



Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da estria bacteriana do milho

Alex Júnior Pietrobon^{1*}, Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno², José Barbosa Duarte Júnior² e Odair José Kuhn²

¹Corteva Agriscience –Toledo – Paraná. Brasil.

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Marechal Cândido Rondon, Paraná. Brasil

* Autor Correspondente: *alexpietrobom@hotmail.com

Recebido: 27/09/2021; Aceito: 19/04/2022

Resumo: A bacteriose (*Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*) apesar de recente no Brasil pode causar danos sobre a produção, rendimento e qualidade das plantas, em vista disso, é, pois, necessário desenvolver ferramentas que auxiliem na avaliação dessa doença. Nesse contexto, a utilização de escala diagramática emerge como uma importante forma de quantificar a doença, através da estimativa de severidade em folhas sintomáticas. Portanto, principal objetivo deste estudo foi desenvolver e validar uma escala diagramática para avaliação da severidade de estria bacteriana no milho. Para tanto, foram analisadas 60 folhas de milho, coletadas a campo, com diferentes níveis de severidade. A escala diagramática foi elaborada com doze níveis de severidade, distribuídos de forma crescente (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 14%, 16%, 18% e 22%). A escala foi validada por dez avaliadores, seis não especializados na área e quatro especializados, para isso, realizaram-se avaliações de dez folhas sintomáticas, sem o uso da escala diagramática e, posteriormente, fazendo o uso da mesma. Dessa forma, foram obtidos os valores para coeficiente angular da equação linear (b) para o intercepto da regressão linear (a) e para o coeficiente de determinação (R^2) de cada avaliador, obtidos nas regressões entre severidade real (variável independente) e severidade estimada (variável dependente), e os erros absolutos. A presente escala diagramática mostrou-se válida e eficiente para quantificar a severidade de estria bacteriana em folhas de milho.

Palavras-chave: *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*; *Zea mays*; doença foliar.

Elaboration and validation of a grammar scale to evaluate the bacterial stria of corn

Abstract: Bacterial leaf streak caused by *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* although recent in Brazil can cause damage to the production, yield and quality of plants, in view of this, it is therefore necessary to develop tools that assist in the evaluation of this disease. In this context, the use of a grammar scale emerges as an important way to quantify the disease, through of severity estimation in symptomatic leaves. Therefore, the main objective of this study was to develop and validate a diagrammatic scale to evaluate the severity of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* in corn leaves. For this, 60 corn leaves were analyzed, collected in the field, with different levels of severity. The grammar scale was elaborated with twelve levels of severity, increasingly distributed growing (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 14%, 16%, 18% and 22%). The scale was validated by ten evaluators, six non-specialized in the area and four specialized, for this, evaluations of ten symptomatic leaves were performed, without the use of the grammar scale and, later, making use of it. Thus, the values for angular coefficient of the linear equation (b) were obtained for the linear regression intercept (a) and for the coefficient of determination (R^2) of each evaluator, obtained in the regressions between actual severity (independent variable) and estimated severity (dependent variable), and absolute errors. The present diagrammatic scale proved to be valid and efficient to quantify the severity of bacterial stria in corn leaves.

Key-words: *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*; *Zea mays*; leaf disease.

1. INTRODUÇÃO

A estria bacteriana do milho (*Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*) (COBB, 1894) é uma doença foliar, descrita pela primeira vez na década de 40, na África do Sul (PEREZ-QUINTERO et al., 2020). Entretanto, nos últimos

anos se disseminou para diversas regiões produtoras ao redor do mundo, atingindo níveis epidêmicos em pelo menos nove regiões produtoras dos Estados Unidos (KORUS et al., 2017), em diversas províncias Argentinas (PLAZAS, et al., 2018), e no Brasil, sendo inicialmente observada em regiões produtoras de milho na região Oeste do estado Paranaense (LEITE JÚNIOR et al., 2018).

