

Elaboração e validação de escalas diagramáticas para avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão - caupi em cultivares com trifólios morfológicamente distintos

Elaboration and validation of a diagrammatic scale to assess bacterial blight severity on cowpea cultivars with morphologically distinct leaflets

Hyanameyka Evangelista de Lima^I Kátia de Lima Nechet^{II} Bernardo de Almeida Halfeld Vieira^{II}
José Rogério de Oliveira^{I*} Henrique da Silva Silveira Duarte^I Ezequiel de Souza Queiroz^{III}
Francidalva de Lima Oliveira^{III}

RESUMO

Duas escalas diagramáticas foram desenvolvidas para quantificar a severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola, em cultivares de feijão-caupi de trifólios com folíolos ovais e lanceolados. Trifólios com diferentes níveis de severidade foram coletados para determinação do limite mínimo e máximo de severidade, sendo níveis intermediários determinados de acordo com a "Lei do Estímulo de Weber-Fechner". Os níveis propostos foram: 0,05; 0,25; 1,00; 3,40; 9,70; e 17,70% para trifólios com folíolos ovais e 0,10; 0,35; 1,10; 3,50; 9,30; e 19,10% para trifólios com folíolos lanceolados. As escalas foram validadas por meio do cálculo da sua acurácia e precisão. Para tanto, realizou-se análises de regressão linear da severidade real com a estimada com e sem o uso das escalas propostas. As estimativas foram feitas por 12 avaliadores sem experiência em quantificar essa doença em 50 trifólios com diferentes níveis de severidade da mancha-bacteriana. Para isso, avaliou-se a acurácia e a precisão dos avaliadores. Com a utilização das escalas diagramáticas, obtiveram-se níveis satisfatórios de acurácia e precisão. Assim, as escalas propostas tornam-se uma ferramenta fácil e de rápida utilização, que podem ser adotadas para auxiliar na avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi, em estudos epidemiológicos e seleção de cultivares resistentes a doença.

Palavras-chave: epidemiologia, quantificação, fitopatometria, *Vigna unguiculata*, *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola.

ABSTRACT

Two diagrammatic scales were developed to assess the severity of bacterial blight of cowpea, caused by *Xanthomonas*

axonopodis pv. vignicola in cowpea cultivars with oval and lanceolate leaflets, considering the limits for minimum and maximum severity of the disease, as well as intermediate levels. The levels were determined in accordance with the "Weber-Fechner's Stimulus Responses Law", representing: 0.05; 0.25; 1.00; 3.40; 9.70; and 17.70% for diagrammatic scale with oval leaflets and 0.10; 0.35; 1.10; 3.50; 9.30; and 19.10% for lanceolate leaflets. The scales were validated by means of their accuracy and precision. To calculate these factors, linear regression analysis of actual disease severity and the estimated ones with and without the use of the scales. Twelve non-experienced evaluators estimated 50 leaflets with different levels of severity bacterial blight. For this, the accuracy and precision of the evaluators was assessed. With the use of diagrammatic scales, there were satisfactory levels of accuracy and precision. Thus, the diagrammatic scales proposed were considered appropriate to assess the severity of bacterial blight of cowpea and can be used in epidemiological studies, to evaluate the reactions of genotypes to the disease.

Key words: epidemiology, quantification, phytopatometry, *Vigna unguiculata*, *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola.

INTRODUÇÃO

A mancha-bacteriana, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola (Burkholder) Dye, é uma importante doença do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) em muitas áreas onde o mesmo é cultivado (GITAITIS, 1983; KHATRI-CHHETRI et al., 2003). Os sinais são observados

^IDepartamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: jrogerio@ufv.br. *Autor para correspondência.

^{II}Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil.

^{III}Universidade Estadual de Roraima (UERR), Alto Alegre, RR, Brasil.

primeiramente pela formação de manchas foliares, puntiformes, necróticas, angulares com centro amarronzado, envolvido frequentemente por halo amarelado, de tecido encharcado de aspecto úmido e em certas condições, cancras bem característicos nas hastas das plantas e manchas irregulares de aspecto úmido nas vagens podem ser observados (FREIRE FILHO et al., 2005; MORETTI et al., 2007).

A disponibilização de uma escala diagramática validada para avaliar a severidade das doenças permite a realização de estudos epidemiológicos para compreender a doença sob a influência de fatores ambientais e para definir os níveis de resistência do hospedeiro, podendo também reduzir a subjetividade das estimativas de severidade entre os avaliadores, melhorando a acurácia e a precisão das avaliações (MARTINS et al., 2004).

