

**Desenvolvimento de Metodologia
para Avaliação da Mancha Branca
do Milho**



ISSN 1679-0154

Dezembro, 2010

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 26

Desenvolvimento de Metodologia para Avaliação da Mancha Branca do Milho

Alexandre Sandri Capucho
Laércio Zambolim
Henrique da Silva Silveira Duarte
Douglas Ferreira Parreira
Paulo Afonso Ferreira
Fabrício Eustáquio Lanza
Rodrigo Veras da Costa
Carlos Roberto Casela
Luciano Viana Cota
Dagma Dionísia da Silva

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

Home page: www.cnpms.embrapa.br

E-mail: sac@cnpms.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Antônio Carlos de Oliveira

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes, Paulo

Afonso Viana, João Herbert Moreira Viana, Guilherme Ferreira

Viana e Rosângela Lacerda de Castro

Supervisão editorial: Adriana Noce

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Luciano Viana Cota

1ª edição

1ª impressão (2010): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Desenvolvimento de metodologia para avaliação da mancha branca do milho / Luciano Viana Cota ... [et al.]. -- Sete Lagoas :

Embrapa Milho e Sorgo, 2010.

26 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 26).

1. Milho. 2. *Zea mays*. 3. Doença de planta. I. Cota, Luciano Viana. II. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

© Embrapa 2010

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusões	21
Referências	21

Desenvolvimento de Metodologia para Avaliação da Mancha Branca do Milho

Alexandre Sandri Capucho¹

Laércio Zambolim²

Henrique da Silva Silveira Duarte¹

Douglas Ferreira Parreira¹

Paulo Afonso Ferreira¹

Fabício Eustáquio Lanza¹

Rodrigo Veras da Costa³

Carlos Roberto Casela³

Luciano Viana Cota³

Dagma Dionísia da Silva³

Resumo

Uma escala diagramática para quantificar a severidade da mancha branca do milho foi elaborada e validada. Para elaboração da escala consideraram-se os limites de severidade mínima e máxima da doença observados no campo. A escala conta com nove classes: 0,1; 1; 2; 4; 8; 16; 24; 32; 64%. Para a validação da escala, realizou-se a determinação da severidade da mancha branca por 10 avaliadores sem experiência na avaliação da doença. Em seguida, os mesmos avaliadores utilizaram a escala proposta. Constatou-se satisfatória acurácia e precisão das estimativas efetuadas com o auxílio da escala. Para a determinação das melhores folhas para a avaliação da severidade da doença, foram realizadas análises de correlação e regressão com 25 plantas. Os resultados nos permite concluir que a severidade das plantas de milho com a mancha branca se correlaciona significativamente com a severidade média conjunta da doença nas folhas da espiga e a imediatamente inferior. A escala proporcionou bons níveis de acurácia e precisão (R^2 médio de 94%), com erros concentrando-se na faixa de 10%. Os avaliadores apresentaram elevada reprodutibilidade ($R^2 > 90\%$ em 82% dos casos) das estimativas de severidade. A escala diagramática proposta foi considerada adequada para estimar a severidade da mancha branca.

Palavras-chave: quantificação, fitopatometria, *Pantoea ananatis*, *Zea mays*

¹Engenheiros-Agrônomos, Doutorandos em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa, MG, alecapucho@yahoo.com.br; henrique.duarte@ufv.br, paulo.ferreira@ufv.br, falanza@bol.com.br, douglas2002ufv@yahoo.com.br.

²Professor Titular da Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa, MG, zambolim@ufv.br.

³Engenheiros-Agrônomos, Doutores em Fitopatologia, Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Desenvolvimento de Metodologia para Avaliação da Mancha Branca do Milho

Abstract

A diagrammatic scale to quantify the severity of the corn white spot was elaborated and validated. For scale elaboration, the minimal and maximal limits of the disease severity observed in the field were considered. The scale has nine classes: 0.1, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 32 and 64%. For scale evaluation, a severity evaluation for white spot was performed by 10 raters with no experience in disease evaluation. Initially, severity estimation was performed without a scale for 41 leaves with different levels of severity. Afterward, the same raters used the proposed diagrammatic scale. Satisfactory accuracy and precision were achieved when estimation was performed with a diagrammatic scale. To determine the best leaf disease severity evaluation, correlation and regression analyses were performed with 25 plants of five genotypes. Results analysis leads us to conclude that the severity of white spot on corn plants significantly correlates with the disease mean severity of leaves 0 and -1, i.e., a leaf of the corn ear and the one immediately below it. This scale provided good levels of accuracy and precision (a mean R^2 of 94%), with errors concentrating around 10%. Raters presented increased reproducibility ($R^2 > 90\%$ in 82% of cases) of severity estimates. The proposed diagrammatic scale is considered adequate to estimate the severity of white spot in corn.

