

## NOTA CIENTÍFICA

### ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAR SEVERIDADE DE MILDIO NA SOJA

### DIAGRAMMATIC SCALE FOR ASSESSMENT OF SOYBEAN DOWNY MILDEW SEVERITY

Ligia Sayko KOWATA<sup>1</sup>  
Louise Larissa MAY-DE-MIO<sup>2</sup>  
Maristella DALLA-PRIA<sup>3</sup>  
Hellen Aparecida Arantes do SANTOS<sup>4</sup>

#### RESUMO

O mildio, causado por *Peronospora manshurica*, é uma doença secundária na cultura da soja, entretanto, em regiões mais frias e úmidas, tem ocorrido com maior frequência. Neste trabalho foi desenvolvida e validada uma escala diagramática para quantificar a severidade de mildio na soja. Foram coletadas 200 folhas em Castro (PR), destas foram selecionadas 100 folhas exsiccadas em melhor estado de conservação contendo os diferentes níveis de severidade e em seguida numeradas para determinar as áreas das lesões e das folhas e calcular a severidade real por folha. A escala considerou os limites de severidade mínima e máxima observados no campo e os níveis intermediários seguiram incrementos logarítmicos, obtendo oito níveis: 0,08; 0,30; 1,10; 3,39; 12,85; 34,92; 66,13 e 87,65%. Para a validação sete avaliadores, sendo três com e quatro sem experiência estimaram a área lesionada, antes e após o uso da escala. Por meio de regressão linear os valores de severidade reais e estimados foram confrontados e os resultados de acurácia e precisão foram satisfatórios. Os valores do coeficiente de determinação após o uso da escala apresentaram aumento atingindo níveis de 0,97. Em relação ao gráfico de dispersão do erro constatou-se que em 100% dos casos houve melhora, diminuindo o número de notas acima de 10% de erro de 16 para 8,2. Ao utilizar o programa Assistat, o teste F apontou diferença estatística no R<sup>2</sup> quando utilizada a escala, a qual mostrou-se adequada e poderá ser utilizada para avaliar a severidade em experimentos.

**Palavras-chaves:** *Glycine max*; *Peronospora manshurica*; patometria; severidade.

#### ABSTRACT

The downy mildew, caused by *Peronospora manshurica*, is a secondary disease in soybean culture, however in humid cold regions has occurred with more frequency. In this study a diagrammatic scale was developed and validated to quantify the severity of the disease in soybean. Of the 200 collected leaves in Castro (PR), were selected 100 leaves dissected dried herbarium in better conservation's state with different levels of severity and after were numbered to determinate the lesion and leaf area to calculate the severity percentage per each leaf. The scale considered the minimum and maximum limits of severity observed in the field and the intermediate values followed logarithmic increments, obtaining eight levels: 0,08; 0,30; 1,10; 3,39; 12,85; 34,92; 66,13 e 87,65%. In validation seven raters, with and without previous practice estimated the lesion area before and after the use of the scale. Accuracy and precision were determined by linear regression, the results of accuracy and precision were satisfactory. The coefficient of determination values after the use of the scale demonstrated increase getting levels of 0,97, in relation to the error dispersion graphic, improved 100% of the cases, decreasing the number of the notes more then 10% of error of 16 for 8,2. With the Test F (Assistat program) was observed the statistic difference in R<sup>2</sup> when it was used the scale, which provided adequate and it will can be utilized to validated the severity in others experiments.

**Key-words:** *Glycine max*; *Peronospora manshurica*; pathometry; severity.

<sup>1</sup> Engenheira Agrônoma. E-mail: ligia\_kowata@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Engenheira Agrônoma, Doutora em Agronomia, Professora do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba – PR. E-mail: maydemio@ufpr.br. Autor para correspondência.

<sup>3</sup> Engenheira Agrônoma, Doutora em Agronomia, Professora do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da UEPG, Avenida Carlos Cavalcanti, 4748, 84030-900, Ponta Grossa – PR. E-mail: mdallapria@uol.com.br.

<sup>4</sup> Engenheira Agrônoma, Mestranda em Agronomia da UEPG, Avenida Carlos Cavalcanti, 4748, 84030-900, Ponta Grossa – PR. E-mail: hellen\_harantes@yahoo.com.br.

