

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

MANCHA PARDA EM ARROZ: IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA
INCIDÊNCIA DE *Bipolaris oryzae* NA SEMENTE, PADRÃO ESPACIAL DE
LESÕES NAS FOLHAS E ESCALA DIAGRAMÁTICA DE SEVERIDADE

André Aguiar Schwanck
Engenheiro Agrônomo/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Ênfase Fitopatologia

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro de 2012

CIP - Catalogação na Publicação

Aguiar Schwanck, André

MANCHA PARDA EM ARROZ: IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA INCIDÊNCIA DE *Bipolaris oryzae* NA SEMENTE, PADRÃO ESPACIAL DE LESÕES NAS FOLHAS E ESCALA DIAGRAMÁTICA DE SEVERIDADE / André Aguiar Schwanck. -- 2012. 117 f.

Orientador: Emerson Medeiros Del Ponte.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. *Bipolaris oryzae*. 2. Sanidade de sementes. 3. Escala diagramática. 4. Padrão espacial. I. Medeiros Del Ponte, Emerson, orient. II. Título.

ANDRÉ AGUIAR SCHWANCK
Engenheiro Agrônomo - UFRGS

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

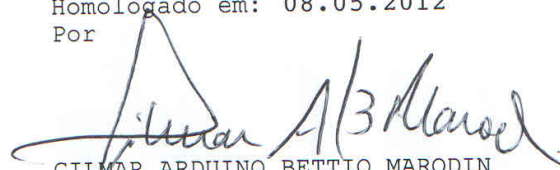
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 27.02.2012
Pela Banca Examinadora

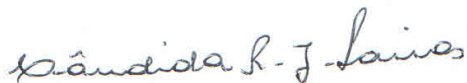


EMERSON MEDEIROS DEL PONTE
Orientador - PPG Fitotecnia

Homologado em: 08.05.2012
Por



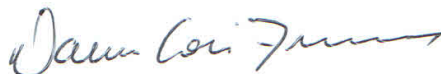
GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia



CÂNDIDA RENATA JACOBSEN DE FARIAS
UFPel - Universidade Federal de
Pelotas



LEANDRO JOSÉ DALLAGNOL
UFPel - Universidade Federal de
Pelotas



DAURI JOSÉ TESSMANN
UEM - Universidade
Estadual de Maringá, PR



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de
Agronomia

*A meus pais, Tânia e Reginaldo,
aos meus irmãos, Camila e Gustavo,
e à minha namorada, Maria Martha,
DEDICO*

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer:

A Deus, pela maturidade e conhecimento adquiridos nesse mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Emerson, que sempre me deu suporte, apoio e confiança nestes últimos quatro anos.

Ao Daniel Grohs, Prof^ª. Cândida Farias e Priscila Menezes, parceiros absolutos desde 2008, e também à Dra. Aline de Holanda Maia, pela colaboração no desenvolvimento deste estudo e à minha formação.

A todos os demais colegas que de 2008 à 2011, em especial àqueles que durante mais tempo participaram e se empenharam: Marcela Santana, Marcelo Giacometti e Carlos Frederico Silva Filho.

Aos meus colegas do “quarto branco”, Felipe, Paulo, Piérri e Thiago - a amizade de vocês é uma das minhas maiores conquistas nesse mestrado!

Aos colegas do laboratório de Epidemiologia de Plantas, com os quais convivi nesses anos, Bruna, Bruno, Camila, Henrique, Larissa, Leilane, Liara e Raquel. A amizade de vocês é algo muito especial para mim!

A todos que me ajudaram de alguma forma, principalmente os que se envolveram com o trabalho da escala, e que me incentivaram nesse mestrado, acreditando em mim!

Ao Programa de Pós Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela organização, a CAPES pela bolsa de estudos e ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto.

Em especial, aos meus amigos Fabrício Custódio, Konrado Deutch, Nicolai Deutch e Thiago Zandonai. Mais que amigos à moda antiga, legítimos irmãos por afinidade!

Por fim, a minha amada família e namorada. Pai, Mãe, Gu, Caca e amor, serei eternamente grato a Deus por fazerem parte da minha vida.

MANCHA PARDA EM ARROZ: IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA INCIDÊNCIA DE *Bipolaris oryzae* NA SEMENTE, PADRÃO ESPACIAL DE LESÕES NAS FOLHAS E ESCALA DIAGRAMÁTICA DE SEVERIDADE¹

Autor: André Aguiar Schwanck
Orientador: Emerson Medeiros Del Ponte

RESUMO

A mancha parda do arroz irrigado (MP), causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, é uma doença importante e que pode ter a semente como fonte de inóculo inicial. Os objetivos deste estudo foram: (1) avaliar o efeito de níveis de incidência de *B. oryzae* em sementes de arroz no desenvolvimento da cultura e epidemias de MP; (2) avaliar o padrão espacial de lesões de MP nas folhas por meio de análise digital; (3) elaborar e validar escalas diagramáticas para auxiliar estimativas visuais de severidade. Onze ensaios de campo com tratamentos de níveis de incidência de *B. oryzae* nas sementes (0, 3, 6, 12, 24 e 48%) foram instalados em Bagé e Cachoeirinha, RS, durante as safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11. As variáveis avaliadas foram: estande de plantas, incidência e severidade da MP, produtividade e incidência de *B. oryzae* nos grãos colhidos nos ensaios. Nas parcelas experimentais da safra 2009/10, em Cachoeirinha, 350 folhas-bandeira com sintomas de MP foram coletadas e digitalizadas, retocadas e analisadas quanto à severidade da MP, e número e tamanho de lesões. O padrão espacial de distribuição de lesões na folha também foi determinado por análises específicas. Quatro escalas diagramáticas com dois incrementos (linear ou exponencial) e duas de coloração (preto e branco e imagens reais) foram elaboradas. A validação foi realizada, onde avaliou-se a repetibilidade, a reprodutibilidade, a acurácia e a precisão das estimativas por análise de correlação, regressão e concordância. Houve efeito dos níveis de incidência de *B. oryzae* na semente no estande de plantas em 8 ensaios, com redução do número de plantas em função do inóculo na semente, bem como na incidência da MP em três ensaios da safra 2009/10, com aumento da incidência em função da incidência de *B. oryzae* nas sementes. Contudo, não se observou efeito na severidade, produtividade e infecção de sementes para as condições dos experimentos instalados. A severidade das folhas coletadas foi majoritariamente baixa, com 55% dos casos apresentando severidades menores de 2%. As lesões de mancha parda ocorrem de maneira predominantemente aleatória, com tendência de agregação em severidades mais altas. Houve tendência geral entre os avaliadores de superestimarem a severidade observada quando sem auxílio. No entanto, com o uso das escalas diagramáticas, seja linear ou exponencial, houve melhora da qualidade das estimativas feitas pelos avaliadores, com destaque para as escalas em cores que melhorou a reprodutibilidade e repetibilidade das estimativas.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (101p.) Fevereiro, 2012.

RICE BROWN SPOT: EPIDEMIOLOGICAL IMPORTANCE OF THE INCIDENCE OF *Bipolaris oryzae* ON SEEDS, SPATIAL PATTERNS OF LESIONS ON LEAVES AND DIAGRAMMATIC SCALE FOR SEVERITY¹

Author: André Aguiar Schwanck
Adviser: Emerson Medeiros Del Ponte

ABSTRACT

Rice brown spot (BS), caused by *Bipolaris oryzae*, is a fungal disease in which epidemics may originate from seedborne inoculum. The objectives of this study were to: (1) evaluate the effect seed-borne *B. oryzae* inoculum on crop development and BS epidemics; (2) determine the spatial distribution of BS lesions on leaves using digital analysis; and (3) develop and validate diagrammatic scales to aid visual estimates of BS severity. Eleven field trials were carried out in two locations in RS State (Bagé and Cachoeirinha) and three growing seasons (2008/09, 2009/10 and 2010/11) using cv. IRGA424. Treatments consisted of incremental incidence levels of *B. oryzae* in a seed lot (0, 3, 6, 12, 24 and 48%). The variables evaluated were: crop stand (number of seedlings per area unit), BS incidence and severity, rice yield and *B. oryzae* incidence in mature grains. In the experimental plots of the 2009/10 growing season, in Cachoeirinha, 350 symptomatic flag leaves were collected, scanned, retouched and analyzed for the severity of the BS, and number and size of lesions. The pattern of the distribution of lesions in a rice flag-leaf was also determined by spatial analysis. Four diagrammatic scales varying in severity scale (linear or exponential) and color (black and white or true color) were prepared. In the scale validation, repeatability, reproducibility, accuracy and precision of the estimates were assessed by correlation, linear regression and concordance analysis. A significant effect was observed for the incidence of *B. oryzae* on the crop stand in eight trials; the number of plants was reduced with the increase of fungal incidence on the seeds. Also, BS incidence at the vegetative stages (for three trials analyzed) increased linearly with the increase of fungal incidence levels. No significant effect was found in BR severity, rice yield and seed infection. The BS severity values in the sampled leaves were mostly low (55% of 350 leaves were <2% severity). The distribution pattern of brown spot lesions was predominantly random, with a tendency to aggregate with the increase in severity (>8%). In the validation of the diagrammatic scales, there was an overall tendency of raters to overestimate severity when estimates were made unaided. However, the use of the diagrammatic scales, either with an exponential or linear severity increase, improved accuracy and precision of the estimates made by the raters, especially when using the color scales as an aid which led to improved reliability of the estimates.