No território brasileiro, os primeiros sintomas da doença foram identificados no ano de 2016, porém, durante a segunda safra de 2018 houve aumento na incidência. A penetração do patógeno nos tecidos ocorre através dos estômatos ou de ferimentos físicos e, geralmente, a colonização do tecido foliar acontece paralelamente às nervuras centrais (LEITE JÚNIOR et al., 2018).

Os sintomas da estria bacteriana do milho podem ocorrer em qualquer fase de crescimento da planta. Inicialmente, se caracterizam pelo aparecimento de pequenas gotículas, de aspecto seco e coloração amarelada nas folhas. E, a partir do desenvolvimento da infecção, tais gotículas evoluem, gerando lesões finas e alongadas, com bordas onduladas e amareladas, essas particularidades permitem distingui-la de outras doenças foliares, como a causada por *Cercospora* spp. (LEITE JÚNIOR et al., 2018).

De forma geral, as lesões causadas por *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* podem apresentar coloração amarela-alaranjada ou marrom. Em alguns casos mais severos, as lesões coalescem e podem atingir toda a extensão foliar, disseminando o patógeno para folhas inferiores, produzindo necroses e causando eventuais deformações nas folhas, principalmente em híbridos de milho suscetíveis à doença (LEITE JÚNIOR et al., 2018).

A ocorrência da doença é favorecida por requisitos edafoclimáticos, tendo máxima evolução em temperaturas próximas a 28°C (ORTIZ-CASTRO et al., 2020), sendo assim o clima brasileiro apresenta condições ideais para o pleno desenvolvimento da estria bacteriana do milho. Nesse contexto, cabe destacar que a dispersão da bactéria acontece a partir do vento (BRODERS, 2017), água de chuva e/ou irrigação (ORTIZ-CASTRO et al., 2020), sementes infectadas (ARIAS et al., 2020) e equipamentos agrícolas contaminados (LEITE JUNIOR et al., 2018).

Apesar dessas informações, pouco se sabe sobre as estratégias de manejo para o controle de estria bacteriana. Em vista disso, torna-se extremamente importante o desenvolvimento de ferramentas capazes de colaborar com a quantificação da severidade desta doença. Uma alternativa que pode ser adotada é a escala diagramática com intuito de monitorar o progresso da doença no campo e auxiliar na tomada de decisão acerca das táticas e estratégias de manejo a serem adotadas. A escala diagramática, quando elaborada com critério e validada, é um método padronizado, que melhora a precisão das estimativas e reduz a subjetividade (AMORIM & BERGAMIN FILHO, 2018).

O uso de escalas visa melhorar a precisão e a acurácia do avaliador, em vista disso, a avaliação errônea da severidade da doença pode causar conclusões imprecisas, afetando decisões de manejo (BOCK et al., 2010). Por isso, é importante submeter as escalas a análises, para validação, antes de serem utilizadas como metodologia para quantificação da doença (NUTTER JUNIOR & SCHULTZ, 1995). Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar uma escala diagramática para avaliação da severidade de estria bacteriana no milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para elaboração da escala diagramática, foram coletadas a campo 60 folhas de milho susceptível (P4285VYHR), entre os estádios R1 (pendoamento) e R2 (início da formação de grãos), com diferentes níveis de severidade de estria bacteriana, no município de Toledo, Estado do Paraná, sob as seguintes coordenadas geográficas, latitude 24° 67' 30" S e longitude 53° 75' 34" W, na safra 2020. As folhas de milho foram posicionadas, individualmente, em um fundo branco e com o auxílio de uma câmera digital, situada a cerca de 50 cm de distância da folha, capturou-se imagem de cada folha sintomática. Posteriormente, com o auxílio do software QUANT v.1.0.2, realizou-se a leitura da quantidade de área foliar total e área foliar lesionada por imagem capturada.

