

ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE MOFO BRANCO EM SOJA

DIAGRAMATIC SCALE TO EVALUATION OF WHITE MOLD ON SOYBEAN

Fernando Cezar JULIATTI¹; Fausto Fernandes do CRATO²; Fernanda Cristina JULIATTI²; Karla Rodrigues COUTO⁴; Breno Cezar Marinho JULIATTI⁵

1. Professor, Doutor, Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas –LAMIP – UFU, Instituto de Ciências Agrárias – ICIAG, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil. juliatti@ufu.br; 2. Mestre em Fitopatologia – LAMIP – UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 3. Doutoranda em Agronomia - UFU, Uberlândia, MG, Brasil. 4. Mestrando em Fitopatologia - UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

RESUMO: O patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary ocorre em sistemas de cultivo no Brasil por décadas, mas a avaliação da severidade da doença no campo ainda não foi devidamente estabelecida com o uso de escalas diagramáticas para avaliação de fungicidas em campo, produtos biológicos e resistência de germoplasma em programas de melhoramento ou cultivares. Este trabalho teve como objetivo propor uma escala diagramática obtida por meio do Programa Quant, via 500 fotos digitais em alta resolução (300 dpi) com obtidas por uma câmara Nikon D-90, equipada com lentes AFS-Nikor (18-105 mm), e ao mesmo tempo validá-la em ensaios de campo na cultura da soja. Para tanto foram implantados dois ensaios na fazenda do Grupo Eldorado – Uberlândia, com as cultivares de soja BRS-Favorita e P98Y11 (ambas RR nos anos 2010-2011 e 2011-2012, respectivamente). Os ensaios foram em blocos casualizados com seis tratamentos e quatro repetições e parcelas experimentais de 6 linhas com 6 m de comprimento. A área experimental continha em média 7-10 escleródios.m². Durante a condução dos experimentos foi avaliada presença de 2-3 apotécios.m². As avaliações de severidade nos ensaios de controle biológico com *Trichoderma* spp., nas safras 2010-2011 e 2012-2013 foram realizadas validando a escala entre dois grupos de 5 pessoas (cinco avaliadores com e cinco sem treinamento) e 10 imagens (níveis de severidade de 0 a 100 %). Esta escala foi utilizada nacionalmente nos ensaios de rede para o controle biológico e químico de mofo branco da soja.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max*. Mofo-branco. Escala de severidade. Agressividade.

INTRODUÇÃO

O mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, sempre foi de ocorrência esporádica em áreas de sequeiro, ocorrendo em pequenas reboleiras, com baixa incidência por hectare, ao ponto de não se verificar perdas significativas que justificassem alguma preocupação pelos agricultores. Em função de uma série de fatores como: monocultivo, sucessão de culturas com espécies altamente suscetíveis como ervilha, feijão, tomateiro, girassol, nabo forrageiro, algodoeiro e batata, até safras contínuas de soja, utilização de sementes contaminadas e /ou infectadas pelo micélio dormente, além das temperaturas amenas noturnas (abaixo de 18° Celsius) e chuvas prolongadas, durante o cultivo, a doença assumiu grande importância nos campos de cultivo desta leguminosa no cerrado (LEITE, 2005; JULIATTI; JULIATTI, 2010 e SILVA et al., 2010). A doença encontra-se disseminada em áreas do sul, sudeste, centro oeste e até mesmo no nordeste brasileiro. Estima-se a presença do fungo em mais de seis milhões de hectares de soja no Brasil e 300.000 em Minas Gerais (JULIATTI; JULIATTI, 2010). Embora a avaliação de doenças de plantas

represente uma tarefa importante para o fitopatologista, esta atividade tem recebido pouca atenção dos pesquisadores quanto à padronização de seus métodos. Em geral, o fitopatologista aplica um método, não raro criado por ele mesmo, efetua as avaliações necessárias e tira conclusões, assumindo que os dados retratam fielmente a realidade, ou seja, o método de quantificação é o melhor possível. É desejável que se tenha uma padronização dos métodos de avaliação de doenças (HORSFALL; COWLING, 1978), para possibilitar a comparação dos dados obtidos por pesquisadores diversos em diferentes anos e locais (JULIATTI; SANTOS, 1999).