Keywords: Assessment; Phytopatometry; *Pantoea ananatis*; *Zea mays*

Introdução

Dentre os produtores mundiais de milho, o Brasil é atualmente o terceiro maior produtor, com mais 54 milhões de toneladas produzidas na última safra (CONAB, 2010). Entretanto, mesmo exportando anualmente 20% de sua produção, o Brasil apresenta uma das produtividades mais baixas entre os exportadores mundiais (ABRAMILHO, 2009). Entre os fatores que corroboram para com essa baixa produtividade, as doenças têm merecido importante atenção pelas perdas que causam. No entanto, entre as doenças que afetam o milho (*Zea mays* L.), a mancha-branca causada pela bactéria *Pantoea ananatis* (PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001; PACCOLA-MEIRELLES, 2008; BOMFETI et al., 2008), primeiramente descrita como mancha de *Phaeosphaeria*, se destaca como uma das mais importantes. A doença é endêmica no Brasil e sua incidência e severidade têm aumentado significativamente a partir dos anos 90, podendo ser encontrada em praticamente todas as regiões onde o milho é cultivado (FERNANDES; OLIVEIRA, 1997). Em cultivares suscetíveis, a doença pode reduzir a produção de grãos em até 63,1% (PINTO, 1999). Folhas com 10-20% de severidade apresentam uma redução na taxa fotossintética líquida de 40%, resultando também em reduções na produção de grãos de cerca de 60% (GODOY et al., 2001). Essa correlação negativa entre a produtividade do milho e a severidade da doença tem sido relatada por vários autores nas condições brasileiras (SAWAZAKI et al., 1997; BRASIL; CARVALHO, 1998; PEGORARO et al., 2001).

Os sintomas da doença são lesões pequenas, com até 2 cm, arredondadas a alongadas, com coloração esbranquiçada e bordas escuras, podendo ocorrer coalescência de lesões (PEREIRA et al., 2005). A quantificação desta doença é de grande importância no seu manejo, porém de difícil execução, pois é um procedimento trabalhoso e relativamente oneroso. Os dados sobre quantificação de doenças são importantes para avaliar as diferentes medidas de controle, a resistência varietal e testar a eficiência de produtos fitossanitários (VALE et al., 2004). A forma mais adequada de quantificar doenças, a

exemplo da mancha branca do milho, é por meio da severidade, a qual representa a percentagem de tecido foliar doente em relação à área foliar (AMORIM, 1995). Com o objetivo de quantificar a severidade de doenças com precisão, várias estratégias têm sido sugeridas e, entre estas, têm se destacado as escalas diagramáticas, que são representações ilustradas de uma série de plantas, folhas ou partes de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). A utilização de escalas diagramáticas pode reduzir a subjetividade das estimativas de severidade entre os avaliadores, melhorando a acurácia e a precisão das avaliações (MARTINS et al., 2004).

As características de uma boa escala diagramática envolvem a facilidade de uso, ter resultados reproduzíveis, aplicabilidade sob ampla extensão de condições, possuir intervalos que representem todos os estádios de desenvolvimento da doença e que permita uma avaliação imediata (BERGER, 1980). Assim, na construção de uma escala, alguns aspectos importantes devem ser considerados: 1º) os limites superiores e inferiores da escala devem corresponder, respectivamente, à máxima e à mínima intensidade da doença observada no campo; 2º) os sintomas representados devem ser os mais próximos possíveis dos observados em plantas e 3º) na determinação dos níveis intermediários da escala devem ser consideradas as limitações de acuidade do olho humano. Estas são definidas pela lei de estímulos-resposta de Weber-Fechner, na qual a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo (HORSFALL; BARRAT, 1945). As escalas diagramáticas devem ser validadas antes de serem propostas como um método padrão de quantificação de doenças, e no caso de produzirem resultados insatisfatórios, estas devem ser corrigidas (MARTINS et al., 2004).

A escala mais utilizada para se avaliar a mancha branca do milho no Brasil é a de CHESTER (1950), modificada por Agroceres (1996). A avaliação pode ser feita na planta inteira ou na folha posicionada abaixo do ponto de inserção da espiga principal. O método de avaliação

da severidade da doença na planta inteira mostrou ser o mais prático para a avaliação da mancha-branca do milho (SILVA, 2002), porém ele não foi validado com respeito às leis de acuidade visual. Além disso, o fato de a escala ter sido desenvolvida para avaliações da planta inteira limita sua utilização, uma vez que torna a quantificação mais subjetiva. Para contornar este fato seria interessante um estudo onde se determinasse qual folha de milho com a doença se correlaciona melhor com a severidade da planta inteira, otimizando as avaliações de severidade da doença.

Assim, o objetivo deste trabalho foi elaborar e validar uma escala diagramática para a avaliação da severidade da mancha branca do milho e determinar qual(is) folha(s) se correlaciona(m) melhor com a severidade da doença na planta inteira.

Material e Métodos

Elaboração da escala diagramática

Para a elaboração da escala diagramática e para determinar qual(is) folha(s) se correlaciona(m) melhor com a severidade da doença na planta inteira, foram coletadas 25 plantas de quatro genótipos (BRS1010, DAS657, HS200, 2B710), perfazendo um total de 284 folhas de milho analisadas. A coleta das folhas foi realizada em campos experimentais da Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas-MG, de forma aleatória, caracterizada por amostras com variação na severidade da doença. As folhas coletadas foram digitalizadas individualmente, e as imagens, com resolução de 300 dpi, foram transferidas para um microcomputador. Em seguida, cada folha foi analisada quanto à proporção de área lesionada, utilizando-se o programa QUANT (VALE et al., 2003), pelo método de análise de discriminantes, obtendo-se assim a severidade real da doença (%). Este método foi utilizado pelo fato de os resultados apresentarem maior confiabilidade, já que outros métodos poderiam retornar resultados discrepantes, pois, para esse patossistema, a cor das lesões apresenta matiz semelhante à de folhas em senescência.