Atualmente, não existe escala diagramática para auxiliar na avaliação da severidade da mancha bacteriana do feijão-caupi. Tendo em vista as diferenças morfológicas de trifólios de diferentes cultivares, surge a necessidade de elaboração de escalas diagramáticas, para cultivares com trifólios de folíolos ovais e para cultivares com trifólios de folíolos lanceolados. Assim, a proposta desse trabalho foi elaborar e validar duas escalas diagramáticas para a quantificação da severidade da mancha bacteriana do feijão-caupi em plantas com trifólios de folíolos ovais e de folíolos lanceolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração das escalas diagramáticas, foram coletados 150 trifólios de plantas de feijão-caupi das cultivares 'BRS Bragança' e 'BRS Mazagão', que apresentam trifólios de folíolo oval e trifólios de folíolo lanceolado, respectivamente, cultivadas na área experimental da Embrapa Roraima e inoculadas no estádio de 2-3 trifólios e no início da floração com um isolado de *Xav*, na concentração de 10^7 UFC mL⁻¹. Dos trifólios coletados foram obtidas imagens, por meio de fotografia digital, posicionando a máquina (SONY Cyber shot DSC-H3) a 20cm de distância dos trifólios. As imagens foram transferidas para um microcomputador para determinar o percentual de área necrosada (severidade real) com o auxílio do programa ASSESS 2.0 (LAMARI, 2008). A partir da severidade mínima e máxima encontrada nos trifólios analisados, obedecendo a "Lei do Estímulo

de Weber-Fechner" (HORSFALL & BARRAT, 1945) e seguindo uma escala logarítmica, estabeleceram-se quatro níveis intermediários da doença para compor a escala diagramática, reproduzindo-se a distribuição e a frequência das lesões num trifólio padrão de área conhecida, para cada cultivar, com o auxílio do programa Paint (PAINT.NET, v.3.5.10), para obtenção das escalas diagramáticas com seis níveis de severidade (Figura 1).

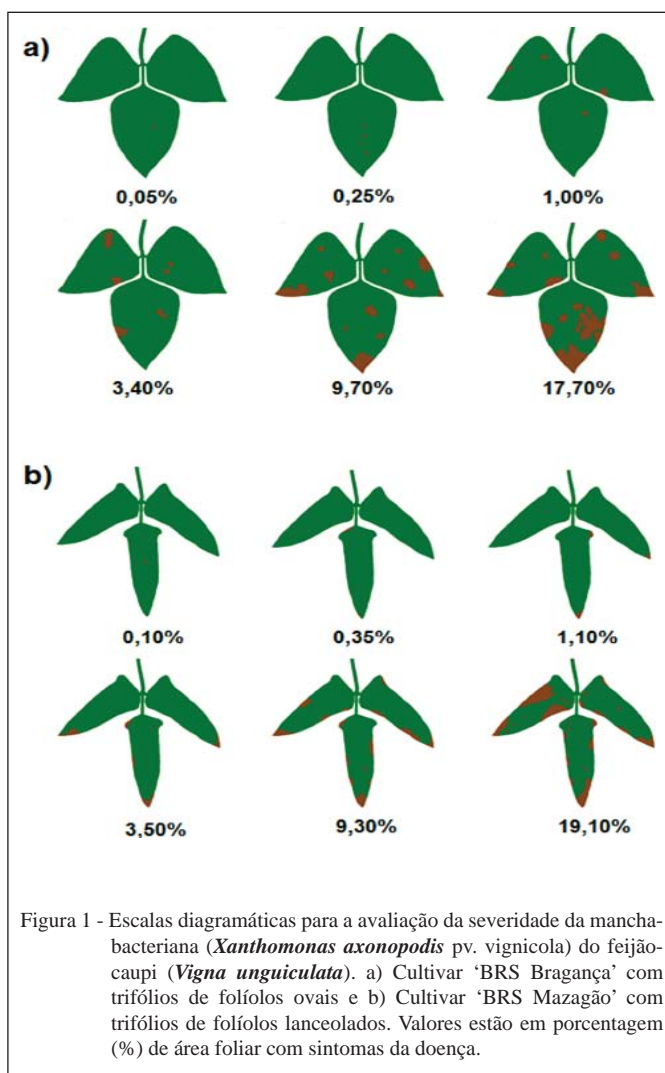
Para a validação das escalas, 50 imagens de trifólios de folíolos lanceolados e 50 de trifólios de folíolos ovais, com diferentes níveis de severidade, foram analisadas por 12 avaliadores independentes. Os avaliadores estimaram a severidade da doença, em um primeiro momento sem a escala diagramática e, em seguida, com o auxílio de uma cópia colorida das duas escalas diagramáticas. A maioria dos avaliadores tinha experiência na quantificação de doenças com uso de escalas, mas todos eram inexperientes na quantificação da mancha bacteriana do feijão-caupi.