O processamento de imagens digitais vem sendo utilizado, nas mais diversas áreas da ciência, e apresenta grande perspectiva na quantificação de doenças e do dossel das plantas. As imagens digitais têm sido obtidas a partir de “scanners”, câmeras fotográficas ou câmeras de vídeo.

Um dos programas de computador desenvolvido com esse objetivo, na área de fitopatologia, é o QUANT (VALE et al, 2003; LIBERATO, 2003). Inicialmente, o programa visava apenas quantificar a severidade de doenças a partir de imagens digitalizadas de folhas doentes de

uma forma mais acurada e precisa. Entretanto, o programa tem sido amplamente utilizado, no Brasil e no exterior, com diferentes aplicações não só em fitopatologia, como também em outras áreas da ciência.

A principal característica desse programa é segmentar objetos em imagens digitais obtidas via “scanner” ou câmeras digitais, para quantificar dimensões. No caso da avaliação de severidade de doenças em folhas, são segmentados o fundo da imagem (a área da imagem não ocupada pela folha), tecido sadio, o clorótico e o necrótico. O QUANT fornece medidas da área foliar sadia e doente e a severidade, bem como o número e o tamanho de lesões na folha (LIBERATO, 2003).

A quantificação de imagens digitais é uma mera contagem no número de pixels com cada cor e sua conversão em área. As dezenas ou centenas de milhares de cores da imagem digital original são reduzidas a três ou quatro cores apenas. Para tal fim, o QUANT utiliza cinco procedimentos de processamento de imagens: limiar preto e branco, seleção de cores por pallette, seleção de cores por intervalo de coordenadas de cores, seleção de cores por amostragem e seleção de cores por meio de funções discriminantes (LIBERATO, 2003; VALE et al, 2003). O uso deste aplicativo computacional pode ser considerado relevante quando comparado a métodos de avaliação visual que podem levar a resultados pouco acurados, além de ser muito trabalhosos, ou comparados a utilização de aparelhos sofisticados e de alto custo.

O objetivo deste trabalho foi de propor uma escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco ou podridão branca da haste da soja.

ESCALA DIAGRAMÁTICA

Tabela 1. Correlação entre variáveis analisadas (incidência, severidade, índice de doença, massa de escleródios, massa de mil grãos e produtividade) para a eficiência do controle de *S. sclerotiorum* em ensaios de campo com diferentes espécies de *Trichoderma* spp e utilizando a escala diagramática proposta.

Tratamentos	Incidência ¹	Severidade ¹	Índice de Doença	Massa de Escleródio ²	Massa de Mil Grãos ²	Produtividade ³
Incidência	1,000	0,873*	0,983*	0,755*	-0,873*	-0,877*
Severidade	-	1,000	0,908*	0,909*	-0,947*	-0,860*
Índice de Doença	-	-	1,000	0,780*	-0,894*	-0,890*
Peso de Escleródios	-	-	-	1,000	-0,913*	-0,900*
Massa de Mil Grãos	-	-	-	-	1,000	0,875*
Produtividade	-	-	-	-	-	1,000

¹Incidência e Severidade (%). ² Massa de Escleródios e Massa de Mil Grãos (gramas). ³Produtividade (kg ha⁻¹). * Significativo a 5% de probabilidade (t de Student = 2,447). Índice de doença=Incidência (%) X Severidade (%)