A partir da severidade mínima e máxima da doença encontrada nas folhas analisadas, obedecendo à lei de acuidade visual de Weber-Fechner (HOSRFALL; BARRATT, 1945) e seguindo uma escala logarítmica, estabeleceu-se outros sete níveis intermediários da doença para compor a escala diagramática. Após o estabelecimento dos níveis de severidade da escala, uma folha padrão de área conhecida foi utilizada para representar os nove níveis de severidade da escala, de maneira a reproduzir os sintomas observados nas folhas em campo, estabelecendo-se, assim, a escala diagramática.

Validação da escala diagramática

A validação da escala foi realizada em duas etapas. Na primeira, 10 avaliadores, todos inexperientes na quantificação da mancha branca do milho, analisaram 41 imagens de folhas de milho. Essas imagens foram inseridas em *slides* individuais para a visualização no programa *Power Point*, sendo que elas apresentavam diferentes níveis de severidade da doença, sem uso da escala diagramática proposta. Na segunda etapa da validação da escala, os avaliadores receberam outro conjunto de 41 imagens de folhas de milho para realizar estimativas, porém, agora, com o uso da escala proposta.

A partir dos dados de cada avaliador, determinou-se a acurácia e a precisão por meio de regressão linear simples entre a severidade real (variável independente) e a severidade estimada (variável dependente), sem e com o uso da escala. A precisão foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (R^2) da regressão e pela variância dos erros (severidade estimada menos real). A acurácia das estimativas foi determinada pelo teste t aplicado ao intercepto da regressão linear (a), para verificar se foi significativamente diferente de 0, e ao coeficiente angular da reta (b), para testar se foi significativamente diferente de 1, ao nível 5% de probabilidade. Valores de intercepto significativamente diferentes de 0 indicam a presença de desvios constantes, enquanto valores de coeficiente angular da reta que desviam significativamente de 1 indicam a presença de desvios sistemáticos (NUTTER JR. et al., 1993).

A reprodutibilidade das avaliações foi determinada baseada nos valores de R^2 da regressão linear entre as severidades estimadas pelos diferentes avaliadores combinados aos pares como proposto por Nutter Jr. e Schultz (1995). As regressões entre a severidade real e a estimada para cada avaliador, bem como entre os avaliadores foram realizadas com o programa MINITAB versão 14.

Determinação da(s) folha(s) que se correlaciona(m) melhor com a severidade da doença na planta inteira

Para determinar qual(is) folha(s) de milho representa(m) melhor a severidade da planta inteira, foram usadas as mesmas folhas utilizadas para a confecção da escala diagramática. A folha da espiga principal foi denominada de folha 0, e a folha acima da 0 foi denominada de folha + 1, enquanto a folha abaixo da folha 0 foi denominada de folha -1, e assim sucessivamente.

As análises consistiram na determinação da correlação entre a severidade de cada folha com a respectiva severidade da planta inteira (Ex.: correlação da folha + 1 de uma planta com a severidade desta mesma planta). Portanto, este procedimento foi realizado entre as folhas de cada planta e sua respectiva severidade para todas as 25 plantas. As folhas analisadas variaram da folha + 7 à folha -5, incluindo a combinação de mais de uma folha. Estas combinações de folhas tiveram como objetivo obter maiores valores de correlação.

Além disso, foram realizadas análises de regressão linear simples para determinar os parâmetros a e b da regressão. Esta análise auxilia na escolha da folha, ou combinação de folhas, que representasse melhor o valor real de severidade da planta inteira, aumentando a confiabilidade dessa determinação.

Resultados e Discussão

A escala diagramática proposta neste trabalho, com nove classes de severidade (0,1; 1; 2; 4; 8; 16; 24; 32; 64%) seguiu a lei do estímulo de Weber-Fechner, conforme descrita em trabalhos anteriores de elaboração de escalas (MICHEREFF et al., 2000; DIAZ et al., 2001; LEITE; AMORIM, 2002; RODRIGUES et al., 2002; MARTINS et al., 2004; MAZARO et al., 2006; HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006), e pode ser observada na Figura 1. Nos níveis de severidade acima de 8% foi observada coalescência de lesões, que é característica da mancha branca do milho (PEREIRA et al., 2005).