Regressões lineares entre a severidade real (variável independente) e a severidade estimada (variável dependente) pelos avaliadores foram calculadas para cada um deles (Figuras 2 e 3). A precisão foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (R^2) da regressão e pela variância dos erros (severidade estimada menos a real). A acurácia das estimativas foi determinada pelo teste *t* aplicada 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, em nível de 5% de probabilidade. As regressões entre a severidade real e a estimada para cada avaliador foram realizadas com o programa MINITAB versão 14.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As escalas diagramáticas propostas neste trabalho apresentam seis níveis de severidade cada, sendo 0,05; 0,25; 1,00; 3,40; 9,70; 17,70% para cultivares com trifólios de folíolos ovais e 0,10; 0,35; 1,10; 3,50; 9,30; 19,10%, para folíolos lanceolados (Figura 1).

Valores de intercepto (a) significativamente diferentes de zero indicam a presença de desvios constantes, enquanto valores de coeficiente angular da reta (b) que desviam significativamente de

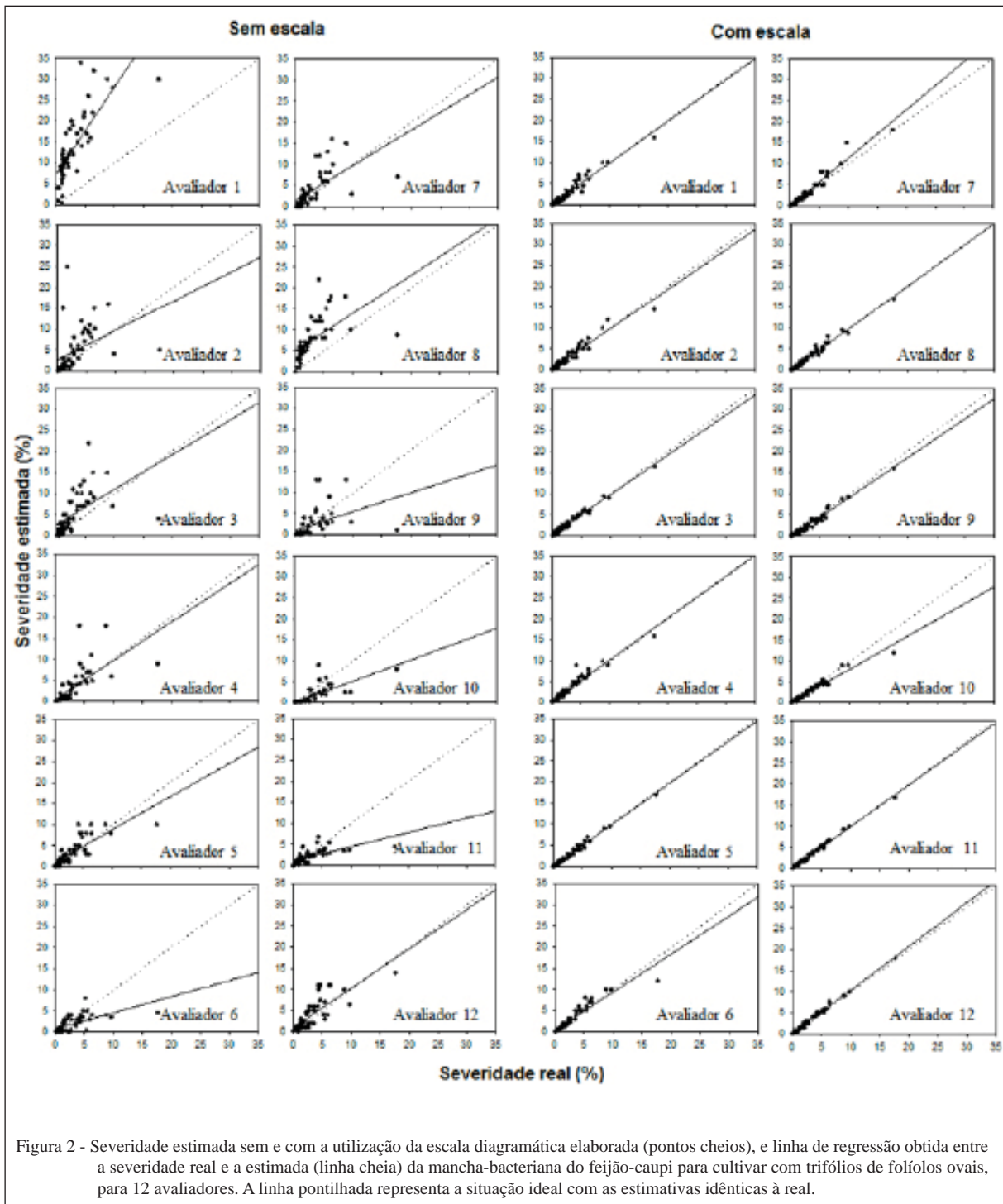


um indicam a presença de desvios sistemáticos (NUTTER et al., 1993). Na validação das escalas diagramáticas, as estimativas do intercepto (a) não diferiram de zero ($P > 0,05$) para três avaliadores (4, 9 e 10) quando não utilizaram a escala de trifólios de folíolos ovais, e para nove avaliadores (2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 e 12) quando não utilizaram a escala de folíolos lanceolados. Em contrapartida, com o uso das escalas, metade dos avaliadores que utilizaram a escala de folíolos ovais (1, 2, 5, 7, 8, e 10) e nenhum dos avaliadores que utilizaram a escala de folíolos lanceolados apresentou desvios constantes (Tabela 1). O coeficiente angular da reta (b) não diferiu de um ($P > 0,05$) para cinco avaliadores (2, 3, 7, 8 e 12) e para três avaliadores (1, 4 e 8), sem o uso da escala de folíolos ovais e lanceolados, respectivamente. Porém,

com o uso das escalas, a maioria dos avaliadores não apresentou desvios sistemáticos, pois não houve diferença do coeficiente angular da reta (b) para sete avaliadores (1, 2, 4, 5, 8, 11 e 12) da escala de folíolos ovais e (1, 3, 5, 7, 10, 11 e 12) lanceolados (Tabela 1).

Com o uso das escalas, houve aumento da precisão para todos os avaliadores (Tabela 1), pois os níveis de precisão das estimativas visuais da mancha-bacteriana do feijão-caupi apresentaram valores de R^2 superiores a 88%, considerado alto para este tipo de avaliação (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

Os valores de R^2 ficaram entre 88,0 e 99,1 com média de 95,3 com o uso da escala de trifólios de folíolos ovais e entre 88,7 e 99,7 com média de 95,8 com a escala de folíolos lanceolados, assemelhando-se aos verificados em outros estudos de validação



de escalas (HALFELD-VIEIRA & NECHET, 2006; CAPUCHO et al., 2010; CELOTO & PAPA, 2010; LENZ et al., 2010). A precisão das estimativas sem o uso das escalas foi baixa, pois os valores de R^2 sem o uso da escala de trifólios de folíolos ovais e da de trifólios de folíolos lanceolados, variaram de

16,7 a 63,7 com média de 41,8 e de 10,5 a 29,9 com média de 20,7, respectivamente (Tabela 1), havendo maior precisão das estimativas com o uso das escalas diagramáticas.

Observou-se que sem a utilização das escalas diagramáticas, cerca de 75% dos avaliadores