¹ Master of Science Dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (101p.) February, 2012.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Importância da cultura do arroz.....	4
2.2 Doenças do arroz	5
2.3 Mancha parda do arroz	6
2.3.1 Importância econômica e distribuição geográfica	6
2.3.2 Sintomatologia	7
2.3.3 Etiologia.....	7
2.3.4 Ciclo e epidemiologia da doença	8
2.3.4.1 Sobrevivência.....	8
2.3.4.2 Disseminação	9
2.3.4.3 Infecção.....	9
2.3.4.4 Colonização e reprodução.....	10
2.3.4.5 Progresso das epidemias no campo.....	11
2.3.5 Manejo e controle da mancha parda do arroz.....	12
2.3.6 Inóculo na semente: implicações epidemiológicas.....	13
2.3.7 Quantificação da severidade de doenças em plantas	15
2.3.7.1 Diagramas de severidade: construção e validação.....	16
2.3.7.2 Contagem e análise digital de lesões	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 Estudo 1: Efeito da concentração de incidência de <i>Bipolaris oryzae</i> em sementes e na produtividade do arroz irrigado.....	22
3.1.1 Locais dos experimentos e dados meteorológicos.....	22
3.1.2 Características dos ensaios e delineamento experimental	23
3.1.3 Níveis de incidência de <i>B. oryzae</i> na semente	25
3.1.4 Avaliações e variáveis observadas.....	26

3.1.4.1 Estande, incidência e severidade foliar da mancha parda.....	26
	Página
3.1.4.2 Produtividade e análises em pós-colheita	27
3.1.4.3 Número de ensaios e avaliações	28
3.1.5 Análise dos dados	29
3.2. Estudo 2: Análise digital de lesões de mancha parda nas folhas de arroz....	31
3.2.1 Amostragem de folhas sintomáticas	31
3.2.2 Digitalização e preparo das imagens	32
3.2.3 Comprimento das folhas	32
3.2.4 Análise digital da severidade	32
3.2.5 Número de lesões por folha e área de lesões individuais	33
3.2.6 Padrão espacial das lesões no limbo foliar	34
3.3 Estudo 3: Diagramas de severidade de mancha parda em arroz	37
3.3.1 Elaboração dos diagramas	37
3.3.2 Validação das escalas diagramáticas	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 Estudo 1: Efeito da concentração de incidência de <i>Bipolaris oryzae</i> em sementes e na produtividade do arroz irrigado.....	40
4.1.1 Estabelecimento do estande do arroz.....	40
4.1.2 Efeito de níveis de incidência de <i>B. oryzae</i> em sementes na intensidade da mancha parda.....	46
4.1.3 Severidade de mancha parda na folha bandeira.....	51
4.1.4 Produtividade da cultura	55
4.1.5 Incidência de <i>B. oryzae</i> nos grãos colhidos	57
4.2 Estudo 2: Análise digital de lesões de mancha parda nas folhas de arroz.....	60
4.2.1 Severidade e número de lesões em folhas	60
4.2.2 Área de lesões individuais e padrão espacial no limbo foliar.....	63
4.3 Estudo 3: Diagramas de severidade de mancha parda em arroz	69
4.3.1 Impacto do uso dos diagramas em estimativas de severidade.....	73
4.3.1.1 Concordância, acurácia e precisão	73
4.3.1.1.1 Regressão linear	73
4.3.1.1.2 Coeficiente de correlação de concordância	77
4.3.1.1.3 Análise de resíduos das estimativas.....	82
4.3.2 Repetibilidade ou confiabilidade intra-avaliador.....	86
4.3.3 Reprodutibilidade ou confiabilidade interavaliador	87
5 CONCLUSÕES.....	95

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
-----------------------------------	----

RELAÇÃO DE TABELAS

Página

1. Características dos ensaios experimentais para avaliação do efeito de níveis de inóculo de *Bipolaris oryzae* nas epidemias de mancha parda do arroz irrigado.23
2. Características e número de avaliações realizadas para variáveis relacionadas ao estabelecimento da cultura, intensidade de epidemias de mancha parda e produtividade em ensaios para a avaliação do efeito de níveis de *Bipolaris oryzae* nas sementes.28
3. Parâmetros β_0 (logaritmo do estande, para o nível zero de inóculo) e β_1 (taxa de variação unitária do logaritmo do estande em função do nível de inóculo) com respectivos erros padrão e significância, do modelo linear generalizado ajustado para dados de estande (plantas.m^{-2}) sob influência de tratamentos de níveis de inóculo de *bipolaris oryzae* em sementes de arroz irrigado.41
4. Estimativas dos parâmetros β_0 (incidência para o nível zero de inóculo) e β_1 (taxa de variação unitária da incidência em função do nível de inóculo) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de inóculo nas sementes de arroz sobre a incidência inicial e final de mancha parda, em todos os ambientes avaliados.47
5. Estimativas dos parâmetros β_0 (logaritmo da severidade, para o nível zero de inóculo) e β_1 (taxa de variação unitária do logaritmo da severidade em função do nível de inóculo) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de inóculo nas sementes de arroz sobre a severidade inicial e final de mancha parda, em todos os ambientes avaliados.54
6. Estimativas dos parâmetros β_0 (produtividade para o nível zero de inóculo de *Bipolaris oryzae*) e β_1 (taxa de variação unitária da produtividade em função do nível de inóculo de *B. oryzae*) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de inóculo nas sementes de arroz na produtividade do arroz irrigado em ensaios conduzidos em bagé e cachoeirinha nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11.57

7. Estimativas dos parâmetros β_0 (incidência de *Bipolaris oryzae* nos grãos para o nível zero de inóculo na semente) e β_1 (taxa de variação unitária da incidência de *B. oryzae* nos grãos em função do nível de inóculo na semente) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de inóculo nas sementes de arroz sobre a incidência de *B. oryzae* em grãos colhidos para todos os ambientes avaliados.59

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

1. Locais dos experimentos instalados na estação experimental agrônômica do instituto rio grandense do arroz (A), em cachoeirinha, e na estação experimental da urcamp (B), em Bagé, nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11; escala válida apenas para o mapa do RS; pontos de visão de 1,5 km de altura para cada imagem aérea, ensaios em Cachoeirinha são CA09-3A (A-1), CA09-3B (2), CA10-2 (3), CA10-3 (4) E CA11-1 (5), ensaios em Cachoeirinha na safra 2008/09 e 2009/10 espaçados em 500m e 750m, respectivamente; ensaios em Bagé instalados lado a lado em um mesmo local (B-1); imagens aéreas adaptadas de *google earth*. Disponível em: <<http://google.com/intl/pt>. acesso em 25 ago 2011>.....24
2. Desenho da amostragem para as avaliações do estande (A), incidência foliar (B) e severidade de mancha parda em folhas-bandeira (C) causada por *Bipolaris oryzae* realizadas nos ensaios em Bagé e Cachoeirinha, durante as safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11.....26
3. Processamento sequencial de uma imagem de uma folha de arroz com lesões de mancha parda (A) no assess 2.0, com as etapas de seleção da área total da folha (B), seleção da área com lesões (C) e identificação de cada lesão para a contagem do número total de lesões (D).33
4. Folha de arroz irrigado com sintomas de mancha parda sobreposta por uma área de amostragem de 15 cm², dividida em 15 subáreas de 1 cm², em sua porção central visando a contagem de lesões nas subáreas35
5. *Box plot* para os valores de estande de plantas de arroz irrigado em ensaios para a avaliação do efeito de níveis de inóculo de *Bipolaris oryzae* na semente (n=24; 6 tratamentos x 4 blocos). a linha central da caixa indica a mediana; os limites da caixa os quartis inferior e superior, as hastes fora da caixa adjacentes (menor valor não discrepante do conjunto) inferior e superior e os pontos os valores discrepantes.41