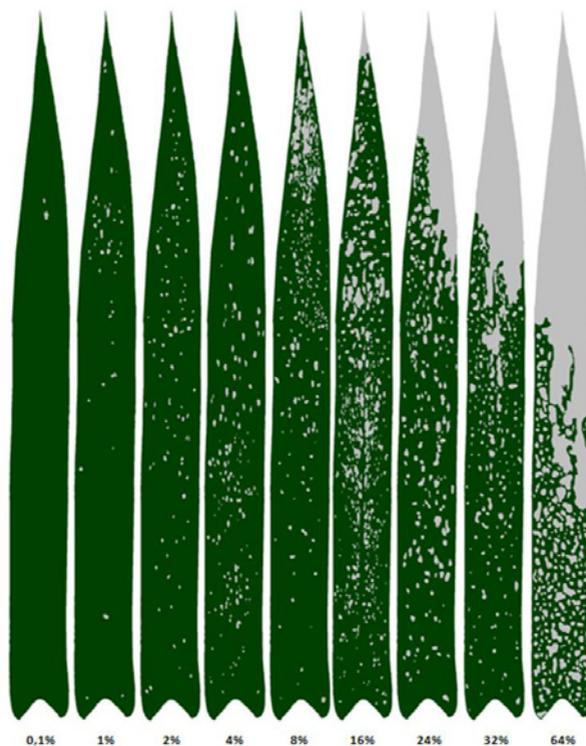


Figura 1. Escala diagramática para a avaliação da severidade da mancha branca do milho (*Zea mays* L.) causada por *Pantoea ananatis*. Valores em porcentagem (%) de área foliar com sintomas da doença.

Para a maioria dos avaliadores, quando se utilizou a escala diagramática, os valores estimados de severidade ficaram mais próximos dos valores de severidade real (Figura 2). A acurácia dos avaliadores, determinada pela proximidade existente entre a estimativa e a realidade, é definida como a exatidão de uma medida isenta de erros sistemáticos, que é medida pelo intercepto (a) e o coeficiente angular (b) da regressão linear entre severidade estimada e real (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Com isso, avaliadores acurados

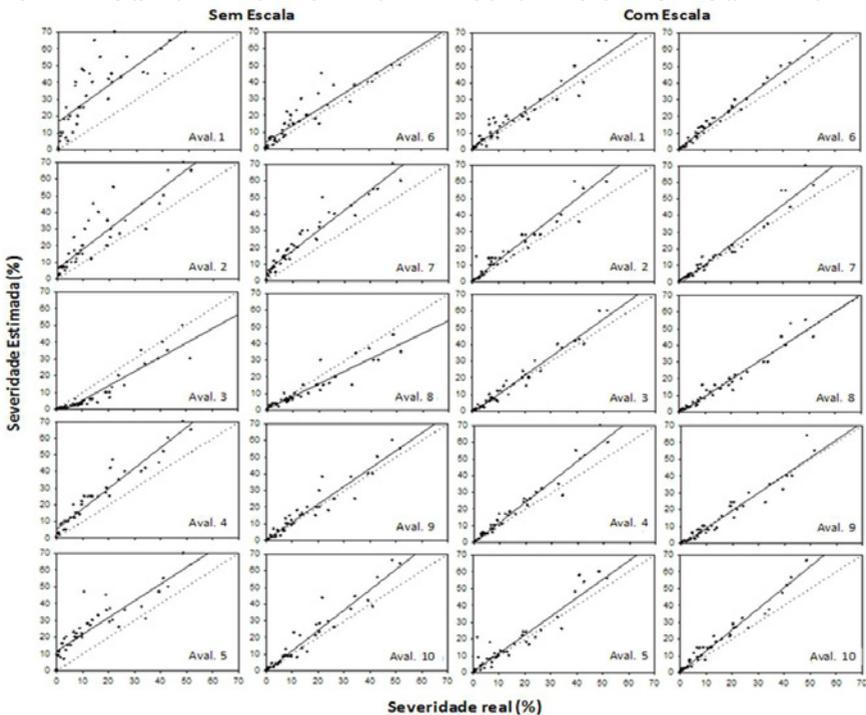


Figura 2. Severidade estimada sem e com a utilização da escala diagramática elaborada (pontos cheios), e linha de regressão obtida entre a severidade real e estimada (linha cheia) da mancha branca (*Pantoea ananatis*) do milho (*Zea mays*) para os dez avaliadores (Aval.). A linha pontilhada representa a situação ideal, com as estimativas idênticas à real.

Na validação da escala diagramática, os valores do intercepto (a) diferiram de zero ($P < 0,05$) para 70% dos avaliadores (avaliadores 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7) sem a utilização da escala. Quando se utilizou a escala diagramática, os valores do intercepto (a) não diferiram de zero ($P < 0,05$) para 100% dos avaliadores, indicando que com o uso da escala não ocorreram desvios constantes (Tabela 1). O coeficiente angular da reta (b) diferiu de um ($P < 0,05$) para 60% dos avaliadores (avaliadores 2, 3, 4, 6, 7 e 10) sem a utilização da escala. Quando se utilizou a escala diagramática, o coeficiente angular da reta (b) diferiu de um ($P < 0,05$) para 60% dos avaliadores (2, 3, 4, 7, 8 e 10), indicando que com o uso da escala continuaram a ocorrer os desvios sistemáticos (Tabela 1). Com o uso da escala diagramática, cada 1% de incremento na severidade real da mancha-branca do milho, a severidade foi estimada pelos avaliadores, em média, a 1,145%, mostrando que ocorre uma pequena tendência em superestimar a severidade da doença mesmo com o uso da escala (Tabela 1). Esse fato pode ser confirmado ao observarmos, para a maioria dos avaliadores (70%), erros positivos (Figura 3).