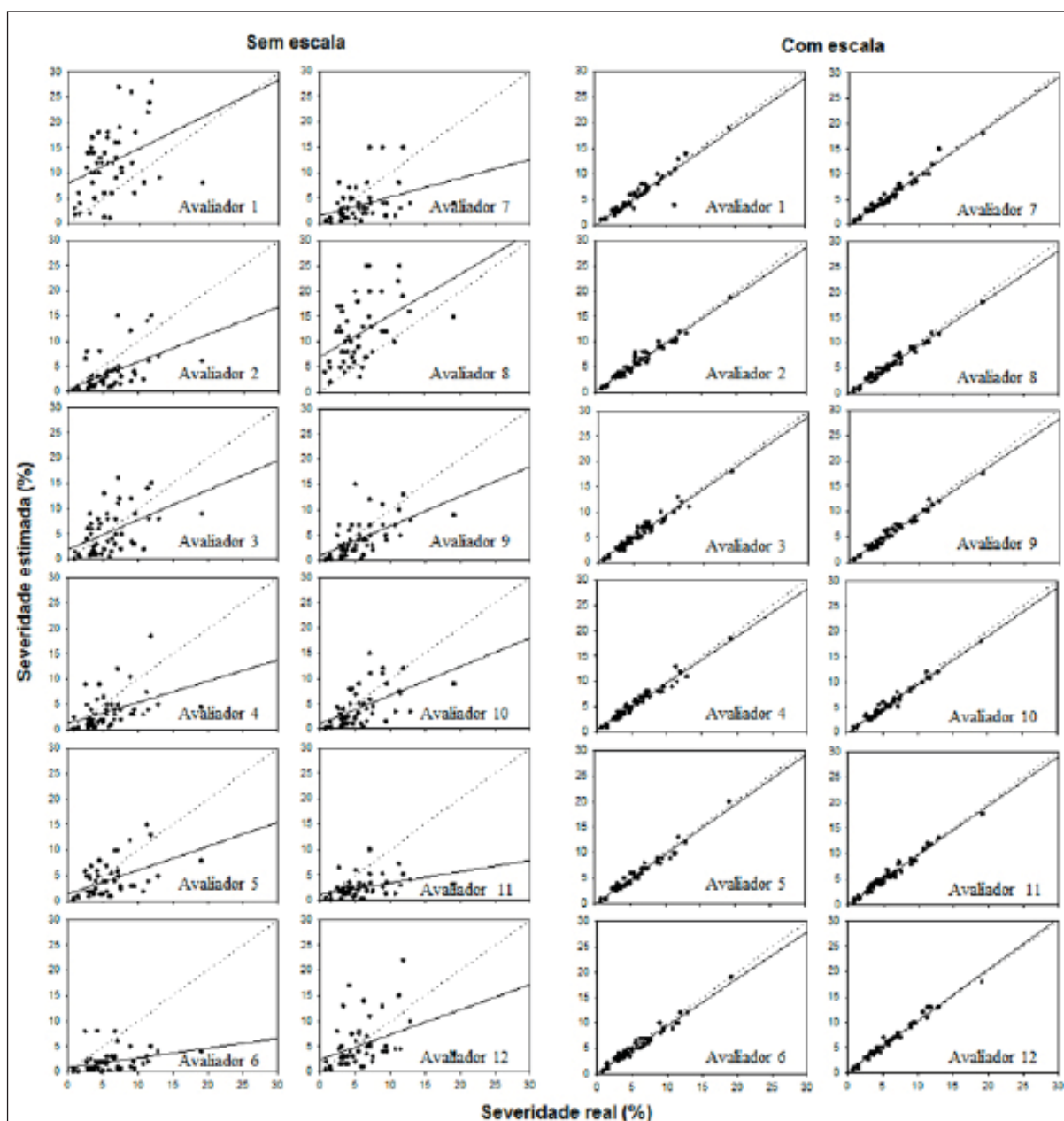


Figura 3 - Severidade estimada sem e com a utilização da escala diagramática elaborada (pontos cheios), e linha de regressão obtida entre a severidade real e a estimada (linha cheia) da mancha-bacteriana do feijão-caupi para cultivar com trifólios de folíolos lanceolados, para 12 avaliadores. A linha pontilhada representa a situação ideal com as estimativas idênticas à real.

apresentaram maiores desvios nos erros. Sem a escala de trifólios de folíolos ovais, dois avaliadores (1 e 2) chegaram a apresentar erros ultrapassando 23%, enquanto sete avaliadores (3, 4, 6, 7, 8, 9, e 11) apresentaram erros superiores a 10% e inferiores a 23% (Figura 4). Sem a escala de trifólios de folíolos lanceolados, dois avaliadores (1 e 8)

chegaram a apresentar erros ultrapassando 18%, e sete avaliadores (2, 4, 5, 6, 7, 11 e 12) apresentaram erros superiores a 10% e inferiores a 18% (Figura 5). Os demais avaliadores, mesmo sem o uso das escalas, apresentaram erros inferiores a 10%, sendo assim, considerados como bons avaliadores (NUTTER & SCHULTZ, 1995). No entanto, com a utilização

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 a estimada da mancha-bacteriana do feijão-caupi, realizada por 12 avaliadores, com e sem a utilização das escalas diagramáticas para cultivares com trifólios de folíolos ovais (A) e lanceolados (B).

