

ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA A QUANTIFICAÇÃO DE BRUSONE EM ESPIGAS DE TRIGO

João Leodato Nunes Maciel¹, Anderson Luiz Durante Danelli², Cristina Boaretto³, Carlos Alberto Forcelini⁴

¹Pesquisador, Embrapa Trigo, Rod. BR-285, Km 294, 99001-970, Passo Fundo, RS. E-mail: joao.nunes-maciel@embrapa.br; ²Estudante de Pós-Graduação em Agronomia-PPGAgro, Bolsista Capes/Prosup/Universidade de Passo Fundo (UPF); ³Estudante de Graduação em Agronomia, UPF; ⁴Professor, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UPF, 99001-970, Passo Fundo, RS.

A brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* B. Couch (anamorph. *Pyricularia oryzae* Cavara), constitui um dos principais entraves à produção de trigo no Brasil. Considerando que as cultivares de trigo que são disponibilizadas aos produtores são bastante suscetíveis a esta doença, a geração de genótipos com níveis mais elevados de resistência representa um componente indispensável da estratégia para o seu controle. A melhoria do processo de avaliação da reação dos genótipos à brusone integra esse contexto. Nesse sentido, uma dificuldade adicional é a ausência de uma escala diagramática para auxiliar no processo de avaliação da severidade da doença em espigas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma escala diagramática que auxilie na quantificação da brusone em espigas de trigo.

Cem espigas de trigo com sintomas de brusone foram coletadas em uma lavoura da cultivar Pioneiro, em Londrina, PR, durante a safra de 2012. As espigas coletadas foram colocadas em sacos de papel e levadas até o laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, onde foram mantidas à -20 °C. Após a sua hidratação (30 min dentro de um béquer com água), as espigas foram fotografadas individualmente. Foram colocadas sobre uma folha de papel branco disposta sobre uma mesa, tendo sido colocado uma régua na parte de baixo ou lateral da folha. O posicionamento das espigas foi com a parte mais afetada pela doença no sentido frontal à câmera fotográfica.

As fotografias foram tomadas a uma distância aproximada de 50 cm das espigas usando uma máquina fotográfica digital marca Sony (Cybershot DSC/H7/H9). Os valores de área total, sadia e sintomática de cada espiga foram determinados utilizando o programa Image J (Schneider *et al.*, 2012). A unidade de medida das variáveis foi cm², a qual foi estabelecida baseada na calibração de dimensões feita a partir da escala da régua que estava embaixo ou ao lado das espigas. Um padrão binário de cores foi utilizado para determinar a área total das espigas, as quais assumiram a cor preta sobre o fundo branco. A seleção e quantificação da área afetada pela doença nas espigas foi realizada fazendo uso dos recursos que o programa Image J dispõe. As regiões sintomáticas foram marcadas com o cursor do mouse e subtraídas da área total das espigas, obtendo-se a proporção e/ou a severidade da doença nas espigas. As aristas das imagens foram marcadas e desconsideradas como áreas das espigas. As condições de uso do programa foram as seguintes: 8 bits/pixel; 0,1% de saturação de pixel e todas as partículas detectadas (qualquer tamanho; 0 ao infinito) foram consideradas na análise.

Optou-se por espigas com aristas para elaboração da escala diagramática por ser esta a característica da grande maioria das cultivares utilizadas no Brasil. Entre as 100 espigas coletadas, a severidade mínima e máxima encontrada foi de 3,5% e 100%, respectivamente. Estes valores foram considerados na elaboração da escala diagramática como limites inferior e superior, respectivamente, para espigas sintomáticas. No total, 10 espigas compuseram a escala diagramática, sendo uma delas assintomática e as demais com diferentes valores de severidade de brusone (Figura 1). A escala diagramática elaborada no presente trabalho seguiu a "Lei de Weber-Fechner" (incrementos logarítmicos), sem necessariamente ter utilizado somente um nível de severidade de cada um dos intervalos propostos por Horsfall & Barratt (1945), que são os seguintes: 1 (0), 2 (0%-3%), 3 (3%-6%), 4 (6%-12%), 5 (12%-25%), 6 (25%-50%), 7 (50%-75%), 8 (75%-88%), 9 (88%-94%), 10 (94%-97%), 11 (97%-100%) e 12 (100%). De acordo com Campbell & Madden (1990), citado por Martins *et al.* (2004), alguns autores têm hesitado em usar escalas elaboradas com esse princípio, principalmente devido ao grande