Tabela 1. Estimativas dos parâmetros de interseção (a), dos coeficientes angulares (b) e coeficientes de determinação (R^2) das equações de regressão linear calculadas entre a severidade real e estimadas da mancha branca do milho, realizadas por avaliadores sem experiência, com e sem a utilização da escala diagramática

Avaliadores	Sem escala			Com escala		
	a	b	R^2	a	b	R^2
1	16,821 *	1,118	0,61	1,235	1,086	0,91
2	6,206 *	1,195 *	0,81	0,651	1,223 *	0,92
3	-3,102 *	0,852 *	0,89	-0,917	1,118 *	0,97
4	5,272 *	1,230 *	0,93	-0,105	1,223 *	0,96
5	11,733 *	1,001	0,81	0,498	1,102	0,90
6	3,968 *	0,972	0,85	0,706	1,167 *	0,97
7	6,002 *	1,214 *	0,93	-1,463	1,203 *	0,95
8	0,937	0,754 *	0,89	-0,856	1,021	0,95
9	0,428	1,069	0,92	-0,343	1,049	0,94
10	-0,073	1,217 *	0,93	0,238	1,262 *	0,97
Média	4,819 *	1,062	0,86	-0,036	1,145	0,94

* situações onde o valor da interseção da reta (a) ou o coeficiente angular (b) foi diferente de "0" e "1", respectivamente, pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade.

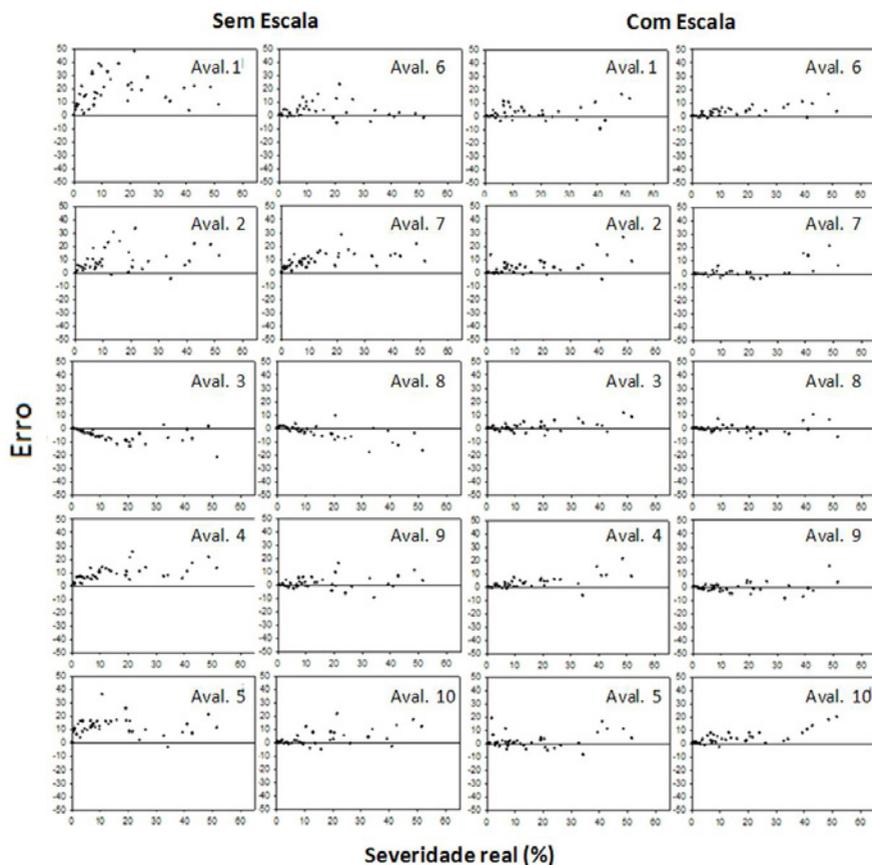


Figura 3. Erros (severidade estimada menos a real) para os dez avaliadores (Aval.) sem e com a utilização da escala diagramática elaborada para quantificação da severidade da mancha branca (*Pantoea ananatis*) do milho (*Zea mays*).

Na maioria dos estudos envolvendo a validação de escalas diagramáticas, os avaliadores tenderam a superestimar os níveis de severidade das doenças, como ocorreu para a mancha branca do milho (SHERWOOD et al., 1983; NEWTON; HACKETT, 1994; PARKER et al., 1995; DIAZ et al., 2001; LEITE; AMORIM, 2002). Em alguns casos, ocorre a subestimativa dos níveis de severidade das doenças (MICHEREFF et al., 1998, 2000; GOMES et al., 2004). As soluções para corrigir a superestimativa dos níveis de severidade das doenças

variam de acordo com a magnitude do erro, podendo ser corrigida com o treinamento dos avaliadores (NUTTER JR.; SCHULTZ, 1995).