(A) -----Avaliadores da escala com trifólio de folíolos ovais-----													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Média
	----- Sem escala -----												
a	7,56*	2,69*	2,68*	0,66	0,99*	0,74*	1,51*	4,85*	1,04	0,07	1,15*	1,03*	2,08
b	2,06*	0,70	0,83	0,91*	0,78*	0,38*	0,83	0,91	0,44*	0,50*	0,34*	0,93	0,80
R^2	58,6	16,8	28,3	45,5	62,7	39,6	38,7	34,5	16,70	54,8	41,4	63,7	41,80
	----- Com escala -----												
a	0,04	0,23	0,32*	0,36*	0,02	0,45*	-0,12	-0,11	-0,23*	0,19	0,19*	0,14*	0,12
b	0,99	0,95	0,95*	0,99	0,99	0,89*	1,15*	1,00	0,94*	0,79*	0,98	1,03	0,97
R^2	93,5	92,9	97,7	92,7	98,4	88,0	94,0	96,8	97,3	94,5	99,1	99,0	95,3
(B) -----Avaliadores da escala com trifólio de folíolos lanceolados-----													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Média
	----- Sem escala -----												
a	7,98*	0,42	1,99	1,23	1,51	0,75	1,52	6,90*	0,92	0,95	1,20*	2,36	2,31
b	0,68	0,55*	0,58*	0,42	0,46*	0,19*	0,37*	0,82	0,59*	0,57*	0,22*	0,49*	0,50
R^2	13,4	27,4	23,6	18,5	24,0	10,5	13,5	22,9	34,8	29,9	16,2	13,9	20,72
	----- Com escala -----												
a	-0,06	0,37	0,17	0,36	-0,07	0,20	-0,12	0,08	0,13	-0,07	0,24	0,20	0,12
b	0,96	0,94*	0,96	0,93*	0,97	0,93*	0,98	0,94*	0,94*	0,96	0,96	1,07	0,96
R^2	88,7	95,8	95,7	95,3	96,1	96,2	96,5	97,1	97,2	97,1	96,7	97,7	95,8