## INTRODUÇÃO

O míldio, causado pelo fungo *Peronospora manshurica* (Naumov) Syd., é considerado uma doença secundária na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.), entretanto, vem ocorrendo com maior frequência em lavouras do sul do Brasil. Até o momento não foram relatadas grandes perdas (FONTANA et al., 2006), com reduções máximas de produtividade estimadas em 8% (PHILLIPS, 1999).

Os agentes etiológicos dos míldios são parasitas obrigatórios, e o micélio do fungo desenvolve-se após a invasão de haustórios nas células, infectando as folhas. As sementes podem ser recobertas por uma camada de oósporos (PHILLIPS, 1999). De acordo com o patógeno, as condições favoráveis para o seu desenvolvimento são temperaturas entre 20 °C e alta umidade. Para esporulação são necessárias temperaturas entre 10 e 25 °C, não esporulando em temperaturas inferiores a 10 °C e superiores a 30 °C (MCKENZIE, 1971).

Nas folhas os sintomas podem ser na forma de pontuações ou de manchas. A primeira menção à doença no Brasil ocorreu na safra de 1966/67, a qual caracterizava-se como manchas de coloração verde-amarelada e formatos irregulares ocupando grande área foliar (VERNETTI e FERREIRA, 1969). O conhecimento sobre a sintomatologia tem sido fundamental para a diagnose e avaliação da doença.

O direcionamento dos estudos para determinar o nível de dano pode subsidiar um manejo adequado da doença, principalmente porque o controle usual realizado para a ferrugem não atinge o míldio. Assim métodos científicos para quantificar e avaliar o progresso da epidemia no campo vêm sendo desenvolvidos, como o de JULLIATI e POLIZEL (2004). O indicado na literatura para a quantificação de doenças foliares é a severidade (porcentagem de área foliar coberta com sintomas). Este método é aprimorado quando utilizadas escalas diagramáticas, pois reduzem a subjetividade da severidade estimada visualmente (GIGLIOTTI e CANTERI, 1998; MARTINS et al., 2004). O presente trabalho objetivou elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação do míldio na soja.

## METODOLOGIA

A escala diagramática da severidade do míldio da soja foi elaborada de acordo com a metodologia de HORSFALL e BARRAT (1945), com modelos logísticos que estabelecem níveis de severidade respeitando as limitações da acuidade visual humana. Entre os meses de janeiro e março de 2007, foram colhidas 200 folhas de soja, em uma área de 0,132 ha com espaçamento de 40 cm, Latossolo Amarelo, A proeminente, textura argilosa, fase campo subtropical com relevo suave ondulado (EMBRAPA, 1999), em Castro – PR.

A coleta iniciou-se a partir do estágio fenológico V2 (COSTA e MARCHEZAN, 1982), quando observados os sintomas da doença no campo até o

final do ciclo da cultura. As folhas coletadas com diferentes níveis de severidade de míldio foram exsiccadas, e as áreas com sintomas da doença copiladas em transparência para posteriormente obter-se a área com lesão e total de cada folha com Win Rhizo, marca LA1600 (Regent Instruments Inc., Canadá) no Laboratório de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR.

Para calcular os níveis de severidade considerou-se a máxima e mínima proporção de área foliar lesionada como os limites da escala diagramática. Os seis níveis intermediários foram definidos matematicamente, seguindo incremento logarítmico e respeitando-se a “Lei do estímulo de Weber e Fechner” (HORSFALL e BARRATT, 1945). Definidas as percentagens de área lesionada e os níveis a serem adotados na escala, uma folha de tamanho médio, formato padrão e área conhecida, foi reproduzida oito vezes e representados os sintomas de cada nível mantendo os padrões de distribuição das lesões.