As imagens utilizadas na confecção da escala diagramática para avaliação da severidade do mofo branco (Podridão Branca da Haste) em soja, foram obtidas em condições de campo com plantas com diferentes níveis de severidade de doença nos ensaios de controle biológico, safra 2011-2012. Foram obtidas 500 imagens em câmera Nikon D90, lentes AFS-Nikor (18-105 mm). As imagens foram selecionadas e processadas através dos procedimentos descritos a seguir: As imagens (1000 em alta resolução) foram inicialmente processadas para redução de tamanho e para padronização da área a ser processada, posteriormente foram recortadas a fim de restar apenas o local lesionado em em seqüência as imagens foram processadas pelo aplicativo QUANT. O número de cores das imagens foi reduzido para duas pelo procedimento “seleção de cores por pallette”. Sendo as folhas e hastes sadias transformadas em verde e as áreas vegetais lesionadas em vermelho, assim o programa fornecia a percentagem de tecido doente (severidade da doença). A partir daí, foram processadas um grande número de plantas até se obterem as percentagens desejadas na confecção da escala diagramática. Sendo estas de 0%, 2%, 10%, 20%, 50% e 70%. Com base nestes níveis foi proposta uma escala com seis níveis para avaliação da severidade.

Os dados dos experimentos de controle biológico na safra 2010-2011 e 2011-2012 foram submetidos aos à análise de variância com teste de F, com 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000). Foram realizadas as correlações simples de Pearson entre as variáveis para demonstrar a importância e a necessidade das avaliações de severidade em experimentações com a doença mofo banco da soja, bem como o teste t de Student (Tabela 1).

A Figura 1 apresenta os resultados obtidos após a análise e escolha das opções de cores pelo programa Quant. Nota-se que são apresentados seis níveis de severidade que foram utilizados na avaliação de experimentos de controle químico e biológico do fungo *S. sclerotiorum* em campos de soja (Tabela 1). Com base nesta validação recomenda-se o uso da escala em experimentos de campo e condições controladas (casa de vegetação). Regressões lineares entre nota visual para um grupo de cinco avaliadores (sem o uso da escala), o qual foi comparado com outro grupo de cinco avaliadores que foram previamente treinados com o uso da mesma. Os dados obtidos foram submetidos

a análise estatística para determinar a acurácia, precisão e reprodutibilidade da escala diagramática (NUTTER JUNIOR; SCHULTZ, 1995; GODOY et al., 1997).

Os grupos foram então comparados por meio de 10 imagens com diferentes severidades (0, 5, 15, 20, 25, 30, 40, 55, 65 e 75 %) obtendo-se coeficientes de determinação foi de 0,75 e correlação entre os dois grupos de avaliadores foi de 0,65, também significativa pelo teste de t. Quando se usou dois grupos de cinco avaliadores treinados com a escala proposta a precisão atingiu coeficiente de determinação de 0,98 e a correlação de 0,97, mostrando a precisão e acurácia da escala.

Escala Diagramática para avaliação de severidade da podridão branca da haste (mofo branco)