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

das escalas diagramáticas, houve redução dos erros absolutos para as estimativas, em relação às obtidas sem o uso das escalas. A maioria dos erros absolutos foi inferior a 5% quando os avaliadores utilizaram as escalas para estimar a severidade da doença (Figuras 4 e 5). De acordo com NUTTER & WORAWITLIKIT (1989), para que um avaliador possa ser considerado excelente, o erro de suas estimativas deve estar dentro de um intervalo de $\pm 5\%$ do valor real, e bom quando não ultrapassa a $\pm 10\%$. Nesse sentido, todos os avaliadores que utilizaram a escala de trifólios de folíolos ovais e a maioria dos avaliadores (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) que utilizaram a escala de trifólios de folíolos lanceolados foram considerados excelentes na avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi, pois a média dos erros absolutos permaneceu no intervalo de +5 a -5%. O avaliador 1 referente à escala de folíolo lanceolado, foi considerado bom, pois a média dos erros absolutos permaneceu no intervalo de +10 a -10%.

Com o uso da escala diagramática de trifólios de folíolos ovais, metade dos avaliadores (1, 2, 5, 7, 8 e 10) apresentou tendência em subestimar

a severidade da doença, e os demais avaliadores apresentaram tendência em superestimar esta severidade (Tabela 1). Com o uso da escala de trifólios de folíolos lanceolados houve tendência em subestimar a severidade da doença (Tabela 1), pois para todos os avaliadores predominaram erros com sinais negativos (Figura 5). A maioria dos avaliadores não apresentou erros sistemáticos com o uso das duas escalas, o que é interessante, pois avaliações realizadas com menor acurácia do que precisão não apresentam sérios problemas, dado que os desvios normalmente seguem o mesmo padrão (GOMES et al., 2004). Segundo STONEHOUSE (1994), a presença de certo nível de erro absoluto nas mensurações pode ser compensada pela rapidez e padronização quando se utiliza a escala diagramática.

Portanto, as escalas propostas para a avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi, tanto para cultivares de trifólios com folíolos ovais, quanto para cultivares de trifólios com folíolos lanceolados, foram de fácil utilização. Desta forma, essas escalas podem ser consideradas ferramentas úteis nos estudos epidemiológicos,