intervalo apresentado nas severidades médias, com apenas dois níveis entre 25% e 75% de severidade de doença. No caso da escala que está sendo apresentada neste trabalho, isto é válido para as espigas com severidade de 30,5% e 44,0%, em que ambas pertencem ao intervalo 6 (25%-50%), e para as espigas com 57,5% e 68,0% de severidade, às quais pertencem ao intervalo 7 (50%-75%).

Por meio dos mesmos procedimentos descritos acima para elaboração da escala diagramática, determinou-se a severidade de brusone em 40 imagens digitalizadas de espigas sintomáticas da doença, sendo que em cada imagem havia uma espiga. Essas imagens foram apresentadas em uma tela de computador para oito pessoas, as quais estimaram a severidade da doença com o auxílio da escala diagramática elaborada no presente trabalho. A acurácia e a precisão das estimativas visuais de cada avaliador foram determinadas por meio de análise de regressão linear, considerando a severidade real como variável independente e a severidade estimada como variável dependente. A acurácia de cada avaliador foi determinada por meio do teste *t* aplicado ao coeficiente angular da reta (*b*) e ao coeficiente linear da reta (*a*), ambos obtidos pela regressão linear (severidade real *versus* severidade estimada). A precisão das estimativas foi avaliada pelo coeficiente de determinação da regressão (R^2), variância dos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) e raiz quadrada do erro médio (Nutter Jr. & Schultz, 1995).

Para a maioria dos avaliadores, os valores estimados de severidade ficaram próximos dos valores da severidade real. Essa afirmativa é baseada na avaliação estatística obtida pelo teste *t* e pelo R^2 da regressão linear entre essas duas variáveis e apresentadas na Tabela 1. Esta proximidade entre a estimativa e a realidade determina a acurácia das avaliações, termo este, definido como a exatidão de uma medida sem erros sistemáticos, a qual pode ser medida pelos coeficientes angular (*b*) e linear (*a*) da regressão linear entre a severidade real e a estimada (Bergamin Filho & Amorim, 1996). A exceção foi o avaliador 6, para o qual constatou-se, pelo teste *t* que os valores de *a* e *b* significativamente diferentes de zero e um (1), respectivamente (Tabela 1). No

caso, esse avaliador subestimou a severidade da brusone nas espigas, uma vez que o coeficiente angular da regressão linear entre as severidades real e estimada foi significativamente menor que 1. A precisão pode ser avaliada por meio do valor de R^2 da regressão, que representa uma avaliação tanto mais precisa quanto mais próximo for de 1, e pela variação dos erros absolutos. Na escala elaborada no presente trabalho, pode-se afirmar que os avaliadores tiveram muito boa precisão, com o R^2 variando de 0,83 a 0,90.

Tem-se a expectativa de que a escala apresentada no presente trabalho possa ser usada por um grande número de técnicos e/ou pesquisadores no Brasil e, até mesmo, no exterior, em países onde a doença ocorre naturalmente como Bolívia e Paraguai.

Referências bibliográficas

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. Piracicaba. Agronômica Ceres, 1996. 299p.

HORSFALL, J.C.; BARRAT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, St. Paul, v.35, n.8, p.665, 1945. (Abstract).

MARTINS, M.C.; GUERZONI, R.A.; CÂMARA, G.M.S.; MATTIAZZI, P.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.2, p.179-184, 2004.

NUTTER JR, F.W.; SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.17, n.2, p.174-184, 1995.

SCHNEIDER, C.A.; RASBAND, W.S.; ELICEIRI, K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, London, v.9, n.7, p.671-675, 2012.

Tabela 1. Coeficientes linear (a), angular (b) e de determinação (R^2) e raiz do erro médio quadrático (REMQ) obtidos da regressão linear estabelecida entre a severidade real (variável independente) e a estimada (variável dependente) de brusone em 40 espigas determinadas por oito avaliadores usando a escala diagramática.