Para validação do material proposto, foram selecionadas 100 folhas exsiccadas e apresentadas para sete avaliadores, sendo três com e quatro sem experiência prévia na avaliação de doenças, que estimaram a severidade de cada folha numa primeira etapa sem e, posteriormente, com a escala diagramática. A acurácia e a precisão das estimativas visuais de cada avaliador foram determinadas por regressão linear simples, considerando severidade real como variável independente e a severidade estimada como dependente. A acurácia das estimativas de cada avaliador foi determinada pelo teste *t* aplicado ao coeficiente angular (*b*) para verificar se foi estatisticamente diferente de 1 e 0. A precisão das estimativas foi avaliada pelo coeficiente de determinação da regressão ( $R^2$ ) e pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real). Foram utilizados os programas Microsoft Excel 2000 para as análises de regressão linear e o Assistat para as análises estatísticas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escala diagramática foi composta por oito níveis de severidade: 0,08%; 0,3%; 1,10%; 3,39%; 12,85%; 34,92%; 66,13% e 87,65% (Figura 1). Em estágio avançado da doença foi possível encontrar folhas com aproximadamente 90% de sua área coberta com o fungo, valor considerado alto, pois em trabalhos como o de GODOY et al. (2006) no patossistema ferrugem da soja, raramente era encontrado no campo folhas com 80% de severidade.

Na validação foram elaborados gráficos (Figura 2), contendo linhas de regressão linear. As severidades estimadas pelos avaliadores ficaram próximas aos valores reais, não diferindo estatisticamente o  $R^2$  de 1. Com o uso da escala diagramática os avaliadores apresentaram melhor precisão, aumentando a média do  $R^2$  0,82 para 0,91 (Tabela 1). Os resultados obtidos foram melhores que os observados em outros trabalhos, GODOY et

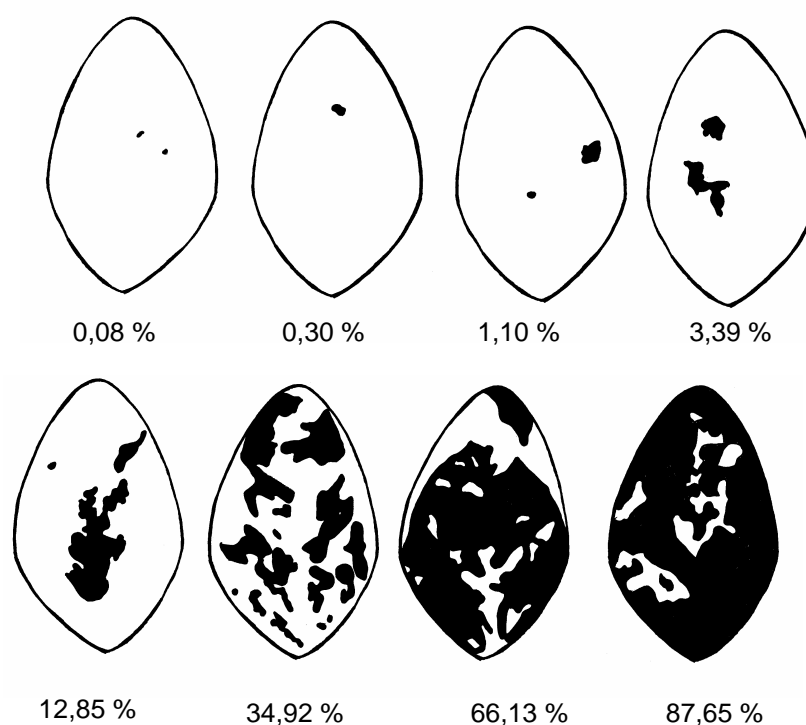


FIGURA 1 - Escala diagramática para severidade de míldio em soja causado por *Peronospora manshurica* (porcentagem de área foliar coberta com sintomas).

al. (2006) obtiveram média de 0,86. De acordo com o F teste, o coeficiente de determinação da reta antes e após o uso da escala apresentou diferenças significativas ( $p=0,012$ ) sendo as avaliações com a escala proposta superior às avaliações sem a escala (Tabela 1). A variação dos erros absolutos foi

considerada adequada (Figura 3), podendo ser aprimorada com o uso de programas para treinamento na quantificação de doenças como Distrain (TOMERLIN e HOWELL, 1988) e Disease.Pro (NUTTER JR. e WORAWITLIKIT, 1989).