6. Estande do arroz irrigado em estádio v3/v4 (Counce *et al*, 2000) em função de níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* na semente, para quatro ensaios conduzidos na localidade de Bagé, nas safras 2009/10 e 2010/11. Os pontos representam os valores observado de estande em cada um dos quatro blocos e a linha representa os valores estimados pelo modelo linear generalizado..... 42
7. Estande de arroz irrigado, em estádio v3/v4 (counce *et al*, 2000) em função de níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* nas sementes, para quatro ensaios conduzidos na localidade de Cachoeirinha, nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11. Os pontos representam os valores observados de estande em cada um dos quatro blocos e a linha representa os valores estimados por um modelo linear..... 43
8. Normal climatológica e os dados observados durante as safras de 2008/09, 2009/10 e 2010/11 de temperatura (C°) e precipitação (mm) mensais para Bagé (BA) e Cachoeirinha (CA). 45
9. Curvas de progresso da mancha parda e modelos lineares ajustados para representar o efeito do nível de inóculo de *Bipolaris oryzae* nas sementes de arroz na incidência mínima (linha contínua em D, E, e F) e máxima (linha pontilhada em D, E e F) de mancha parda (%). Triângulos em D, E e F correspondem aos valores observados de incidência mínima e máxima, respectivamente. 48
10. Frequência da incidência de lesões de mancha parda nas folhas de perfilhos com cinco folhas avaliadas nos ensaios BA10-2, BA10-3 e CA10-2 durante esse estudo (n = 2529)..... 49
11. Curvas de progresso da severidade média acumulada de mancha parda (%) para cada nível de inóculo de *bipolaris oryzae* nas sementes, em onze ensaios conduzidos em Bagé (A à F) e Cachoeirinha (G à K) nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11..... 52
12. Produtividade média (ton.ha-1) em ensaios de avaliação do efeito de níveis de inóculo de *Bipolaris oryzae* na semente (n=24; 6 tratamentos x 4 blocos) para os ensaios conduzidos em Bagé e Cachoeirinha, durante as safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11. Traços verticais correspondem ao erro padrão..... 55

13. Incidência média de *Bipolaris oryzae* (%) em grãos colhidos entre todos os tratamentos para cada um dos ensaios de Bagé e Cachoeirinha, durante as safras de 2008/09, 2009/10 e 2010/11. traços verticais correspondem a \pm o erro padrão. 58
14. Histograma de frequência dos valores de severidade de mancha parda (A), determinada por meio de análise digital em 350 folhas, e do número de lesões por folha (B), em um subconjunto de 100 folhas selecionadas. folhas amostradas em áreas experimentais na estação experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz durante a safra 2009/10 em Cachoeirinha/RS. 61
15. Gráfico da relação entre o número de lesões (x) e a severidade (y) na folha para o conjunto de 100 folhas, onde a linha sólida representa a reta da regressão linear e as linhas tracejadas o intervalo de confiança de 95%. 62
16. Folhas de arroz com lesões de mancha parda onde se verifica variação na área individual das lesões e coalescência dos halos em folhas com severidades abaixo de 5% (A e B) e folhas com severidade acima de 10% (C e D). 64
17. *Box plot* da área individual de lesões de mancha parda mensuradas digitalmente em uma amostra de 100 folhas sintomáticas de arroz. as folhas estão ordenadas em ordem crescente de severidade. O gráfico interno representa os valores transformados em logaritmo. 64
18. Valores do índice de dispersão (D) (razão variância/média) (A) e do índice global de agregação (I_a) determinado pelo SADiE (Spatial Analysis by Distance Indices) (B) para dados de contagem de lesões de mancha parda do arroz em quinze subáreas determinadas em cada folha de um conjunto de 100 folhas de arroz. barras pretas indicam que D é significativamente >1 pelo teste-t ($H_0: D=1; p<0,05$), ou $I_a>1$ ($p<0,05$), sugerindo um padrão agregado de distribuição das lesões. 67
19. Diagramas de severidade da mancha parda do arroz com valores em incremento aproximadamente linear nas versões em preto e branco (A) e em cores (B). 71
20. Diagramas de severidade da mancha parda do arroz com valores em incremento exponencial nas versões em preto e branco (A) e em cores (B). ... 72

21. Gráficos de dispersão entre os valores de severidade real determinados por análise digital de imagem e valores estimados por oito avaliadores (A a H) do grupo linear como auxílio um diagrama com incremento linear em suas duas versões (P&B e Cores). A linha tracejada representa a situação de total concordância entre o valor estimado e o valor real de severidade. As linhas sólidas na cor preta e cinza representam a regressão entre os valores reais e estimados com auxílio do diagrama em P&B e Cores, respectivamente. no interior do gráfico, os coeficientes da regressão linear (R^2 = coeficiente de determinação; a = coeficiente linear; e b = coeficiente angular) para P&B e Cores no canto superior e inferior, respectivamente. Valores de a e b acompanhados de asterisco (*) diferem estatisticamente de 0 e 1, respectivamente, pelo teste-t ($p < 0,05$)..... 75
22. Gráficos de dispersão entre os valores de severidade real determinados por análise digital de imagem e valores estimados por oito avaliadores (i a p) do grupo que utilizou como auxílio um diagrama com incremento exponencial em suas duas versões (P&B e Cores). A linha tracejada representa a situação de total concordância entre o valor estimado e o valor real de severidade. As linhas sólidas na cor preta e cinza representam a regressão entre os valores reais e estimados com auxílio do diagrama em P&B e Cores, respectivamente. No interior do gráfico, os coeficientes da regressão linear (R^2 = coeficiente de determinação; a = coeficiente linear; e b = coeficiente angular) para p&b e cores no canto superior e inferior, respectivamente. valores de a e b acompanhados de asterisco (*) diferem estatisticamente de 0 e 1, respectivamente, pelo teste-t ($p < 0,05$)..... 76
23. Parâmetros da análise do coeficiente de correlação de concordância (Lin's CCC) entre valores de severidade real de mancha parda em 50 folhas de arroz determinada por análise digital e valores estimados sem ou com auxílio de diagramas para dois grupos de avaliadores que estimaram a severidade usando um diagrama com incremento linear ou exponencial, representados em desenhos em preto e branco (P&B) ou em folhas reais (Cores). ρ_c = coeficiente de correlação de concordância ($\rho_c = r.cb$), r = coeficiente de correlação de pearson, indicador de precisão; v (scale shift) e u (location shift) são componentes de Cb , indicador de acurácia. 81
24. Gráficos de área para frequência dos desvios (severidade estimada subtraída da severidade real) sem auxílio e com auxílio de um diagrama de severidade de mancha parda em preto e branco (P&B) ou em Cores, na primeira avaliação de um grupo de oito avaliadores usando um diagrama com incremento aproximadamente linear de severidade e oito um diagrama com incremento exponencial de severidade..... 83

25. Resíduos (estimado – real) em estimativas visuais de severidade da mancha parda do arroz tendo como auxílio quatro diferentes diagramas validados com dois grupos de avaliadores. 84
26. Coeficiente de correlação de pearson (r) da relação entre a primeira e segunda avaliação para cada avaliador que estimou a severidade com auxílio de um diagrama com fotos coloridas (Cores) de folhas e outro um desenho em preto e branco (P&B). 86
27. Coeficiente de correlação de pearson (r), gerados pelo confronto entre todos os avaliadores, de um mesmo grupo (linear ou exponencial) que utilizaram os diagramas com incremento linear (P&B e Cores) para as duas avaliações. 88

1 INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cultivos de maior importância para a alimentação humana. O Brasil é o maior produtor de arroz fora da Ásia e, no país, o Rio Grande do Sul (RS) destaca-se como o estado principal produtor. Dentre as várias doenças que podem afetar a produtividade da cultura e a qualidade de grãos, a mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoem [teleomorfo: *Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kuribayashi)], tem aumentado em importância recentemente levando muitos produtores a utilizarem fungicidas para o seu controle. Os sintomas da mancha parda são manchas necróticas de coloração parda em folhas e em grãos. A sobrevivência do patógeno pode se dar em restos culturais, sementes infectadas ou hospedeiros alternativos.