Coeficiente	Avaliadores							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>a</i>	-3,10	-3,83	2,94	2,20	-6,12	2,78*	0,18	0,64
<i>b</i>	1,07	1,11	0,91	1,09	1,16	0,85*	0,99	1,00
R^2	0,90	0,83	0,87	0,82	0,82	0,86	0,83	0,87
REMQ	7,39	10,38	8,45	10,60	11,45	8,47	8,89	7,72

*Hipóteses de $a = 0$ e $b = 1$ foram rejeitadas pelo teste t, no nível de significância de 0,05.

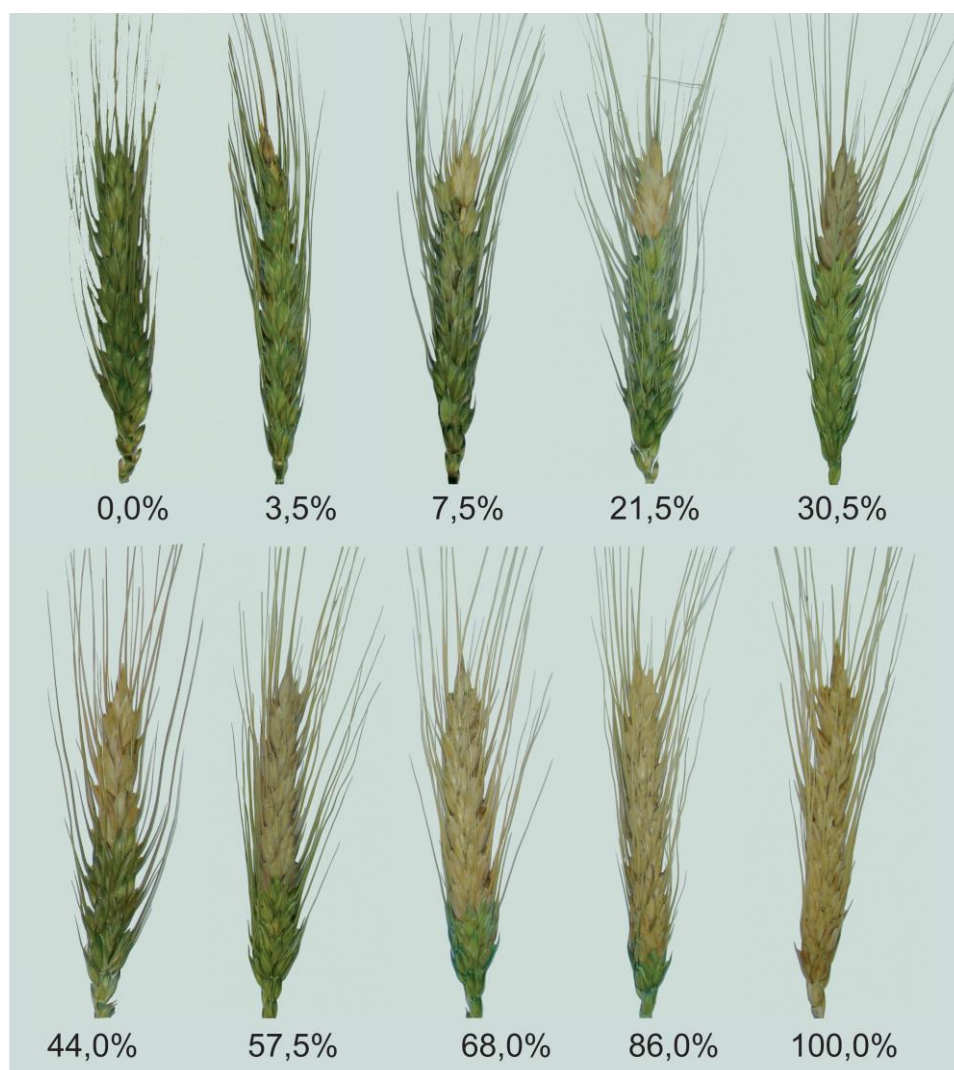


Figura 1. Escala diagramática para quantificação da severidade de brusone em espigas de trigo.