Para a validação da escala diagramática proposta, selecionaram-se 10 imagens foliares com diferentes níveis de severidade, até o valor máximo de severidade encontrado de 22%. Cabe destacar que a doença pode apresentar níveis de severidade superiores à 22%, entretanto, este valor foi selecionado pelo fato de que foi o maior nível de severidade encontrado na área experimental do presente estudo. Essas foram avaliadas por 10 pessoas, sendo seis não especializadas na área e quatro especializadas, dentre eles: acadêmicos de agronomia e engenheiros agrônomos. Deste total, quatro pessoas são formadas em Agronomia, com experiência em avaliação, acompanhamento de diferentes doenças em milho e seis pessoas sem ou com pouca experiência. Inicialmente, sem o uso da escala, todos os avaliadores estimaram valores em porcentagem para cada uma das imagens. Por conseguinte, usando a escala, essas mesmas pessoas avaliaram os níveis de área lesionada de cada uma das imagens propostas.

A acurácia dos avaliadores foi determinada pelo coeficiente angular da equação linear (b) e pelo intercepto da regressão linear (a), sendo que, quanto mais próximo de um (1) for o coeficiente angular e mais próximo de zero (0) for o intercepto da regressão linear, maior será a acurácia. Conforme Bergamin Filho & Amorim (1996), valores próximos entre os estimados e os reais determinam a acurácia nas avaliações.

A precisão da escala foi obtida através da análise de variância dos erros absolutos, ou seja, severidade estimada menos (-) a severidade real e, pelo coeficiente de determinação (R^2) da regressão linear. Quanto mais próximo de 1 for o valor de R^2 , maior será a precisão (MAZARO et al., 2006).

Utilizou-se o teste t para verificar se os coeficientes angulares da reta (b) e os interceptos da regressão linear (a), foram significativamente diferentes de um e zero, respectivamente. As análises de regressão linear e dos erros absolutos foram realizadas pelo Microsoft Excel 2016.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escala final foi elaborada com 12 níveis de severidade, seguindo a determinação de acuidade visual definida pela lei de estímulo-resposta de Weber-Fechner (HORSFALL & BARRATT, 1945), com valores distribuídos de forma crescentes (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 14%, 16%, 18% e 22%) de área foliar lesionada, com a intenção de se obter maior precisão e acurácia nas avaliações da estria bacteriana do milho, conforme se verifica na Figura 1 com cores ilustrativas.