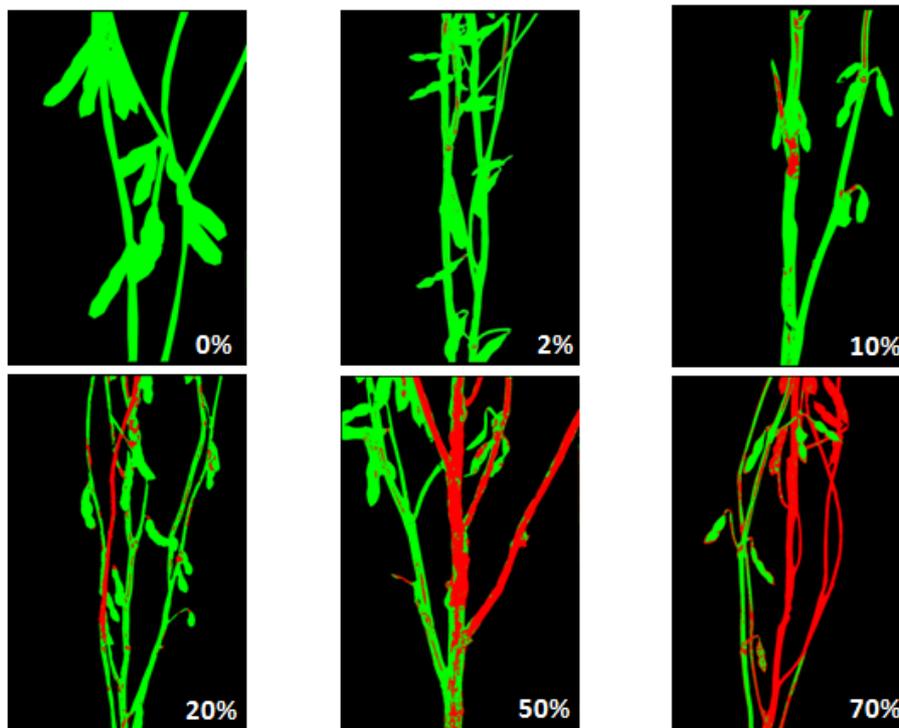


Figura 1. Escala diagramática proposta para avaliações da severidade de mofo branco ou podridão branca da haste da soja.

A acurácia se refere à proximidade entre a severidade estimada e a real e pode ser medida comparando-se os parâmetros intercepto (L) e inclinação (A) da reta de regressão. Quando L e A se desviam de zero e 1, respectivamente, indicam desvios constantes e sistemáticos na avaliação (SUSSEL et al., 2009) (Tabela 2). A redução significativa de A , induzida pelo uso da escala diagramática proposta, indica redução de possíveis superestimativas da severidade pelos avaliadores inexperientes (sem treinamento) que contribuíram

para esta avaliação (Tabela 2). Valores de coeficiente de determinação (R^2) de até 0,70 são considerados baixos (BARBOSA et al., 2006; MAFIA et al., 2011). Em nosso estudo, observou-se baixa precisão pelos avaliadores inexperientes sem o uso da escala, sendo esta corrigida com o uso da escala diagramática (Tabela 2). Portanto, o uso da escala diagramática pode reduzir e minimizar possíveis erros de estimativa da severidade em condições de campo por métodos subjetivos

adotados por cada pesquisador (MALAGI et al., 2011; LAZAROTO et al., 2012).

Tabela 2. Intercepto (L), inclinação (A) e coeficiente de determinação (R^2) obtidos a partir da análise de regressão entre a severidade real do mofo branco em hastes de soja e a severidade estimada por avaliadores inexperientes sem e com o uso da escala diagramática proposta.

Avaliador	Avaliadores sem escala diagramática			Avaliadores com escala diagramática			
	L	A	R^2	L	A	R^2	R^2
A	0,92**	7,11	0,74	0,96**	4,92		0,88
B	0,92	22,52	0,66	0,93	14,21		0,90
C	1,00*	27,00	0,69	1,10	7,42		0,83
D	0,88	14,07	0,45	0,98*	4,98		0,94
E	0,60	14,28	0,65	0,99	10,75		0,94
Média	0,86	16,99	0,64	0,99	8,46		0,90

*,** Hipóteses $L = 0$ e $A = 1$ foram aceitas pelo teste t a 1% ou 5% de significância, respectivamente.

Esta escala foi adotada nacionalmente pelo Consórcio de trabalhos com o fungo *S.*

sclerotiorum na safra 2012-2013, para o controle da doença com produtos químicos e biológicos.