Bipolaris oryzae está amplamente distribuído nas regiões orizícolas do mundo. Sua ocorrência é comum em sementes sendo que, no Brasil, pode chegar a altos níveis de incidência nas sementes em determinados anos. Sementes infectadas, além de introduzirem o patógeno em áreas isentas, podem levar à morte de plântulas infectadas, com consequente redução de estande, e servir de fonte de inóculo para epidemias na parte aérea.

A qualidade fisiológica e a qualidade sanitária da semente são fator-chave no estabelecimento da cultura e na produtividade. Machado & Pozza (2005) sugeriram um limiar máximo tolerável de 5% de incidência para *B. oryzae* em sementes de

arroz. Entretanto, são escassos os estudos nas condições de campo, que fundamentam a determinação dos padrões de tolerância para patógenos em sementes, incluindo *B. oryzae*. Nesse sentido, dados obtidos em estudos de campo, em diferentes condições de cultivo (anos e locais) são de grande importância para avaliar o impacto do uso de sementes infectadas no estabelecimento e produtividade da cultura, afetados pelo progresso de epidemia. Assim, programas de certificação e políticas de definição de padrões de tolerância de patógenos em sementes podem se subsidiar em informações obtidas em condições mais próximas do real e não apenas em estudos controlados.

Em estudos de avaliação de epidemias de doenças no campo é necessário se dispor de metodologias de quantificação da intensidade da doença que leve a estimativas acuradas e precisas, como é o caso da severidade a qual, quando feita de maneira visual, está sujeita a subjetividade inerente ao avaliador. Diagramas de severidade, popularmente conhecidas como escalas diagramáticas, são ferramentas que podem auxiliar na melhoria da qualidade das estimativas uma vez que pode corrigir desvios sistemáticos bem como aumentar a precisão dos avaliadores ou mesmo a confiabilidade de estimativas. Novas metodologias devem ser idealmente validadas antes que possam ser recomendadas para uso geral. Além disso, é necessário fundamentar a metodologia utilizada na elaboração de um método. No caso de uma ferramenta de auxílio às estimativas de severidade, se torna importante caracterizar os padrões espaciais de lesões de severidade em folhas, o que pode inclusive permitir se fazer inferências sobre processos epidemiológicos em escalas inferiores. Nesse sentido a análise digital de imagens de sintomas de doenças tem se destacado como importante ferramenta na obtenção de dados para fundamentar tais estudos bem como desenvolver novas escalas diagramáticas com maior realismo.

O presente trabalho está dividido em duas partes principais com objetivos distintos. A primeira teve como objetivo estudar o efeito de níveis crescentes de incidência de sementes de arroz infectadas com *Bipolaris oryzae*, no estabelecimento e produtividade da cultura, e no progresso da severidade da mancha parda. Na segunda parte, dois foram os objetivos específicos: 1) caracterizar a frequência dos valores de severidade observados, assim como sua relação com o número, tamanho de lesões, e do padrão espacial de lesões de mancha parda por meio da análise digital de folhas oriundas de parcelas experimentais e 2) elaborar e validar escalas diagramáticas, com variações na sua coloração de representação e na escala de incremento da severidade, para auxiliar as estimativas visuais de severidade da mancha parda em avaliações de experimentos de campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da cultura do arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) ocupa a terceira posição em produção e área cultivada, sendo superado pelo milho e trigo (FAO, 2003). O arroz é um alimento presente na dieta básica em 17 países do continente asiático, nove do continente americano e oito do africano (FAO, 2003). Nos países em desenvolvimento, contribui com aproximadamente 715 kcal *per capita* por dia, representando cerca de 27% de energia, 20% da proteína e 3% da gordura da dieta (FAO, 2003).

Até o início da década de 1990 apenas 3% da produção mundial de arroz era exportada (FAO, 2009). Em 2007, 5% do arroz produzido foi destinado à exportação do grão, o que indica, portanto, ser um produto agrícola predominantemente destinado ao consumo interno nos países produtores (FAO, 2009).

O Brasil se posiciona atualmente como o 9º maior produtor mundial de arroz, perdendo apenas para países do continente asiático. A cultura do arroz contribui com 6,2% do produto interno bruto agrícola nacional, sendo que Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Mato Grosso são os estados da federação são responsáveis por aproximadamente 80% da produção nacional de arroz (Gazzola *et al.*, 2009). Nesse sentido, destaca-se o estado do Rio Grande do Sul (RS), que na safra de 2009/2010 produziu 7,01 milhões de toneladas de arroz em 1,109 milhão de ha, o que representou 63% da produção nacional (EMATER, 2010).

2.2 Doenças do arroz

Dentre os fatores limitantes à expressão do potencial produtivo na cultura do arroz, destacam-se as doenças bióticas causadas por diversos fitopatógenos incluindo fungos, vírus, bactérias e nematóides (Ou, 1985).

Dentre aquelas de ocorrência comum no RS destaca-se, como principal, a brusone (*Pyricularia grisea*), cujos danos podem comprometer até 100% da produção da lavoura em anos em que as condições ambientais são favoráveis à doença (Funck & Kempf, 2010).

A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoem [teleomorfo: *Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kuribayashi)], é apontada como doença secundária, mas que pode causar danos significativos à produtividade na região sul do Brasil, conforme relatos da última década (Dallagnol *et al.*, 2006; Celmer *et al.*, 2007; Grohs *et al.*, 2009).

Outras doenças também ocorrem no RS, como a cárie do grão (*Tilletia barclayana*), a escaldadura da folha (*Microdochium oryzae*), a mancha das bainhas (*Rhizoctonia oryzae*), a queima das bainhas (*Rhizoctonia solani*), as manchas das glumas (causadas por vários fungos e bactérias), a podridão do colmo (*Sclerotium oryzae*) e a mancha estreita (*Cercospora oryzae*) (Ou, 1985; Grohs *et al.*, 2010). Além dessas, outras doenças de menor importância econômica como a mancha circular ou mancha de alternária (*Alternaria padwickii*), a podridão do colar (*Sarocladium oryzae* ou *Acrocyndrum oryzae*), o carvão verde (*Ustilaginoidea virens*), a ponta branca (nematóide *Aphelenchoides besseyi*) e o vírus do enrolamento do arroz (RSNV - *Rice stripe necrosis virus*) detectado recentemente (Souza *et al.*, 2005).

2.3 Mancha parda do arroz

2.3.1 Importância econômica e distribuição geográfica

A mancha parda possui ampla distribuição nas regiões orizícolas do mundo (Mew & Gonzales, 2002; Bedendo & Prabhu, 2005), o que pode estar relacionado com a capacidade de sobrevivência do fungo na semente, principal meio de disseminação do agente causal da doença para regiões distantes de sua fonte de inóculo (Padwick, 1950). Historicamente, a mancha parda foi a protagonista da “grande fome de Bengala” em 1943, no sudeste da Índia, quando uma queda de até 90% na produção de arroz causou a morte de quase dois milhões de pessoas que tinham o arroz como principal fonte de carboidrato (Padmanabhan, 1973).

Os danos provocados pela doença são variáveis em função de fatores edafoclimáticos, manejo cultural, resistência genética da cultivar selecionada para plantio e da parte da planta que é atacada (Webster & Gunnel, 1992; Funck & Kempf, 2008). Em condições propícias, pode causar redução na germinação das sementes, queima ou morte das plântulas originadas de sementes infectadas e redução na produtividade quando incide na folha bandeira e nas panículas (Nakamura & Sader, 1986; Prabhu & Vieira, 1989; Malavolta *et al.*, 2002).

A redução na produtividade devido à epidemia de mancha parda pode atingir até 74%, devido à redução no número de grãos por panícula e peso dos grãos (Kohls *et al.*, 1987; Moletti *et al.*, 1997). A qualidade de grão também pode ser afetada com a descoloração e mancha das glumas, principalmente no cultivo irrigado, o que leva à diminuição no peso de grãos, aumento do percentual de espiguetas estéreis e, quando em alta severidade, aumento do número de grãos quebrados no beneficiamento do grão (Malavolta *et al.*, 2007; Grohs *et al.*, 2010).

2.3.2 Sintomatologia

A doença caracteriza-se na forma de manchas necróticas em folhas e glumas e descoloração dos grãos (Padwick, 1950; Prabhu & Vieira, 1989). A mancha parda pode ocorrer em todos os estádios fenológicos da cultura, embora, no campo, as manchas em folhas sejam mais comumente observadas a partir do início da fase reprodutiva (Ocfemia, 1924).

