insertion of data to ITSEIN; B) Import of data from external file (csv).

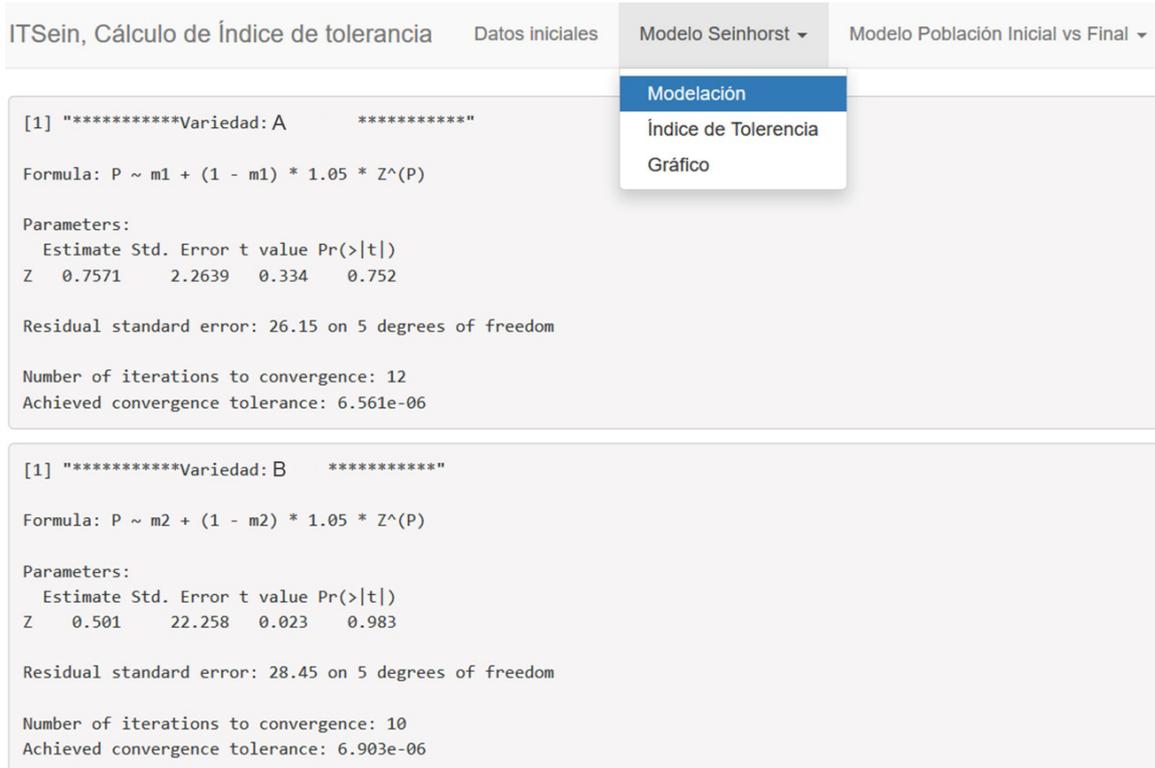


Figura 2. Salida de la Ecuación de Seinhorst utilizando el programa ITSein. / Output of the Seinhorst Equation using the ITSein program.