TABELA 1 - Coeficientes lineares (a), coeficientes angulares (b) e coeficientes de correlação ( $R^2$ ) obtidos nas regressões entre severidade real (variável independente) e severidade estimada (variável dependente) de 100 folhas de soja atacadas por *Peronospora manshurica*, por sete avaliadores utilizando a escala diagramática proposta. Castro, 2007.

| Avaliador       | Sem escala |                |                | Com escala |                |                |
|-----------------|------------|----------------|----------------|------------|----------------|----------------|
|                 | a          | b <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | a          | b <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> |
| Com experiência |            |                |                |            |                |                |
| 1               | 1,9352     | 0,9894         | 0,8825b        | -1,1567    | 0,9996         | 0,9747a        |
| 2               | -0,926     | 0,8703         | 0,7794b        | -2,1396    | 0,9585         | 0,9449a        |
| 3               | 0,2978-    | 0,9833         | 0,8792b        | -0,3412    | 1,0169         | 0,9335a        |
| Sem experiência |            |                |                |            |                |                |
| 4               | 2,1418     | 1,1268         | 0,9203b        | -1,9358    | 1,0528         | 0,9340a        |
| 5               | 8,343      | 0,9747         | 0,8068b        | 2,1307     | 1,0131         | 0,8693a        |
| 6               | 7,165      | 0,6835         | 0,7191b        | -0,1947    | 0,7663         | 0,8869a        |
| 7               | 8,1909     | 0,9202         | 0,8092b        | 0,3961     | 0,9258         | 0,8662a        |

<sup>1</sup> Aplicado o teste t (1%), os valores de 'b' não tiveram diferença estatística quando comparados a 1 ( $p>0,1$ ) e valores de a diferiram estatisticamente de zero ( $p<0,001$ ).