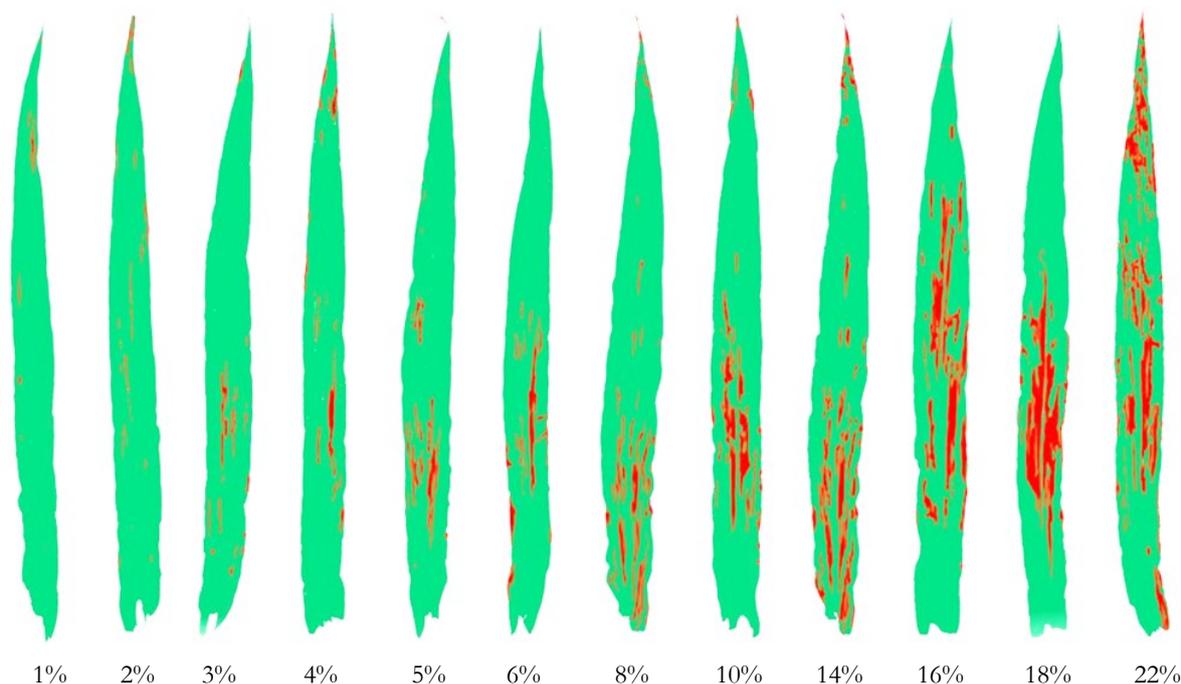


Figura 1. Escala diagramática desenvolvida para avaliação da severidade da estria bacteriana do milho.

A utilização da escala contribuiu significativamente para a acurácia dos avaliadores, visto que as médias de severidade estimadas estiveram próximas aos valores reais obtidos pelo programa QUANT v.1.0.2. Ou seja, as linhas com tendência de severidade estimada determinadas por avaliador com uso da escala estiveram sempre próximas à linha de severidade real, quando comparado a avaliação da doença sem a utilização da escala, como se verifica na Figura 2.

A escala diagramática mostrou-se também precisa, conforme os coeficientes de determinação (R^2) observados, onde os valores obtidos pelos avaliadores sem o uso da escala variaram de 0,72 a 0,92, com média de 0,87, enquanto pela utilização da escala os coeficientes aumentaram, variando de 0,92 a 0,98, com média de 0,96, de acordo com a Tabela 1.

Portanto, verificou-se que o uso da escala contribuiu para que o coeficiente de determinação médio aumentasse de 0,87 para 0,96, o que demonstrou a precisão desta, visto que o coeficiente esteve próximo do valor 1 (um), considerado ideal (MAZARO et al., 2006).

Para o intercepto das linhas de regressão (a) obteve-se média dos dez avaliadores de 2,05 sem a utilização da escala e de 0,44 com o uso dela, respectivamente. Os coeficientes angulares médios (b) das linhas de regressão, apresentaram valores de 1,76 e 0,89, respectivamente, antes e depois da utilização da escala pelos avaliadores.

Os valores médios observados com o uso da escala proposta, para o intercepto das linhas de regressão (a) que passou a ficar próximo do valor 0 (zero), e para os coeficientes angulares (b) passou a ser próximo do valor 1 (um), confirmando maior acuracidade, de acordo com Mazaro et al. (2006). Por outro lado, os valores obtidos sem a utilização da escala, diferiram estatisticamente de 0 (zero) e 1 (um) respectivamente, apresentando baixa acurácia para as avaliações sem a utilização da escala.

Em relação aos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real), a utilização da escala contribuiu para que os avaliadores apresentassem menor tendência de superestimar ou subestimar os valores, em relação aos níveis de severidade real, como pode se observar na Figura 3.

Nas avaliações sem o uso da escala diagramática proposta, os valores médios para os erros absolutos (resíduos), variaram de + 6,98 a + 2,54 e fazendo o uso da escala, os valores refletiram erros absolutos que variaram de + 1,58 a + 0,68.

Nesse contexto, outros estudos abordaram sobre uma tendência dos avaliadores superestimarem ou subestimarem o tecido afetado por diferentes patologias. Pesquisadores observaram que durante o processo de

elaboração e validação de escalas diagramáticas, os avaliadores superestimaram a severidade da mancha branca em milho (CAPUCHO et al., 2010); pústula bacteriana em soja (ACCO et al., 2020) e lesões de manchas marrons em frutos de café (PAULA et al., 2016). Entretanto, o mesmo não foi constatado por Soares et al. (2009) que ao desenvolver escala diagramática para mancha alvo de soja, não observou tendência extrema em subestimar ou superestimar a severidade da doença.