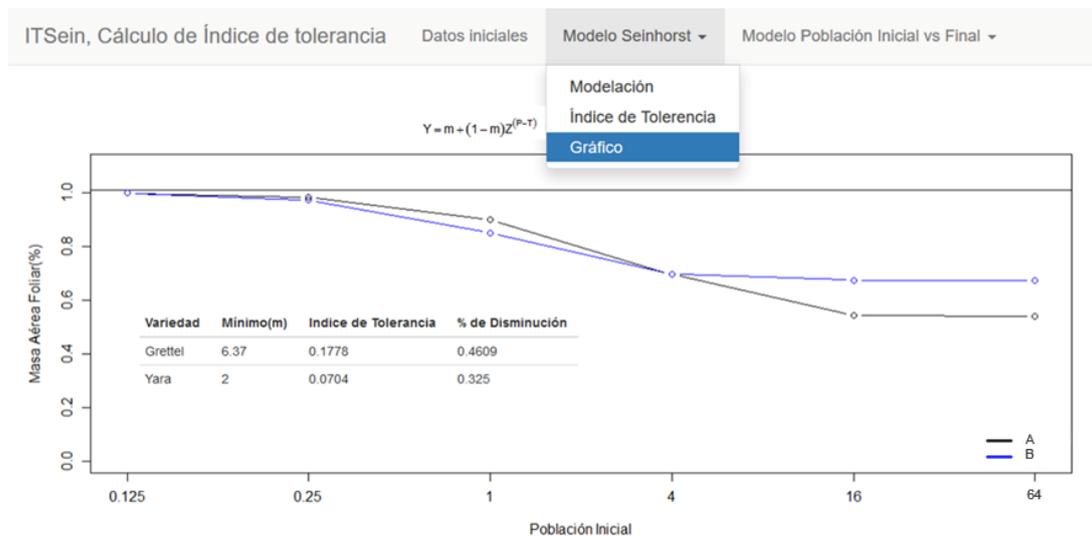


Figura 3. Interfaz gráfica de las estimaciones y curvas de predicción de la ecuación de Seinhorst obtenidas con el uso del Programa ITSein. / Graphical interface of the estimates and prediction curves of the Seinhorst equation obtained with the use of the ITSein Program.

La estimación de z para el modelo de Seinhorst y de los coeficientes de regresión del modelo logarítmico obtenidos con ITSEIN no difieren, significativamente, de los estimados con InfoStat, al compararse según su intervalo (21). Esto demuestra la efectividad del sistema informático creado. Al mismo tiempo, el programa ITSEIN tiene soporte en entorno web y, por tanto, posibilita la interconectividad, interoperabilidad y multiplicidad de usuarios.

Este programa de computador ITSEIN es una herramienta que facilita la interpretación del proceso de interacción planta-nematodo y contribuirá, de manera práctica, a la selección de cultivares, en dependencia del LT frente a poblaciones de nematodos fitoparásitos, para su uso eficiente en programas de manejo de nematodos agalleros.

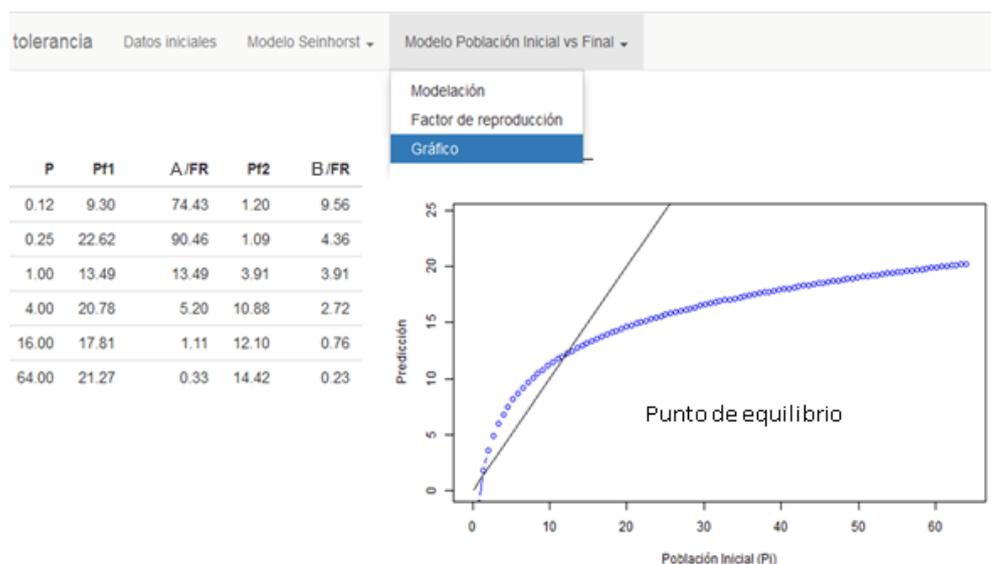


Figura 4. Interfaz gráfica del cálculo del factor de reproducción y la curva de predicción de la densidad de equilibrio. / Graphic interface for the calculation of the reproduction factor and the equilibrium density prediction curve.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue elaborado en el marco del proyecto “Uso eficiente de genotipos de cultivos de valor estratégico y su respuesta ante especies de *Meloidogyne*”, financiado por el Programa Nacional de Ciencia y Técnica de Salud Animal y Vegetal, Cuba. Los autores agradecen los señalamientos y valiosas sugerencias de los revisores que contribuyeron a la mejora de este trabajo.