A precisão também é um fator a ser considerado na validação de uma escala diagramática, e é definida como a exatidão de uma operação onde há rigor ou refinamento na medida (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Ela pode ser avaliada por meio do coeficiente de determinação da regressão, que deve ser próximo de 100%, bem como pela variação dos erros. Os níveis de precisão das estimativas visuais da mancha branca com auxílio da escala diagramática ficaram próximos aos encontrados em outros estudos de validação de escala (MICHEREFF et al., 2000; GOMES et al., 2004; MARTINS et al., 2004), pois apresentou valor de R^2 superior a 90%, considerado o ideal para este tipo de avaliação (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Observou-se, com o uso da escala, um coeficiente de determinação entre 90 e 97%, com média de 94%, enquanto, sem o uso da escala, esse valor ficou entre 61 e 90%, com média de 86% (Tabela 1), indicando que, com o uso da escala, as estimativas foram sistematicamente relacionadas com o valor real. O aumento da precisão também foi confirmado pela redução dos erros (Figura 3). Sem a utilização da escala diagramática, observou-se que os avaliadores apresentaram maiores desvios nos erros, sendo que 50% dos avaliadores (avaliadores 1, 2, 4, 5 e 7) chegaram a apresentar erros ultrapassando 30% (Figura 3). No entanto, com a utilização da escala diagramática, poucas vezes os erros ultrapassaram 15%, concentrando-se na faixa dos 10% (Figura 3). Valores como esses de resíduos são considerados bons, de acordo com resultados obtidos com programas de computadores para treinamento de avaliadores, como Disease.Pro e o Severity.Pro (NUTTER JR.; WORAWITLIKIT, 1989; NUTTER et al., 1993), os quais classificam como excelente um avaliador cujos erros não ultrapassam 5% e como bom aquele cujos erros sejam inferiores a 10%. A presença de algum nível de erro nas mensurações pode ser compensada pela rapidez e padronização que resultam no uso de escalas diagramáticas (STONEHOUSE, 1994).

Com a utilização da escala eliminaram-se os erros constantes, porém, foi observado que se manteve a presença de erros sistemáticos, mesmo com avaliadores com elevada precisão, indicando leve divergência entre estimativas acuradas e precisas, como observado por Nutter Jr. et al. (1993) na mensuração da mancha foliar de *Agrostis palustris* causada por *Sclerotinia homoeocarpa* e por GOMES et al. (2004) na mensuração da cercosporiose da alface causada por *Cercospora longissima*. Avaliações realizadas com menor acurácia do que precisão não representam sérios problemas, dado que os desvios normalmente seguem o mesmo padrão (GOMES et al., 2004).

Além da acurácia e da precisão, outro indicador da eficiência da escala diagramática desenvolvida é a reprodutibilidade das estimativas entre os avaliadores (BERGER, 1980). Diferentes avaliadores, quando utilizam a mesma escala para a avaliação do mesmo material vegetal devem estimar os mesmos valores de severidade (NUTTER JR.; SCHULTZ, 1995). A reprodutibilidade, que é a repetibilidade das estimativas, pode ser estimada pela correlação das severidades estimadas pelos avaliadores aos pares. Quando o coeficiente de determinação na comparação de dois avaliadores aproxima-se de 100%, as estimativas dos avaliadores se repetem (BELASQUE JÚNIOR et al., 2005; LEITE; AMORIM, 2002). Na regressão das severidades estimadas pelos avaliadores aos pares, foi observado que sem o uso da escala os coeficientes de determinação foram inferiores a 80% em 48% das comparações entre avaliadores (Tabela 2). Com o uso da escala proposta foi observado que em nenhum caso o coeficiente de determinação foi inferior a 80%, e que os coeficientes de determinação foram superiores a 90% em 82% dos casos, indicando que as estimativas realizadas com a escala são reproduzíveis (Tabela 2).

Tabela 2. Reprodutibilidade das estimativas da severidade da mancha branca do milho, representada pela frequência dos coeficientes de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples relacionando as estimativas entre avaliadores, com e sem o uso da escala diagramática.

Valor de R^2	Frequência (%)*	
	Sem escala	Com escala
0,70 - 0,79	48,90	0,00
0,80 - 0,89	37,80	17,80
0,90 - 1,00	13,30	82,20

* calculada considerando o número de ocorrências do intervalo em relação ao total de 45 combinações possíveis entre os dez avaliadores em cada avaliação da severidade da doença.

Para a determinação da melhor folha ou combinação de folhas que representa melhor a severidade da mancha-branca na planta inteira, foi observado, na análise de correlação, que todas as folhas (da folha +7 a -5) foram estatisticamente correlacionadas com a severidade da planta inteira (Tabela 3). Essa severidade variou de 0,13% a 26,38%, enquanto as severidades das folhas variaram de 0,01% a 64%. No total de 284 folhas analisadas foi observado que em mais de 60% (174 folhas) elas apresentaram severidade entre 0 e 5%, demonstrando que a escala necessita de mais pontos nessa faixa de severidade.

Os maiores valores de correlação foram observados em combinações de folhas, com exceção da folha -2 que apresentou correlação de 0,90 (Tabela 3). É importante mencionar a necessidade de analisar os valores de a e b da regressão, já que uma folha pode apresentar alta correlação com a média da planta inteira, mas esse valor ser diferente do real. Para a análise das 25 folhas -2 com a severidade de suas respectivas plantas, observou-se uma correlação de severidade entre estas folhas e a planta inteira de 0,90, porém este valor de correlação não representa a severidade real das plantas inteiras. Portanto, na determinação da melhor folha, ou combinação de folhas, há necessidade de analisarmos adicionalmente os valores de a e b da regressão, comparando-os a 0 e 1, respectivamente. Assim, esta análise nos permite determinar se o intercepto e a inclinação da reta de regressão são próximos do real, entre a severidade da folha analisada e

a da planta inteira.