Em plântulas, os sintomas são manchas necróticas de cor marrom podendo ocorrer também distorção das folhas. Nos coleóptilos, os sintomas são parecidos com os das folhas de plantas adultas, onde a lesão nas folhas apresenta halo clorótico e centro de cor marrom pardo que se torna claro com o envelhecimento da lesão, passando para um tom acinzentado (Ou, 1985; Webster & Gunnell, 1992). O halo clorótico é resultado da ação de toxinas do patógeno formadas durante o processo de colonização dos tecidos da planta (Xiao *et al.*, 1991; Mew & Gonzales, 2002). Nas panículas, as glumas apresentam coloração marrom quando na presença do fungo, contribuindo para o complexo causador da mancha das glumas (Webster & Gunnell, 1992).

2.3.3 Etiologia

A mancha parda é causada por *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoem. [syn. *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subr. & Jain e *Helminthosporium oryzae* (Breda de Haan)], nome da fase assexual de *Cochliobolus miyabeanus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Datur, um ascomiceto da ordem *Sphaeriales*, família *Sphaeriaceae* (Gali *et al.*, 1980), a qual ainda não foi relatada em condições naturais no Brasil.

B. oryzae apresenta massa micelial de aspecto aveludado e escuro (Padwick, 1950) com os conídios levemente curvos, com 6 a 14 septos transversos, medindo em largura e comprimento 11 a 17 μm e 35-170 μm , respectivamente mais largos no centro e afilando-se para o ápice, sendo castanhos quando maduros; podendo essas medidas variar de acordo com as condições de crescimento do fungo (Ou, 1985; Mew & Gonzales, 2002).

B. oryzae apresenta alta variabilidade fenotípica quanto ao crescimento micelial, esporulação, germinação, coloração das colônias, além de variações na sua agressividade verificadas em ensaios de patogenicidade (Ou, 1985; Mew & Gonzales, 2002; Farias, 2007; Kamal & Mia, 2009; Castell Miller & Samac., 2009; Kumar *et al.*, 2010).

2.3.4 Ciclo e epidemiologia da doença

2.3.4.1 Sobrevivência

A semente é o principal meio de sobrevivência do patógeno (Webster & Gunnell, 1992). Na literatura há relatos de incidência de até 92% de *B. oryzae* e sua prevalência de até 98% nos lotes de sementes de arroz em diversas regiões produtoras do Brasil (Soave *et al.*, 1997; Franco *et al.*, 2001; Farias *et al.*, 2005; Bayer *et al.*, 2005; Malavolta *et al.*, 2007). O inóculo na semente pode se manter viável por vários anos em condições naturais de armazenamento, contribuindo para a diminuição qualidade fisiológica da mesma (Ou, 1985; Corrêa, 2006).

O patógeno também sobrevive em restos culturais por um período de dois a três anos (Padwick, 1950; Ou, 1985). Diversas outras gramíneas também são

hospedeiras de *B. oryzae*, o que sugere que podem servir de fonte de inóculo para as epidemias (Webster & Gunnell, 1992).

2.3.4.2 Disseminação

A forma mais eficiente de disseminação de *B. oryzae*, principalmente a longas distâncias, é por sementes infectadas (Padwick, 1950; Webster & Gunnell, 1992). O patógeno na semente pode reduzir sua germinação e, conseqüentemente, a densidade populacional devido a morte das plântulas (Malavolta *et al.*, 2002; Farias, 2007)

A mancha parda é considerada uma doença policíclica. Sendo assim, a esporulação do fungo, nas lesões presentes nas folhas, pode dar origem ao inóculo secundário que é disseminado por vento e respingo da chuva para a mesma planta doente ou outras plantas ao redor (Ocfemia, 1924; Bedendo & Prabhu, 2005; Madden *et al.*, 2007). Esporos de *B. oryzae* podem ser encontrados no ar acima do dossel de plantas até seis meses após a colheita, no entanto, os picos de flutuação ocorrem enquanto a lavoura ainda está no campo (Almaguer *et al.*, 2011) e está correlacionada ao progresso das epidemias de mancha parda (Picco & Rodolfi, 2002).

2.3.4.3 Infecção

Bipolaris oryzae pode infectar todas as partes da planta (Ocfemia, 1924). Basicamente, o processo de infecção de um conídio de *B. oryzae* envolve a formação de um tubo germinativo, apressório, peg de penetração e posterior formação das hifas que colonizam as células da epiderme e do mesófilo foliar (Ou, 1985). A temperatura favorável à infecção se situa no intervalo de 16 e 36°C (Webster & Gunnell, 1992),

com a temperatura ótima se situando na faixa de 25 a 32°C, sob condições de duração de molhamento da folha por mais de 16 horas, luminosidade baixa (6-15 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) e umidade relativa superior a 90% (Percich *et al.*, 1997; Dallagnol *et al.*, 2011).

Schickli & Percich (1984) em um estudo sobre os eventos iniciais do processo de infecção observaram que a penetração ocorreu por meio do estômato sem formação do apressório ou, mais frequentemente, diretamente pela epiderme.

2.3.4.4 Colonização e reprodução

Após a infecção, as células da epiderme, os espaços intercelulares do mesófilo, as células do mesófilo e os feixes vasculares são colonizados pelas hifas de *B. oryzae*. Nas lesões recém-formadas, as células vizinhas às que foram colonizadas pelas hifas apresentam-se de coloração castanha com paredes celulares desintegradas. As hifas crescem intercelularmente nas células menores da epiderme e intracelularmente nas células buliformes e feixes vasculares (Tullis, 1935, citado por Zanão, 2007).

Bipolaris oryzae é um fungo necrotrófico pois causa primeiramente a morte da célula hospedeira para então utilizar seus nutrientes (Webster & Gunnel, 1992). A colonização do fungo nos tecidos da planta está estreitamente relacionados à produção de toxinas não específicas produzidas por *B. Oryzae*, e que se formam logo quando da germinação do conídio, a Ofiobulina A e Ofiobulina B. Tais toxinas forçam o desaparecimento do cloroplasto, amarelecendo as folhas, levando a alteração do conteúdo protoplasmático e colapso celular (Xiao *et al*, 1991). Após uma colonização bem sucedida, ocorre a emergência de hifas através da cutícula e estômatos com a produção de conídios (Schickli & Percich, 1984).

2.3.4.5 Progresso das epidemias no campo

Bipolaris oryzae pode esporular nas lesões em folhas formando conídios (Schickli & Percich, 1984) que podem ser disseminados pelo vento e, havendo a deposição do esporo sobre tecido hospedeiro sadio e condições favoráveis, ocorre a infecção e colonização do fungo que origina novas lesões, e assim sucessivamente, caracterizando uma doença policíclica (Ocfemia, 1924; Ou, 1985).

O progresso de doenças policíclicas no tempo e no espaço depende da ocorrência de condições favoráveis para cada fase do ciclo da doença. Portanto, a quantidade e viabilidade do inóculo presente no ar, a temperatura e duração do período de molhamento das folhas, luminosidade, entre outros fatores, são decisivos para a ocorrência e progresso das epidemias (Madden *et al.*, 2007).

A presença do inóculo aéreo de fungos fitopatogênicos no período da entressafra contribui para a manutenção do mesmo no campo, possivelmente em função de sua capacidade de sobreviver em hospedeiros alternativos e restos culturais no campo. Já no período da safra a flutuação do inóculo está relacionada às condições favoráveis ao progresso da epidemia (Vale *et al.*, 2004). Estudos de aerobiologia de *B. oryzae* são raros na literatura. Por exemplo, Picco & Rodolfi. (2002) relataram, na Itália, utilizando armadilha volumétrica de esporos automática, que os sintomas de mancha parda no campo ocorreram após seis a sete dias após a observação dos primeiros esporos de *B. oryzae* no ar e que a utilização de placas contendo meio batata-dextrose-ágar mostrou-se ineficiente para a constatação da presença de esporos do fungo.

No Estado do RS, as doenças do arroz parecem ser favorecidas em semeaduras tardias, isso em função da alta pressão de inóculo ocorrente durante o período reprodutivo da planta (SOSBAI, 2010). Problemas nutricionais do solo,

como o potássio em baixo nível, favorecem epidemias de mancha parda, a medida que esse nutriente têm importante influência na formação da parede celular (Gomes & Magalhães Jr., 2004).