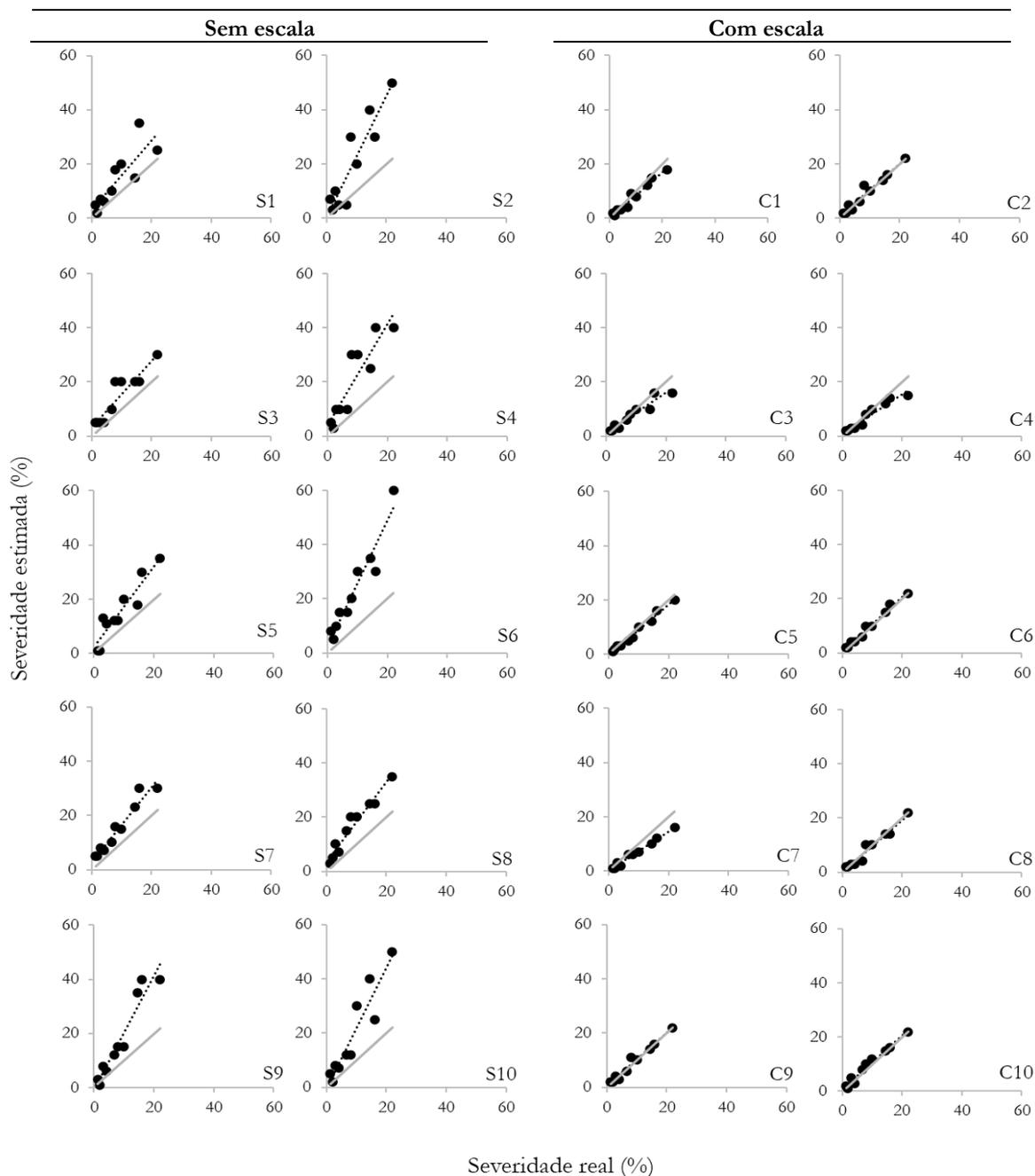


Figura 2. Relação entre severidade real (linha cheia) e severidade estimada, (linha pontilhada), para estria bacteriana do milho, obtida por dez avaliadores sem (S1 a S10) e com (C1 a C10) a escala diagramática proposta. Toledo, Paraná, 2020.