Tabela 3. Estimativas de correlação e parâmetros de regressão linear usados para determinar a folha, ou combinação de folhas, que melhor representa a severidade da mancha branca (*Pantoea ananatis*) na planta inteira.

Folhas avaliadas ⁽¹⁾	Análises realizadas ⁽²⁾		
	Correlação	Valor de <i>a</i> ⁽³⁾	Valor de <i>b</i> ⁽³⁾
Folha +7	0,85*	4,50*	0,83 ^{ns}
Folha +6	0,78*	3,91*	1,47 ^{ns}
Folha +5	0,76*	4,02*	1,41 ^{ns}
Folha +4	0,80*	3,72*	2,00*
Folha +3	0,79*	4,80*	0,75 ^{ns}
Folha +2	0,84*	2,95*	1,38 ^{ns}
Folha +1	0,83*	2,88*	1,04 ^{ns}
Folha 0	0,80*	3,26*	0,70 ^{ns}
Folha -1	0,87*	1,98 ^{ns}	0,64*
Folha -2	0,90*	1,75 ^{ns}	0,58*
Folha -3	0,78*	2,32 ^{ns}	0,48*
Folha -4	0,76*	2,06 ^{ns}	0,29*
Folha -5	0,88*	0,22 ^{ns}	0,49*
Folha -2 -1	0,97*	0,61 ^{ns}	0,73*
Folhas -1 e 0	0,94*	1,17 ^{ns}	0,84 ^{ns}
Folhas 0 e +1	0,84*	2,81*	0,89 ^{ns}
Folhas -2, -1 e 0	0,96*	0,81 ^{ns}	0,79*
Folhas -1, 0 e +1	0,94*	1,13 ^{ns}	0,97 ^{ns}
Folhas -2, -1, 0 e +1	0,96*	0,92 ^{ns}	0,88 ^{ns}
Folhas -1, 0, +1 e +2	0,95*	1,16 ^{ns}	1,10 ^{ns}
Folhas -2, -1, 0, +1 e +2	0,96*	1,00 ^{ns}	0,98 ^{ns}

⁽¹⁾ folha 0 corresponde à folha da espiga. As folhas +1 e -1 seriam a imediatamente superior e inferior à folha 0, respectivamente, e assim sucessivamente. ⁽²⁾ foram realizadas análises de correlação e regressão linear, ambos a 5% de probabilidade, sendo esta última representada pelos valores de '*a*'

e 'b' da regressão, ⁽³⁾ ns não significativo e * situações onde o valor da interseção da reta (a) ou o coeficiente angular (b) foi diferente de '0' e '1', respectivamente pelo teste *t*.

Portanto, as folhas -2, a combinação de folhas -2 com a -1, e a combinação de folhas -2, -1 e 0, mesmo apresentando valores de correlação maiores que 0,90 não representam a(s) melhor(es) folha(s) para a determinação da severidade real da planta inteira, já que apresentaram valores de *b* da regressão diferentes de 1 (Tabela 3).

Analisando em conjunto correlações e valores de *a* e *b* das regressões lineares, as seguintes combinações de folhas foram as que melhor representaram a severidade da planta inteira: 1º) folhas -1 e 0; 2º) folhas -1, 0 e +1; 3º) folhas -2, -1, 0 e +1; 4º) folhas -1, 0, +1 e +2; 5º) folhas -2, -1, 0, +1 e +2 (Tabela 3). Em virtude da maior facilidade de avaliação recomendamos que se adote nas avaliações a severidade média das folhas -1 e 0, pois apenas duas folhas seriam avaliadas e, mesmo assim, não teríamos perdas estatisticamente significativas na determinação da severidade da planta inteira.

Conclusão

A escala diagramática desenvolvida para avaliação da severidade da mancha branca do milho permitiu quantificar os sintomas da doença de forma acurada, precisa e reproduzível. Sugere-se a quantificação da doença em apenas duas folhas (0 e -1) para estimar a severidade na planta inteira, o que pode otimizar estudos no patossistema milho vs. Mancha branca. Portanto, consideramos que a escala apresentada é uma valiosa ferramenta para a pesquisa, como em estudos epidemiológicos e de comparação entre métodos de controle da doença, proporcionando informações mais adequadas para esse patossistema.

Referências

ABRAMILHO. Associação Brasileira dos Produtores de Milho. Disponível em: <<http://www.abramilho.org.br>>. Acesso em: 16 jun. 2009.

AGROCERES. **Guia Agroceres de sanidade**. São Paulo: Sementes Agroceres, 1996. 72 p.

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1995. p. 647-671.

BELASQUE JÚNIOR, J.; BASSANEZI, R. B.; SPÓSITO, M. B.; RIBEIRO, L. M.; JESUS JÚNIOR, W. C.; AMORIM, L. Escalas diagramáticas para avaliação da severidade do cancro cítrico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 387-393, 2005.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ceres, 1996. 289 p.

BERGER, R. D. Measuring disease intensity. In: TENG, P. S.; KRUPA, S. V. (Ed.). **Crop loss assessment wich constrain production and crop improvement in agriculture and forestry**. St. Paul: University of Minnesota, 1980. p. 28-31.