REFERENCIAS

- Barreto A. El progreso de la Estadística y su utilidad en la evaluación del desarrollo. 2012; 18:241-271.
- Seinhorst JW. The relation between nematode density and damage to plants. Nematologica. 1965; 11:137-154.
- Willem J. The common relation between population density and plant weight in pot and microplot experiments with various nematode plant combinations. Fundam appl Newal.1998;21(5):459-468
- Teklu MG, Meressa BH, Radtke E, Been TH, Hallmann J. Damage thresholds and population dynamics of *Pratylenchus penetrans* on carrot (*Daucus carota* L. cv. Nerac) at three different seed densities. European Journal of Plant Pathology. 2016;146(1):117-127
- Blasco AG, López-Gómez M, Vela MD, Longarón CO, Rubia MT, Verdejo-Lucas S, et al. Requeriments tèrmics i dinàmica de població de *Meloidogyne* spp. en cogombre i pèrdues de producció en hivernacle. Quaderns agraris. 2014:17-26.
- Moosavi MR. Damage of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* to bell pepper, *Capsicum annuum*. Journal of Plant Diseases and Protection. 2015; 122(5-6):244-249.
- Shaver BR, Agudelo P, Martin SB. Damage functions for sting nematode (*Belonolaimus longicaudatus*) on bermudagrass turf. International Turfgrass Society Research Journal. 2017;13(1):517-523
- Seid A, Fininsa C, Mekete TM, Decraemer W, Wesemael WM. Damage potential of *Meloidogyne incognita* populations on selected tomato genotypes in Ethiopia. Nematropica. 2019;49(1):124-133.
- Viaene NM, Simoens P, Abawi GS. SeinFit, a computer program for the estimation of the Seinhorst equation. Jour. Nematol. 1997;29(4):474.
- Been TH, Schomaker CH, Molendijk LP. NemaDecide: a decision support system for the management of potato cyst nematodes. Potato in progress: science meets practice, Potato. 2005:143-155.
- Heve WK, Been TH, Schomaker CH, Teklu MG. Damage thresholds and population dynamics of *Meloidogyne chitwoodi* on carrot (*Daucus carota*) at different seed densities. Nematology. 2015;17(5):501-514.
- Meressa BH, Dehne HW, Hallmann J. Population dynamics and damage potential of *Meloidogyne hapla* to rose rootstock species. Jour. of Phytopathol. 2016; 164(10):711-721.
- Mirabal Sosa M, Robaina García M, Uranga Piña R. R: una herramienta poco difundida y muy útil para la investigación clínica. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2010;29(2):302-308.

14. Carmona F. Taller 2: Shiny: aplicaciones web interactivas con r. VI GENAEIO I 2015: VI JORNADAS DE ENSEÑANZA Y APRENDIZAJE DE LA ESTADISTICA Y LA INVESTIGACIÓN OPERATIVA. 2016; 208:21.
15. Crozzoli R. La Nematología Agrícola en Venezuela. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Maracay, Venezuela.
16. Oostenbrink M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen. Nederland. 1966; 66-4:632-651.
17. Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Dis Report. 1973; 57:1025-1028
18. Allaire J. RStudio: integrated development environment for R. Boston, MA. 2012;770:394.
19. Crozzoli R. La Nematología Agrícola en Venezuela. 2014. Ediciones de la Facultad de Agronomía Universidad Central de Venezuela Maracay. Venezuela. ISBN: 978-980-00-2797-4. Pp 82-90.
20. Schomaker CH, Been TH. Plant growth and population dynamics. In R. N. Perry & M. Moens (Eds.), Plant nematology. 2013 (2nd ed., pp. 301-330). Wallingford: CAB International.
21. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo YC. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>. 2011; 8:195-199.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Dunia Pineda Medina** desarrolló la herramienta informática, realizó la escritura del artículo y su revisión. **Ileana Miranda Cabrera** concibió la idea del estudio, orientó la realización de la aplicación informática y el modelo matemático a utilizar y contribuyó en la escritura del artículo y su revisión. **Mayra G. Rodríguez Hernández** realizó búsqueda de información, redacción de antecedentes de la investigación, participó en la discusión de los resultados, contribuyó en la escritura del artículo y su revisión. **Daine Hernández-Ochandía** participó en la validación del sistema y en la discusión de los resultados. **Ricardo Holgado** participó en la discusión de los resultados, realizó búsqueda de información e incidió en la redacción de la versión final del artículo recibido.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)