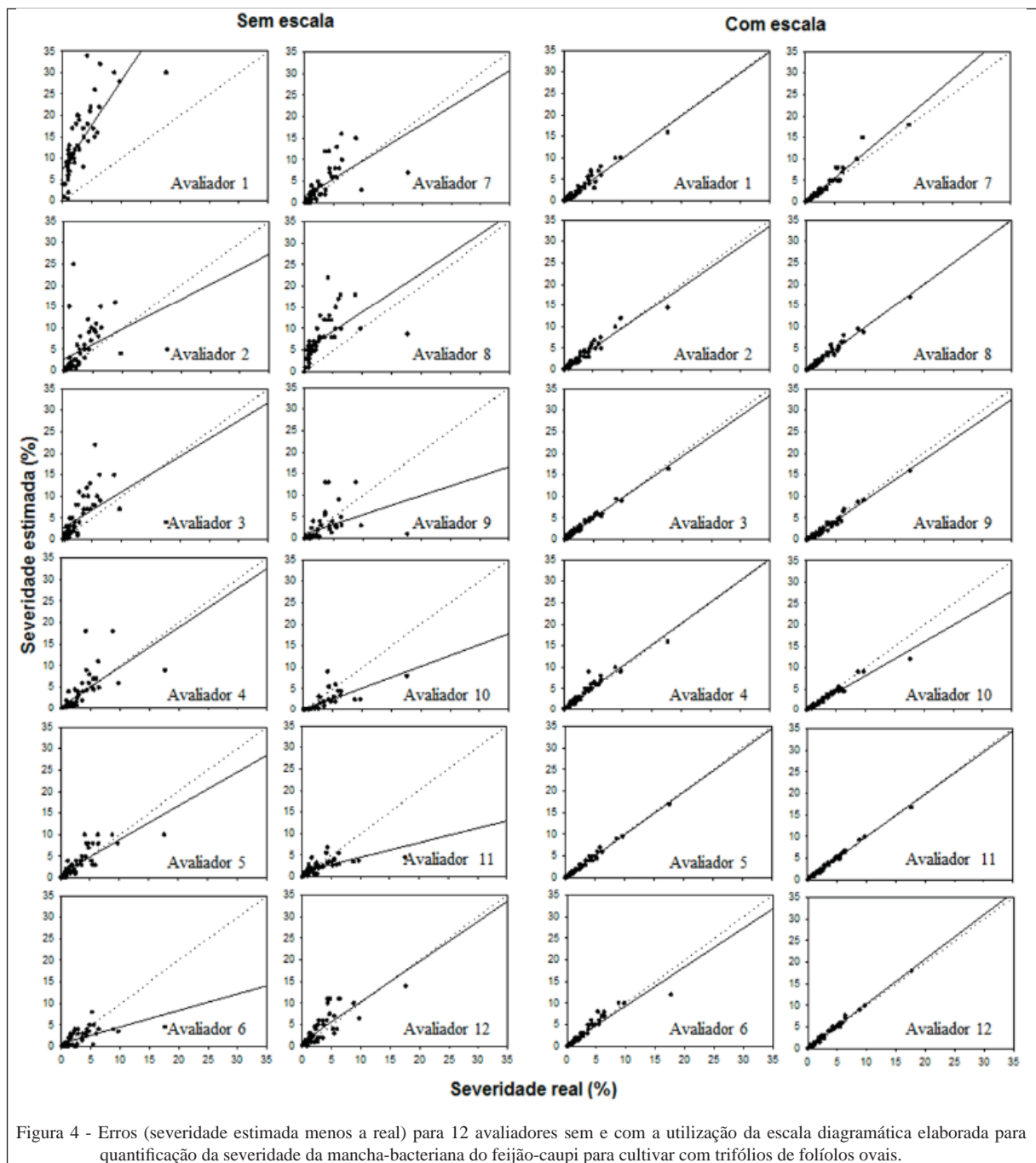


Figura 4 - Erros (severidade estimada menos a real) para 12 avaliadores sem e com a utilização da escala diagramática elaborada para quantificação da severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi para cultivar com trifólios de folíolos ovais.

proporcionando informações adequadas para esse patossistema.