No presente estudo, sem usar a escala diagramática, as estimativas dos avaliadores para severidade da estria bacteriana em milho mostraram-se imprecisas e pouco acuradas. Com relação a este fato, Kranz (1988) afirmou que o tamanho, formato e coloração das lesões podem influenciar nas estimativas. Em outro estudo, a precisão da avaliação melhorou conforme o aumento da severidade da doença foliar (BOCK et al., 2013).

Ademais, Paula et al. (2016) indicaram que o uso de escala diagramática é um método que permite avaliar a doença de forma uniforme, se comparada ao não uso de escala. Os resultados obtidos no presente estudo são coerentes a esta afirmação, pois a escala diagramática proposta para avaliar a severidade da estria bacteriana foliar do milho contribuiu para maior precisão e acurácia dos avaliadores.

Tabela 1. Coeficientes lineares (a), coeficientes angulares (b), coeficientes de determinação (R²) das equações de regressão linear simples, relacionando estimativas visuais (variável dependente) de severidade da estria bacteriana do milho (*Xanthomonas vasicola* pv. *vascularum*) efetuadas por dez avaliadores, sem e com o uso da escala diagramática proposta, à severidade real (variável independente) obtida com o auxílio do software QUANT_{v.1.0.2}. Toledo, Paraná, 2020.

Avaliador	Sem escala			Com escala		
	a	b	R ²	a	b	R ²
1	3,11 *	1,28	0,72	0,12	0,84	0,96
2	0,45	2,23 *	0,84	0,80	0,96	0,95
3	3,20 *	1,23	0,87	1,22 *	0,74	0,92
4	3,89 *	1,87 *	0,81	0,96	0,72	0,94
5	2,21 *	1,49 *	0,87	-0,35	0,93	0,98
6	2,51 *	2,31 *	0,93	0,42	1,01	0,98
7	2,87 *	1,37	0,94	0,06	0,72	0,98
8	3,70 *	1,46 *	0,95	-0,06	0,97	0,96
9	-1,06 *	2,12 *	0,92	0,46	0,98	0,97
10	-0,43	2,23 *	0,88	0,74	0,99	0,97
Média	2,05 *	1,76 *	0,87	0,44	0,89	0,96

*Asterisco indica que a hipótese de nulidade (a=0 ou b=1) foi rejeitada pelo teste t (p=00,5).