2.3.5 Manejo e controle da mancha parda do arroz

Existem vários métodos que podem ser empregados no controle da mancha parda (Ou, 1985). No RS, o uso de cultivares resistentes e a semeadura na época recomendada são medidas utilizadas para o manejo da doença, (Maciel *et al.*, 2005; Funck & Kempf., 2008; Grohs *et al.*, 2010). O sistema de semeadura direta também é recomendável pois, nesse sistema, o solo é revolvido logo após a colheita, com a incorporação dos restos culturais, o que acelera o processo de decomposição e diminui a viabilidade do inóculo (SOSBAI, 2010).

O tratamento químico de sementes tem se mostrado eficiente, dependendo do sistema de manejo adotado pelo produtor, o fungicida tem efeito no estabelecimento inicial da cultura devido à sua ação sobre *B. oryzae*, o qual é citado como o principal agente deletério para a emergência e formação da plântula na cultura do arroz (Prabhu & Vieira, 1989; Malavolta *et al.*, 2002; Van Nghiep & Gaur, 2005; SOSBAI, 2010).

O uso de fungicidas na parte aérea pode ser uma medida eficiente no controle das doenças foliares do arroz irrigado, mas que varia conforme o produto utilizado (Balardin, 1999). Estudos têm indicado que os maiores retornos em produtividade em função da redução de doenças são obtidos quando se aplicam misturas de triazóis e estrobilurinas em situações de moderada favorabilidade ambiental em cultivares de maior produtividade (Dallagnol *et al.*, 2006; Silva Filho *et al.*, 2009). Em se tratando especificamente de mancha parda, a aplicação de fungicida pode resultar em melhor

qualidade dos grãos após o beneficiamento, porém é mais justificado em áreas com histórico da doença e maior favorabilidade ambiental (Ottoni *et al.*, 2000).

Na literatura, vários trabalhos sugerem que o desbalanço nutricional predispõe a planta à infecção pelo fungo (Ahn & Suh, 2007; Zanão, 2007; Zanão *et al.*, 2009). O uso de minerais para o controle da doença tem sido amplamente testado e, até agora, os minerais silício e manganês tem se mostrado mais eficientes no controle da doença, através do aumento no acúmulo de compostos fenólicos solúveis e lignina nas folhas, ampliando em 9 horas o período de incubação da doença e reduzindo até 96% da severidade da doença (Zanão, 2007; Zanão *et al.*, 2009; Dallagnol *et al.*, 2009).

Outros métodos como o controle biológico também têm mostrado resultados promissores. Abdel-Fattah *et al.* (2007) testaram *Trichoderma harzianum* no biocontrole da mancha parda em condições de campo e *in vitro* e constataram que *T. harzianum* reduziu o crescimento micelial de *B. oryzae*, a severidade da doença, e aumentou produtividade. Ludwig *et al.* (2009) relataram que na utilização de isolados bacterianos para o controle da mancha parda, em ensaios envolvendo inoculação da parte aérea ou por microbiolização de sementes, houve redução na severidade da doença de 74 e 86%, respectivamente.

2.3.6 Inóculo na semente: implicações epidemiológicas

O conhecimento da epidemiologia de doenças transmitidas por sementes é importante, dentre vários objetivos, para subsidiar a definição de estratégias de manejo das doenças a campo. Práticas de manejo realizadas durante os processos de produção, colheita, armazenamento e beneficiamento de sementes são determinantes para os níveis de inóculo na semente. A literatura é pródiga em relatos de estudos

que visaram elucidar os efeitos desses fatores na dinâmica do inóculo em sementes e seus impactos na produção de diversas culturas agrícolas (McGee, 1995).

Para fungos que infectam sementes, a disponibilidade do inóculo e o momento da infecção no campo têm influência direta na incidência de fungos nas sementes, fatores que por sua vez são influenciados por condições de ambiente e manejo da cultura (McGee, 1995). Para *B. oryzae*, Farias (2007) relatou que a maior incidência do fungo em sementes ocorreu em plantas inoculadas artificialmente no estádios de emborrachamento e floração. Por outro lado, a autora observou menor incidência do fungo nas sementes de plantas no estágio de grão leitoso.

A concentração e a localização do inóculo na semente devem ser levadas em consideração nas avaliações da transmissão do patógeno semente-plântula e na dinâmica da doença a campo, pois influenciam, junto com o ambiente, diretamente nesses processos. Além disso, a semeadura de sementes infectadas pode distribuir o inóculo de maneira aleatória no campo, ampliando as possibilidades de dispersão do patógeno e estabelecimento da epidemia na área de produção (Dhingra, 2005).

A análise conjunta dos elementos que influenciam a dinâmica do inóculo nos campos de produção de sementes durante o desenvolvimento da cultura é necessária para a avaliação dos fatores de risco na produção (Zambolin *et al.*, 2005). Fatores ambientais como a precipitação pluvial durante a fase de enchimento de grãos podem ser úteis na construção de modelos para o zoneamento e previsão de risco do patógeno em áreas de produção de sementes (Shah & Bergstrom, 2002).

Mediante a importância do inóculo primário em sementes infectadas com *B. oryzae*, esse deve ser levado em consideração no manejo da doença (Corrêa, 2006). O inóculo primário na semente pode prejudicar o estabelecimento inicial da cultura (Padwick, 1950; Prabhu & Vieira, 1989; Malavolta *et al.*, 2002). No entanto, o

tratamento químico de sementes tem se mostrado como medida eficiente no controle de *B. oryzae* (Prabhu & Vieira, 1989; Van Nghiep & Gaur, 2005; Corrêa, 2006; SOSBAI, 2010).

2.3.7 Quantificação da severidade de doenças em plantas

A eficácia de programas de manejo de doenças depende, em parte, da qualidade das avaliações de intensidade da doença, que devem estar baseadas em métodos apropriados e validados para cada caso. No caso de doenças que causam lesões no limbo foliar, a severidade, que é a proporção da área da folha coberta com lesões, é uma das medidas mais importantes a ser obtida. Em outras situações, ou mesmo para lesões foliares, a incidência, que, nesse caso, é a proporção de folhas doentes em uma amostra, também pode ser utilizada, principalmente nos estádios iniciais de desenvolvimento das epidemias. No entanto, a incidência não permite quantificar o real impacto da doença uma vez que a severidade pode variar grandemente em uma mesma folha com a incidência da doença (Vale *et al.*, 2004; Madden *et al.*, 2007).

A quantificação da severidade de doenças em plantas pode ser feita por diferentes métodos, sendo as estimativas visuais o mais comumente utilizado (Bock *et al.*, 2010). Outras formas envolvem a análise de imagens hiperespectrais (principalmente por imagens obtidas por satélite) e análise de imagens ou fotografias (espectro visível) (Madden *et al.*, 2007; Bock *et al.*, 2010). O sensoriamento remoto, em imagens obtidas a partir de satélites, tem sido testado como método para estimar indiretamente a severidade de doenças em grandes áreas. A determinação da severidade a partir de imagens de folhas doentes com o uso de softwares são mais utilizados em trabalhos de pesquisa onde o interesse é determinar a severidade “real”

ou em situações práticas onde o método se torna viável de execução (Bock *et al.*, 2010).

Estimativas visuais de severidade podem ser feitas sem auxílio, ou seja, apenas com base na experiência do avaliador, ou com auxílio de ilustrações ou diagramas de uma folha doente que representam determinados níveis de severidade, os quais permitem a um avaliador ter um padrão de comparação e assim, por interpolação e aproximação, fazer uma estimativa mais acurada da severidade (Bock *et al.*, 2010). Quando o conjunto de diagramas é baseado em uma escala percentual de severidade, é comumente chamada de escala diagramática (Sposito *et al.*, 2004; Godoy *et al.*, 2006, Salgado *et al.*, 2009; Lenz *et al.*, 2011). A utilização de escalas diagramáticas ou outros tipos de diagramas de área padrão na estimativa visual de severidade se justifica pela variação que existe entre diferentes avaliadores e para um mesmo avaliador, inerente a qualquer processo de avaliação através da visão humana (Goldstein, 1989).