ABSTRACT: The pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* occurs in cropping systems in Brazil for decades, but the assessment of disease severity in the field has not been properly established using diagrammatic scales for evaluation of fungicides in field, biologics products and germplasm for resistance programs improvement or cultivars development. This work aimed to propose a diagrammatic established by Quant Program from 500 high resolution photos (300 dpi) from Nikon D 90 camera, lens AFS-Nikor (18-105 mm), while validating it in field trials when the effectiveness of biological products was being quantified in the 2010-2011 and 2011-2012 seasons. Therefore, we deployed two essays on the farm Eldorado Group - Uberlândia with cultivars (BRS-Favorite and P98Y11, both RR in the years 2010-2011 and 2011-2012, respectively). Trials were in blocks with six treatments and four replications experimental plots of 6 rows with 6 m. As sowing rows spaced 45 cm with a population of plants 15 plants/m. The experimental area contained on average 7-10 escleródios.m⁻². During the conduct of the experiments was assessed presence of 2-3 apotécios.m⁻². During severity assessments were conducted in 2010-2011. This scale was used to validation between two groups from five persons (five trainers and five no trainers group by scale) and 10 levels of severity (0 to 100 %). After validation the scale that was used in the tests from nationally network for biological and chemical control of white mold on soybeans.

KEYWORDS: *Glycine max.* White mold. Scale of severity. Aggressiveness.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; MORA-AGUILERA, G. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem branca do crisântemo. *Summa Phytopathologica*, Jaguariuma, v. 32, n. 1, p. 57-62, 2006.

FERREIRA, F. A. **Sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras. Disponível em: <http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm.>. Acesso em: 20 jun. 2011.

GODOY, C. V.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.; IMAUTI, M. T.; PRIA, M. D.; AMORIM, L.; BERGER, R. D.; BERGAMIM FILHO, A. Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, v. 104, n. 4, p. 336-345, 1997.

HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. Pathometry: the measurement of plant disease. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Eds.) **Plant disease an advanced treatise**: How disease develops in populations. New York. Academic Press. p. 119-136. 1978.

JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. C. **Podridão branca da haste da soja**: Manejo e uso de fungicidas em busca da sustentabilidade nos sistemas de produção. Uberlândia-MG, 2010.

JULIATTI, F. C.; SANTOS, M. A. dos. Métodos de avaliação de doenças de plantas induzidas por fungos e nematóides. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 7, p. 407-455. 1999.

LAZAROTO, A.; SANTOS, I.; KONFLANZ, V.; MALAGI, G.; CAMOCHENA, R. C. Escala diagramática para avaliação de severidade da helmintosporiose comum em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 12, p. 2131-2137, 2012.

LEITE, R. M. V. B. C.. **Ocorrência de doenças causadas por Sclerotinia sclerotiorum em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 3 p. Comunicado Técnico 76, 2005.

LIBERATO, J. R.. **Desenvolvimento e avaliação do Programa QUANT para a quantificação de doenças de plantas por análise de imagens digitais**. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Quantificação de doenças de plantas por análise de imagens digitais. Viçosa: UFV, 2003.

MAFIA, R. G.; FERREIRA, M. A.; BINOTI, D. H. B.; LEITE, H. G. Procedimento estatístico para validação de escalas diagramáticas na quantificação de doenças. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 199-204, 2011.

MALAGI, G.; SANTOS, I.; CAMOCHENA, R.C.; MOCCELLIN, R. Elaboração e validação da escala diagramática para avaliação da mancha branca do milho. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 42, n. 3, p. 797-804, 2011.

NUTTER JÚNIOR, F.W.; ESKER, P.D.; COELHO NETTO, R.A. Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 95-103, 2006.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C. Manejo do mofo branco da soja. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C. (Ed.). **Manejo fitossanitário de cultivos agroenergéticos**. Lavras: UFLA, p. 205-214, 2010.

SUSSEL, A. A. B.; POZZA, E. A.; CASTRO, H. A. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade do mofo cinzento em mamoneira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 186-191, 2009.

VALE, F. X. R.; FERNADES FILHO, E. I. F.; LIBERATO, J. R. QUANT – A **software for plant disease severity assessment**. In: Anais... International Congress of Plant Pathology, 8. Chriatchurch, New Zealand, 2003.