BOMFETI, C. A.; SOUZA-PACOLLA, E. A.; MASSOLA JUNIOR, N. S.; MARRIEL, I. E.; MEIRELLES, W. F.; CASELA, C. R.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D. Localization of *Pantoea ananatis* inside lesions of maize white spot diseases using transmission electron microscopy and molecular techniques. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 63-66, 2008.

BRASIL, E. M.; CARVALHO, Y. Comportamento de híbridos de milho em relação a *Phaeosphaeria maydis* em diferentes épocas de plantio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 1977-1981, 1998.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos: décimo segundo levantamento, setembro/2010. Brasília, 2010. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/7e05515f8222082610088f5a2376c6af..pdf>> Acesso em: 9 out. 2010.

CHESTER, K. S. Plant disease losses: their appraisal and interpretation. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.193, p. 191-362, 1950. Supplement.

DIAZ, C. G.; BASSANEZI, R. B.; FILHO, A. B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa Phytopatologica**, Piracicaba, v. 27, n. 7, p. 35-39, 2001.

FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. de. **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1997. (Embrapa-CNPMS. Circular técnica, 26).

GODOY, C. V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira** Brasília, v. 26, p. 209-215, 2001.

GOMES, A. M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 38-42, 2004.

HALFELD-VIEIRA, B.; NECHET, K. L. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da mancha-de-cercospora em melancia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 46-50, 2006.

HORSFALL, J. G.; BARRAT, R. W. An a improved grading system

for measuring plant disease. **Phytopathology**, St. Paul, v. 35, p. 655, 1945.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de alternária em girassol. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 28, p. 14-19, 2002.

MARTINS, M. C.; GUERZONIL, R. A.; CÂMARA, G. M. de 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.

MAZARO, S. M.; GOUVEA, A. de; DE MIO, L. L. M. de; DESCHAMPS, C.; BIOSI, L. A.; CITADIN, I. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-de-micosferela em morangueiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 648-652, 2006.

MICHEREFF, S. J.; MAFFIA, L. A. O.; NORONHA, M. A. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 612-619, 2000.

MICHEREFF, S. J.; PEDROSA, R. A.; NORONHA, M. A.; MARTINS, R. B.; SILVA, F. V. Escala diagramática e tamanho de amostras para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca (*Cercosporidium henningsii*). **Agrotrópica**, Itabuna, n. 3, p. 143-148, 1998.

NEWTON, A. C.; HACKETT, C. A. Subjective components of mildew assessment on spring barley. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 100, n. 5, p. 395-412, 1994.

NUTTER JR., F. W.; LITWILLER, D. A computer program to generate standard area diagrams to aid raters in assessing disease severity.

Phytopathology, St. Paul, v. 88, p. S117, 1998.

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, p. 174-184, 1995.

NUTTER JR., F. W.; WORAWITLIKIT, O. Disease.Pro: a computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, p. 1135, 1989.

NUTTER JR., F. W.; GLEASON, M. L.; JENCO, J. H.; CHRISTIANS, N. C. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, n. 8, p. 806-812, 1993.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D. Mancha branca X *Pantoea ananatis*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27.; SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 3.; WORKSHOP SOBRE MANEJO E ETIOLOGIA DA MANCHA BRANCA DO MILHO, 2008, Londrina. **Agroenergia, produção de alimentos e mudanças climáticas: desafios para milho e sorgo: trabalhos e palestras**. [Londrina]: IAPAR; [Sete Lagoas]: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 1 CD-ROM. .

PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; FERREIRA, A. S.; MEIRELLES W. F.; MARRIEL, I. E.; CASELA, C. R. Detection of a bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 149, n. 5. p. 275-279, 2001.

PARKER, S. R.; SHAW, M. W.; ROYLE, D. J. The reliability of visual estimates of disease severity on cereal leaves. **Plant Pathology**, London, v. 43, n. 6, p. 856-865, 1995.

PEGORARO, D. G.; VACARO, E.; NUSS, C. N.; SOGLIO, F. K. D.; SERENO, M. J. C. de M.; BARBOSA NETO, J. F. Efeito de época de semeadura e adubação na mancha-foliar de *Phaeosphaeria* em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 8, p. 1037-1042, ago. 2001.

PEREIRA, O. A. P.; CARVALHO, R. V.; CAMARGO, L. E. A. Doenças do milho. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 55, p. 477-488.

RODRIGUES, J. C. V.; NOGUEIRA, N. L.; MACHADO, M. A. Elaboração e validação de escala diagramática para leprose dos citros. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 28, p. 192-196, 2002.

SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GALVÃO, J. C. C.; CASTRO, J. L.; PEREIRA, J. Reação de cultivares de milho à *Phaeosphaeria* no estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 585-589, 1997.

SHERWOOD, R. T.; BERG, C. C.; HOOVER, M. R.; ZEIDERS, K. E. Illusions in visual assessment of *Stagonospora* leaf spot of orchardgrass. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 2, p. 173-177, 1983.

SILVA, H. P. **Genética da resistência à *Phaeophaeria maydis* em milho**. 2002. 105 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

STONEHOUSE, J. Assessment of Andean bean diseases using visual keys. **Plant Pathology** London, v. 43, p. 519-527, 1994.

VALE, F. X. R.; FERNANDES FILHO, E. I.; LIBERATO, J. R. QUANT: a software plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003, Christchurch, New

Embrapa

Milho e Sorgo

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