2.3.7.1 Diagramas de severidade: construção e validação

Os diagramas de uma área padronizada de severidade são ilustrações de um órgão da planta exibindo um determinado valor de severidade (James, 1971). Idealmente, um diagrama de severidade deve representar com realismo os padrões de sintomas observados a campo, o que pode ser obtido com uma representatividade amostral adequada do tamanho das folhas, nível de severidade, tamanho das lesões, padrão espacial na folha, etc., o que é bastante específico em determinadas doenças ou mesmo nas condições em que a doença ocorre em uma região (Madden *et al.*, 2007).

Atualmente, a severidade real é usualmente determinada por análise digital, por se dispor de equipamentos e programas computacionais que permite sua determinação de maneira bastante simplificada. De maneira geral, a folha ou outro órgão da planta é digitalizada, através de escâner ou câmera fotográfica digital, e analisada em softwares de análise de imagem seguindo um processo de seleção e separação de área sadia e área doente da parte da planta (Bock *et al.*, 2010).

Diagramas padrão de severidade foram desenvolvidos desde os primórdios da fitopatologia enquanto ciência. Segundo Bock *et al.* (2010), a escala de Cobb, publicada em 1892, pode ser considerada a primeira escala diagramática utilizada e, desde então, diversos outros trabalhos foram publicados ao longo dos anos. Na década de 70, já com o uso de um escâner computadorizado, James (1971) criou o primeiro material unindo diversas representações de diagramas de área padrão, com a recomendação de que o avaliador deveria usa-los como um guia a fim de fornecer uma melhor estimativa de área coberta em percentual.

A partir da década de 1990, houve um maior interesse no uso dos diagramas, especialmente em relação a sua utilidade para padronizar estimativas e assim permitir maior acurácia, repetibilidade e reprodutibilidade das estimativas por avaliadores tanto inexperientes como experientes (Nutter *et al.*, 1993). A esse processo é dado o nome de validação, que consiste em avaliar se um método pode ser recomendado para ampla adoção. Na área de fitopatologia, normalmente, a validação de uma escala diagramática consiste em avaliar a acurácia e precisão das estimativas feitas por um grupo de avaliadores, normalmente inexperientes na avaliação de determinada doença (Bock *et al.*, 2010).

De modo geral, um sistema de quantificação de doença de sucesso deve propiciar resultados acurados, precisos, reprodutíveis e repetíveis. Nesse sentido,

acurácia se refere à proximidade de uma estimativa a um valor real da intensidade da doença avaliada; precisão, variação associada com uma estimativa; reprodutibilidade (ou confiabilidade inter-avaliador) refere-se à ausência de variação em estimativas quando a mesma amostra de doença é avaliada por outro avaliador; e repetibilidade (ou confiabilidade intra-avaliador), que se refere a quanto similar são duas estimativas executadas sobre as mesmas condições, mas em tempos diferentes, por um mesmo avaliador (Campbell & Madden, 1990; Bock *et al.*, 2010).

Diferentes metodologias vêm sendo usadas para avaliar cada uma dessas características nos estudos fitopatológicos. A reprodutibilidade é normalmente avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson ou o coeficiente de determinação da regressão, entre as estimativas realizadas por cada avaliador, em confrontos individuais entre pares de avaliadores (Gomes *et al.*, 2004; Barguil *et al.*, 2008). Já a repetibilidade é avaliada pelos mesmos métodos, só que das estimativas executadas por um mesmo avaliador em diferentes tempos, normalmente em duas avaliações (Barguil *et al.*, 2008; Capucho *et al.*, 2011).

Quanto à acurácia e precisão das estimativas, a maior parte dos trabalhos utiliza a regressão linear para a sua análise (Noronha, 2002; Gomes *et al.*, 2004; Spósito *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2005; Barguil *et al.*, 2008; Deschamps *et al.*, 2008; Salgado *et al.*, 2009; Lenz *et al.*, 2010; Pedroso *et al.*, 2011). Em tais estudos, os coeficientes linear (a) e angular (b) da reta de regressão entre os valores estimados e reais são interpretados como indicadores de acurácia das estimativas, onde a máxima acurácia é obtida quando $a=0$ e $b=1$, o que equivale a igualdade entre os valores estimados e reais. Essas igualdades são testadas por um teste- t ($H_0: a=0$; $H_0: b=1$) e o número de significâncias observadas nas avaliações sem escala são comparadas as avaliações com escala a fim de se observar o impacto da utilização da

escala no incremento da acurácia. Já a precisão é determinada com base no coeficiente de determinação da regressão (R^2) (Vale *et al.*, 2004).

Mais recentemente, outras metodologias de análise têm sido sugeridas para a avaliação da acurácia e precisão, como a análise de concordância (Madden *et al.*, 2007; Bock *et al.*, 2010). O coeficiente de correlação de concordância (Lin's CCC) (Lin, 1989), foi utilizado em alguns estudos de avaliação da acurácia e precisão de estimativas com ou sem auxílio de escalas diagramáticas (Nita *et al.*, 2003; Spolti *et al.*, 2011; Capucho *et al.*, 2011). A vantagem de tal metodologia, segundo Madden *et al.* (2007), é a facilidade da interpretação por considerar acurácia e precisão em um único coeficiente (ρc), enquanto que a regressão linear pode induzir a rejeição de modelos de regressão pertinentes devido a incongruências que podem ocorrer em algumas situações pela análise separada da significância dos parâmetros da acurácia (a e b) e precisão (R^2).

Para a mancha parda do arroz, existem quatro métodos para a estimativa de severidade, sendo que dois deles consistem em uma escala ordinal de notas de severidade, muito difundida ao redor do mundo, em que nove notas são descritas para intervalos percentuais de severidade (IRRI, 1996; CIAT, 1983). Duas escalas diagramáticas foram encontradas na literatura para a mancha parda (Azevedo, 1998; Lenz *et al.* 2010). No entanto, somente a escala de Lenz *et al.* (2010) foi validada quanto a acurácia e precisão utilizando-se o método da regressão linear e sem avaliar quanto a reprodutibilidade e repetibilidade das estimativas.

2.3.7.2 Contagem e análise digital de lesões

A análise digital de imagens, desde folhas e outros órgãos de plantas até imagens de satélites obtidas por sensoriamento remoto, tem sido amplamente

utilizada na fitopatologia (Nilsson, 1995). A análise digital de lesões de doenças em folhas e outros órgãos de plantas é realizada, na maior parte dos casos, para a quantificação da severidade da doença, através da utilização de diversos softwares específicos para tal análise (Bock *et al.*, 2010). Ainda assim, tais softwares, como o ASSESS 2.0, por exemplo, possuem diversas outras ferramentas úteis para estudos epidemiológicos, como a contagem do número de lesões, área das lesões, aplicação de coordenadas às lesões, entre outras possibilidades.

Atualmente, vários trabalhos utilizam dados de contagem de lesões e de severidade para o estudo da sua relação e desenvolvimento de modelos de predição de uma dessas variáveis com base na outra ou mesmo para indicar qual a medida mais apropriada ou viável para cada situação (Ojiambo & Sherm, 2006; Suffert & Montfort, 2008). A justificativa deve-se ao fato de que a contagem de lesões é mais acurada para a estimativa visual do que a severidade que envolve subjetividade. No entanto, a contagem de lesões pode ser mais trabalhosa e demorada, o que limita sua aplicação em estudos de campo com grande número de amostras (Tucker & Chakraborty, 1997).

É possível, também, avaliar o padrão espacial de lesões de doença no limbo foliar ou outros órgãos da planta. Em um estudo com a ferrugem do trigo (*Puccinia triticina*), Pires *et al.* (2009) através da contagem e localização espacial da lesão em folhas coletadas em diferentes tempos da epidemia, utilizou um método de análise espacial baseado na distância entre as unidades. Os autores observaram uma mudança no padrão espacial, de aleatório para agregado a medida que a epidemia avançou no tempo, possivelmente em função de eventos de auto infecção.

As aplicações desse tipo de trabalho vão desde inferências sobre mecanismos de dispersão dos patógenos, aprimoramento de táticas de controle da doença, além da

aplicação em trabalhos mais específicos como, por exemplo, a construção de escalas diagramáticas (Pires *et al.*, 2009; Bock *et al.*, 2011).

Para a mancha parda, Dallagnol *et al.* (2009), estudando o efeito de silício na resistência de plantas de arroz à doença, observaram a presença de coalescência dos halos das lesões para as folhas com os maiores valores de severidades, especialmente naqueles dos tratamento testemunha, com severidades mais altas. Além disso, os autores verificaram que área das lesões e a área ocupada pelo halo variaram em função do genótipo de arroz.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Estudo 1: Efeito da incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes no estande, na epidemia e na produtividade do arroz irrigado.