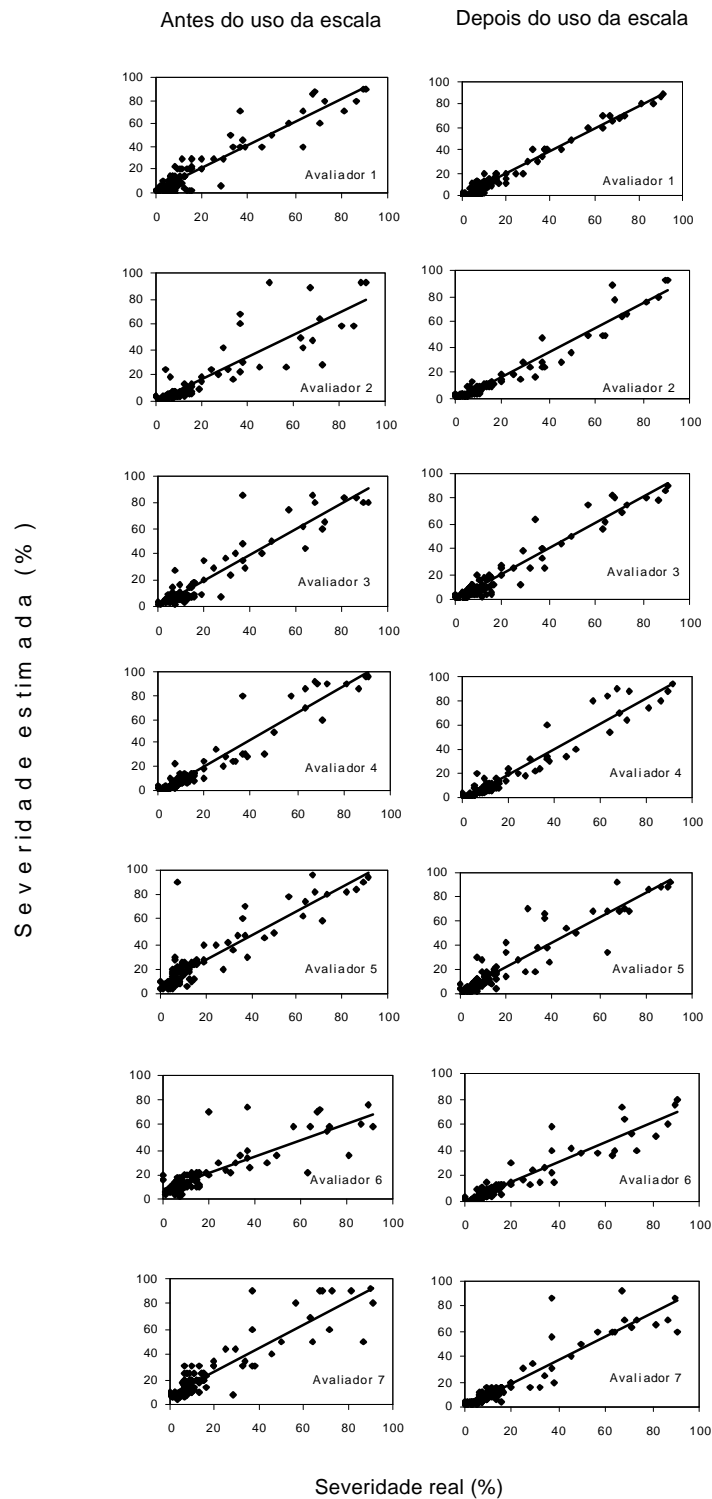


FIGURA 2 - Severidade estimada com e sem o uso de escala diagramática (pontos cheios) e linhas de regressão obtida entre severidades reais e estimadas, de míldio em soja causada por *Peronospora manshurica*.

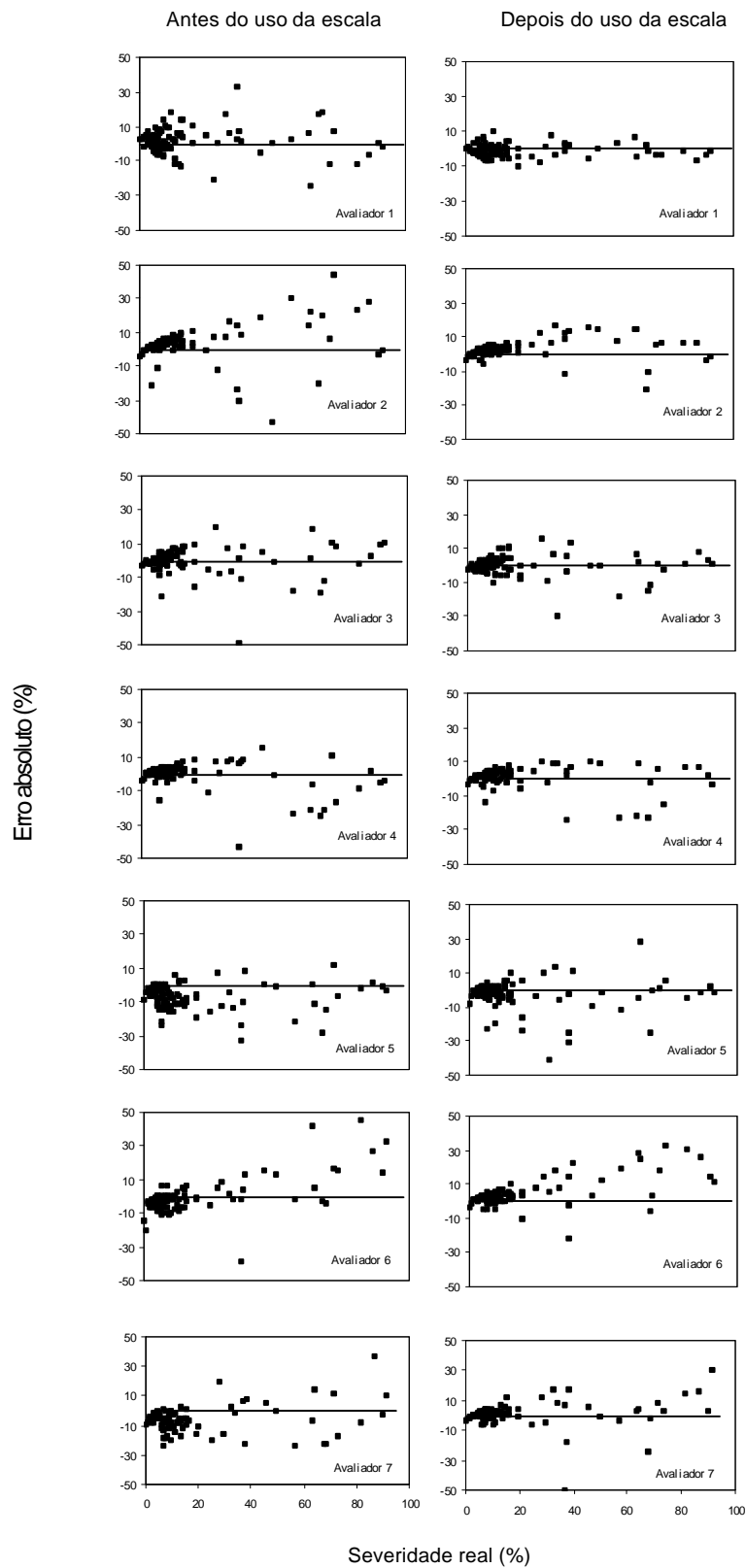


FIGURA 3 - Erros absolutos (severidade real menos severidade estimada) das estimativas da severidade do míldio na soja (*Peronospora manshurica*) por sete avaliadores com e sem o auxílio de escala diagramática.