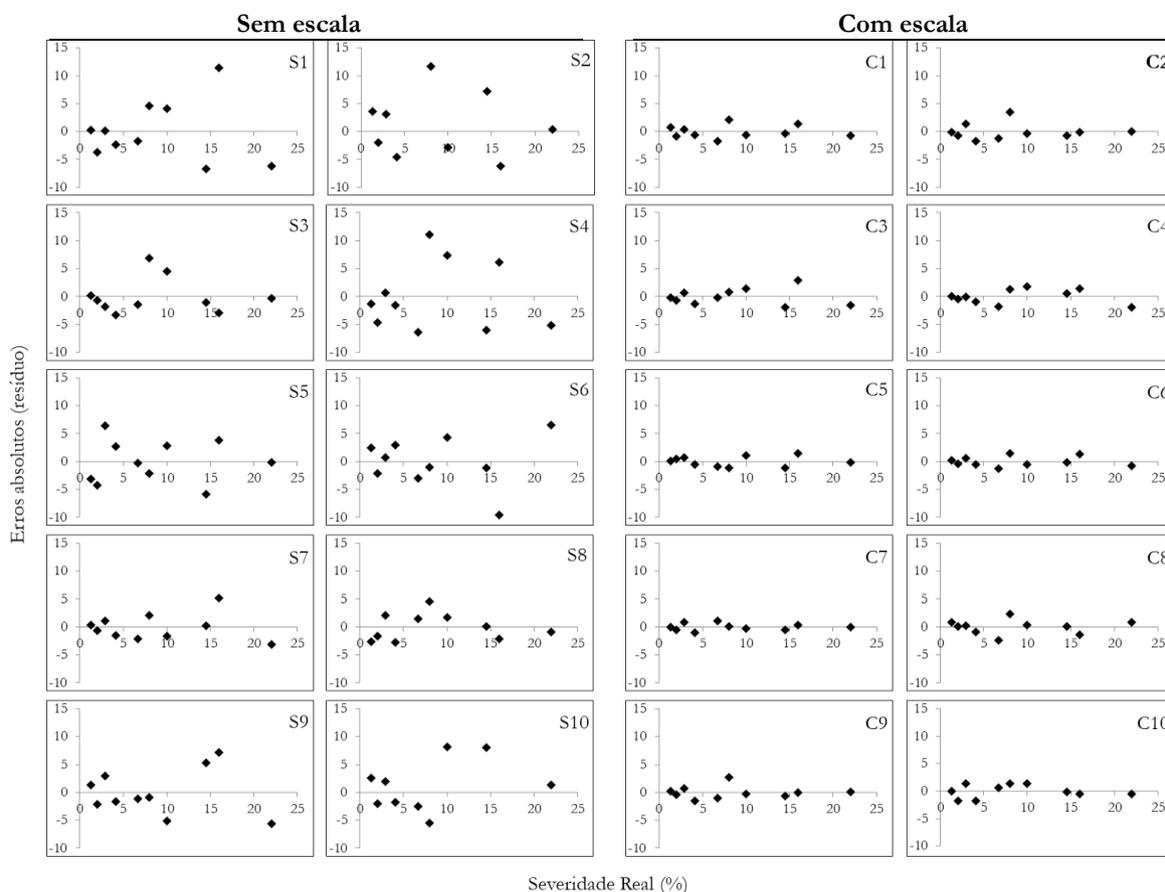


Figura 3. Erros absolutos das estimativas de severidade da estria bacteriana do milho, obtido por dez avaliadores sem (S1 a S10) e com (C1 a C10) a escala diagramática proposta. Toledo, Paraná, 2020.