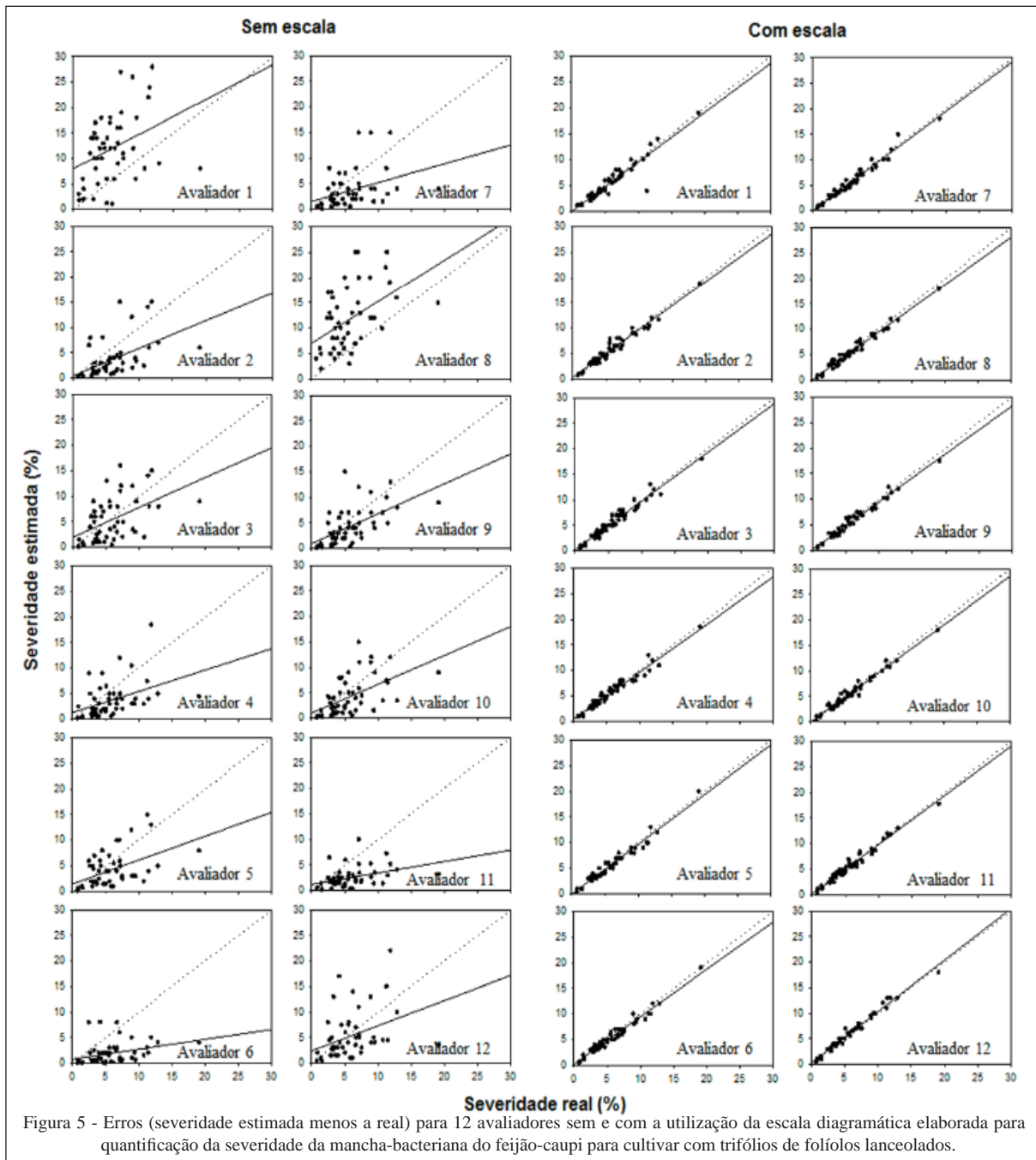
CONCLUSÃO

As escalas diagramáticas elaboradas para avaliar a severidade da mancha-bacteriana em cultivares de feijão-caupi de trifólios com folíolos

ovais e de trifólios com folíolos lanceolados permitiram quantificar os sinais da doença de forma acurada e precisa.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos pós-graduandos do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) pelo auxílio na validação das escalas diagramáticas e ao



Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Proc. 472400/2009-6) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

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

CAPUCHO, A.S. et al. Influence of leaf position that correspond to whole plant severity and diagrammatic scale for white spot of corn.

Crop Protection, v.29, p.1015-1020, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219410001079>>. Acesso em: 03 fev. 2012. doi: 10.1016/j.cropro.2010.04.012.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.E.S. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha alvo em folhas de acerola. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p.258-262, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1982-56762010000400010&script=sci_arttext>. Acesso em: 03 jan. 2012. doi: 10.1590/S1982-56762010000400010.

- FREIRE FILHO, F.R. et al. **Feijão-caupi**: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519p.
- GITAITIS, R.D. Two resistant responses in cowpea induced by different strains of *Xanthomonas campestris* pv. vignicola. **Plant Disease**, v.67, p.1025-1028, 1983.
- GOMES, A.M.A. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.38-42, 2004.
- HALFELD-VIEIRA, B.A.; NECHET, K.L. Elaboração e validação de escala diagramática para a avaliação da mancha-de-cercospora em melancia. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.46-50, 2006.
- HORSFALL, J.G.; BARRAT, R.W. An improved grading system for measuring plant disease. **Phytopathology**, v.35, p.655, 1945.
- KHATRI-CHHETRI, G.B. et al. Metabolic diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola, causal agent of cowpea bacterial blight and pustule. **European Journal of Plant Pathology**, v.109, p.851-860, 2003.
- LAMARI, L. **ASSESS 2.0**: Image analysis software for disease quantification. Saint Paul: APS, 2008. 125p.
- LENZ, G. et al. Escala diagramática para a avaliação de severidade de mancha-parda em arroz. **Ciência Rural**, v.40, p.752-758, 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782010000400002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>.
- MARTINS, M.C. et al. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.179-184, 2004.
- MORETTI, C. et al. Occurrence of leaf spot on cowpea (*Vigna unguiculata*) caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola in Mozambique. **Plant Pathology**, v.56, p. 347, 2007.
- NUTTER, F.W. et al. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. **Phytopathology**, v.83, p.806-812, 1993.
- NUTTER, 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.
- NUTTER, 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**, v.17, p.174-184, 1995.
- STONEHOUSE, J. Assessment of Andean bean diseases using visual keys. **Plant Pathology**, v.43, p.519-527, 1994.