Em um panorama geral, os avaliadores 2 e 7 apresentaram tendência de superestimar as notas, apesar da boa acuidade e precisão. O avaliador 1 destacou-se dos demais com notas menores que 10% de erro e com o maior coeficiente de determinação (0,97), sem diferença estatística de 1. No entanto os demais avaliadores também não diferiram estatisticamente de 1. As folhas com maior severidade foram subestimadas pelos avaliadores 3 e 5 e superestimadas pelos avaliadores 6 e 7, o erro pode ter ocorrido devido às altas severidades observadas no campo, citadas anteriormente.

Os resultados obtidos comprovam a importância de uma metodologia padronizada para

a quantificação de doenças. A padronização dos métodos de avaliação de doenças proporciona maior confiabilidade no monitoramento e auxilia em estudos sobre o controle da doença. Como JULLIATI (2004) que desenvolveu uma escala com notas para o míldio na cultura da soja, sendo utilizada posteriormente por SHIGIHARA e HAMAWAKI (2005) para seleção de genótipos de soja.

### CONCLUSÃO

A escala proposta para o patossistema *P. manshurica* na cultura da soja mostrou-se adequada para avaliação da doença, podendo ser indicada para estudos epidemiológicos da doença no campo.

### REFERÊNCIAS

1. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999.
2. FONTANA, J.A.; CAPELETTI, J.L.; KALSING, M.S.; MAZARO, S.M.; GOUVEA, A.; MARI, L.F.; TARTARI, L.D.; LINK, L.; CAMINI, L.A. ZANOTTI, J.; PAZINATTO, H.; RAMOS FILHO, J.B.; DONAZZOLO, J. Manejo de doenças na cultura da soja no sudoeste do Paraná na safra 2005/2006. **Synergismus scyentifica**, v. 1, n. 1/4, p. 150-155, 2006.
3. GIGLIOTTI, E.A.; CANTERI, M.G. Desenvolvimento de software e escala diagramática para seleção e treinamento de avaliadores do complexo broca-podridões em cana-de-açúcar. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 359-363, 1998.
4. GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; CANTERI, M.G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 63-68, 2006.
5. JULIATTI, F.C.; POLIZEL, A.C.; JULIATTI, F.C. **Manejo integrado de doenças na cultura da soja**. 1. ed. Uberlândia: Composer, 2004. 327 p.
6. HORSFALL, J.G.; BARRAT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, v. 35, p. 655, 1945.
7. MARTINS, M.C.; GUERZONI, R.A.; CÂMARA, G.M.S.; MATTIAZZI, P.; LOURENÇA, S.A.; AMORIM, L. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 179-184, 2004.
8. MCKENZIE, T.R.; WYLLIE, T.D. The effect of temperature and lesions size on the sporulation of *Peronospora manshurica*. **Phytopathology**, v. 71, p. 321-326, 1971.
9. NUTTER JR., F.W.; WORAWITLIKIT, O. Disease.Pro: a computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. **Phytopathology**, v. 79, p. 1135, 1989.
10. PHILLIPS, D.V. Downy mildew. In: HARTMAN, G.L., SINCLAIR, J.B., RUPE J.C. (Eds.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. St. Paul: APS Press, 1999. p. 18-19.
11. SHIGIHARA, D. ; HAMAWAKI, O.T. Seleção de genótipos para juvenildade em progênies de soja. **Revista Horizonte Científico**, v. 4, n. 1, p. 1-26, 2005.
12. TOMERLIN, J.R.; HOWELL, T.A. Distrain: a computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. **Plant Disease**, v. 72, n. 5., p. 455-459, 1988.
13. VERNETTI, F.J.; FERREIRA, L.P. **Míldio – uma nova doença da soja no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Sul, 1969. 12 p. (Circular 41).

Recebido em 05/07/2007

Aceito em 23/11/2007