4. CONCLUSÕES

O emprego de escala diagramática para avaliar a severidade da estria bacteriana do milho mostrou-se válida para quantificar com precisão e acurácia os sintomas da doença no tecido foliar da planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCO, L.F.; GOMES, D.G.; MATOS, J.N.; RIBEIRO, N.R.; BALBI-PENÑA, M.I. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da pústula bacteriana em soja. **Summa Phytopathologica**, v.46, n.2, p.145-149, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/211476>.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 499-518.
- ARIAS, S.L.; BLOCK, C.C.; MAYFIELD, D.A.; SANTILLANA, G.; STULBERG, M.J.; BRODERS, K.D.; JACKSON-ZIEMS, T.A.; MUNKVOLD, G.P. Occurrence in seeds and potential seed transmission of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* in maize in the United States. **Phytopathology**, v.110, n.6, p.1139-1146, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-19-0306-R>
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 299p.
- BOCK, C.H.; POOLE, G.H.; PARKER, P.E.; GOTTWALD, T.R. Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.29, n.2, p.59-107, 2010. <https://doi-org.ez89.periodicos.capes.gov.br/10.1080/07352681003617285>
- BOCK, C.H.; WOOD, B.W.; Van Den BOSCH, F.; PARNELL, S.; GOTTWALD, T.R. The effect of Horsfall-Barratt category size on the accuracy and reliability of estimates of pecan scab severity. **Plant Disease**, v.97, n.6, p.797-806, 2013. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-12-0781-RE>.
- BRODERS, K. Status of bacterial leaf streak of corn in the United States. In: INTEGRATED CROP MANAGEMENT CONFERENCE, 29., 2017, Iowa. **Proceedings...** Iowa: ICM, 2017. p. 111-115.
- CAPUCHO, A.S.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H.S.S.; PARREIRA, D.F.; FERREIRA, P.A.; LANZA, F.E.; COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; COTA, L.V. Influence of leaf position that correspond to whole plant severity and diagrammatic scale for white spot of corn. **Crop Protection**, v.29, n.9, 1015-1020, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.04.012>
- COBB, N.A. Plant diseases and their remedies: Diseases of the sugarcane. **Agricultural Gazette**, v.1, n.4, p.777-798, 1894.
- HORSFALL, J.G.; BARRATT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, v.35, n.655, p.680-682, 1945.
- KORUS, K.; LANG, J.M.; ADESEMOYE, A.O.; BLOCK, C.C.; PAL, N.; LEACH, J.E.; JACKSON-ZIEMS, T.A. First report of *Xanthomonas vasicola* causing bacterial leaf streak on corn in the United States. **Plant Disease**, v.101, n.6, p.1030-1030, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1426-PDN>
- KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANTZ, J.; ROTEM, J. **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Berlin: Springer Heidelberg, 1988. p. 35-50. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-95534-1_4.
- LEITE JÚNIOR, R.P.; CUSTÓDIO, A.A.P.; MADALOSSO, T.; ROBAINA, R.R.; DUIN, I.M.; SUGAHARA, V.H. **Estria bacteriana do milho no Paraná**. Londrina: IAPAR, 2018. 18p.
- MAZARO, S.M.; GOUVEA, A.; MIO, L.L.M.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L.A.; CITADIN, I. Escala diagramática para avaliação de severidade da mancha-de-dendrophoma em morangueiro. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1630-1633, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000500046>
- 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, n.2, p.174-184, 1995. DOI: <https://doi-org.ez89.periodicos.capes.gov.br/10.1080/07060669509500709>.
- ORTIZ-CASTRO, M.O.; HARTMAN, T.; COUTINHO, T.; LANG, J.M.; KORUS, K.; LEACH, J.E.; JACKSON-ZIEMS, T.; BRODERS, K. Current understanding of the history, global spread, ecology, evolution, and management of the corn bacterial leaf streak pathogen, *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*. **Phytopathology**, v.110, n.6, p.1124-1131, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-20-0018-PER>
- PAULA, P.V.A.; POZZA, E.A.; SANTOS, L.A.; CHAVES, E.; MACIEL, M.P.; PAULA, J.C.A. Diagrammatic scales for assessing Brown eye spot (*Cercospora coffeicola*) in red and yellow coffee cherries. **Journal of Phytopathology**, v.164, n.10, p.791-800, 2016.
- PEREZ-QUINTERO, A.L.; ORTIZ-CASTRO, M.; WU, G.; LANG, J.M.; LIU, S.; CHAPMAN, T.A.; CHANG, C.; ZIEGLE, J.; PENG, Z.; WHITE, F.F.; PLAZAS, M.C.; LEACH, J.E.; BRODERS, K. Genomic acquisitions in emerging populations of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* infecting corn in the U.S. and

- Argentina. **Phytopathology**, v.110, n.6, p. 1161-1173, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1094/phyto-03-19-0077-r>.
- PLAZAS, M.C.; WU, G.; ROSSI, R.; BRUCHER, E.; GUERRA, F.A.; VILARÓ, M.; GUERRA, G.D.; ORTIZ-CASTRO, M.C.; BRODERS, K. First Report of *Xanthomonas vasicola* pv. *vascolorum* causing bacteria leaf streak of maize (*Zea mays*) in Argentina. **Plant Disease**, v.102, n.5, p.1026-1026, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1578-PDN>
- SOARES, R.M.; GODOY, C.V.; OLIVEIRA, M.C.N. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo da soja. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.5, p.333-338, 2009.