A presença do inóculo de *B. oryzae* em níveis crescentes de incidência em sementes foi avaliada por meio da quantificação do estande de plântulas, da incidência e severidade de mancha parda na folha. Ademais foi quantificada a produtividade do arroz irrigado e a incidência de *B. oryzae* nas sementes produzidas nos tratamentos.

3.1.1 Locais dos experimentos e dados meteorológicos

Os experimentos de campo foram conduzidos nas safras 2008/09 (ano de colheita 2009), 2009/10 (2010) e 2010/11 (2011) na Estação Experimental Agrônômica do Instituto Rio Grandense do Arroz (EEA-IRGA) (110 ha), localizada no município de Cachoeirinha, RS (29°56'53''S; 51°07'08''O) e na Estação Experimental da Universidade da Região da Campanha (EEA-URCAMP) (≈2 ha), em Bagé, RS (31°17'15''S; 53°58'57''O). Na estação em Cachoeirinha, a área tem longo histórico de cultivo de arroz (+ de 60 anos), enquanto que na estação em Bagé, o cultivo iniciou no ano de 2007.

Dados meteorológicos de Cachoeirinha foram coletados em uma estação automática localizada na EEA-IRGA. Para Bagé, os dados meteorológicos foram

coletados em um posto meteorológico na área da sede da Embrapa Pecuária Sul (31°28'32''S; 54°08'19''W) distante 25 km do local do experimento. Para ambos os locais, foram obtidos dados de temperatura (máxima e mínima, °C) e pluviosidade (mm) na escala diária.

3.1.2 Características dos ensaios e delineamento experimental

Para cada safra e local, os ensaios foram instalados em pelo menos duas épocas de semeadura, com exceção de Cachoeirinha, safra de 2010/11, onde foi instalado apenas um ensaio (Tabela 1). No total, foram conduzidos onze ensaios. As datas de semeadura foram classificadas em antecipada, preferencial e tardia de acordo com o zoneamento agroclimático do arroz para o RS (Steinmetz & Braga, 2001) (Tabela 1).

TABELA 1. Características dos ensaios experimentais para avaliação do efeito de concentrações de inóculo de *Bipolaris oryzae* nas epidemias de mancha parda do arroz irrigado.

Código do ensaio	Local ¹	Ano de colheita	Data de semeadura	Época ²	Data da colheita
BA09-3A	BA	2009	21/11/08	3	18/03/09
BA09-3B			19/12/08	3	30/04/09
BA10-2		2010	30/10/09	2	05/04/10
BA10-3			14/12/09	3	25/05/10
BA11-2		2011	28/10/10	2	28/04/11
BA11-3			23/11/10	3	10/05/11
CA09-3A		CA	2009	21/11/08	3
CA09-3B	20/12/08			3	27/04/09
CA10-2	2010		29/10/09	2	19/03/10
CA10-3			08/12/09	3	03/05/10
CA11-1		2011	17/09/10	1	10/03/11

¹ Município onde foi conduzido o experimento: Bagé (BA) e Cachoeirinha (CA);

² Épocas de semeadura de acordo com Steinmetz & Braga (2001): antecipada (1), preferencial (2) e tardia (3) para Bagé e Cachoeirinha.

A maioria dos experimentos foram instalados nas épocas mais tardias de plantio, justamente por ser a época de maior predisposição à doenças da cultura (SOSBAI, 2010). Em Bagé, ensaios conduzidos em uma mesma safra foram instalados em áreas adjacentes. Em Cachoeirinha, os ensaios de uma mesma safra foram instalados em áreas não adjacentes na Estação Experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) (Figura 1).

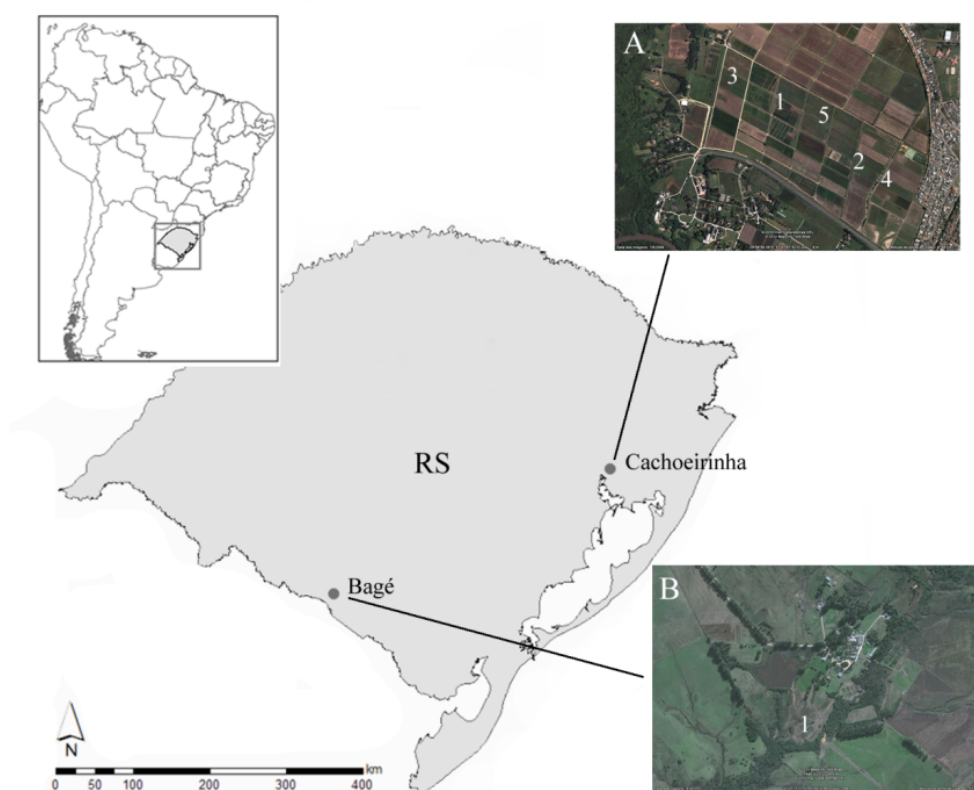


FIGURA 1. Locais dos experimentos instalados na Estação Experimental Agrônômica do Instituto Rio Grandense do Arroz (A), em Cachoeirinha, e na Estação Experimental da URCAMP (B), em Bagé, nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11; escala válida apenas para o mapa do RS; pontos de visão de 1,5 km de altura para cada imagem aérea, ensaios em Cachoeirinha são CA09-3A (A-1), CA09-3B (2), CA10-2 (3), CA10-3 (4) e CA11-1 (5), ensaios em Cachoeirinha na safra 2008/09 e 2009/10 espaçados em 500m e 750m, respectivamente; ensaios em Bagé instalados lado a lado em um mesmo local (B-1); imagens aéreas adaptadas de *Google Earth*. Disponível em: <http://google.com/intl/pt>. Acesso em 25 ago 2011.

O delineamento experimental para cada ensaio foi casualizado em blocos com quatro repetições. As parcelas experimentais, espaçadas em 0,5 m, apresentavam-se com 5 m de comprimento e 1,7 m de largura, com 10 linhas espaçadas em 0,17 m, totalizando 8,5 m² de área. Os tratos culturais (adubação, tratos fitossanitários, etc.) foram realizados conforme as indicações da Comissão Técnica Sul - Brasileira de Arroz Irrigado (CTAR-I), porém sem a aplicação de fungicidas para o controle de doenças.

3.1.3 Níveis de incidência de *B. oryzae* na semente

A cultivar utilizada nos experimentos foi a IRGA 424, uma das mais semeadas no RS. Os tratamentos consistiram de incidência crescente de *B. oryzae* inoculado artificialmente nas sementes: 1, 3, 6, 12, 24 e 48 %. As sementes foram inoculadas com o isolado de *B. Oryzae* (Biofit 124), comprovadamente patogênico, e pertencente à micoteca do Laboratório de Fungos Fitopatogênicos do Departamento de Fitossanidade, FAEM/UFPEL. Os lotes com diferentes níveis de incidência foram obtidos pela mistura de um lote de sementes inoculadas artificialmente por contato das sementes com a colônia fúngica cultivadas sob condições de restrição hídrica do substrato a 0,6 MPa (Farias *et al.*, 2010), com um lote “limpo”, ou seja, um lote previamente analisado segundo as RAS (Brasil, 2009) e contendo níveis traços de incidência (<0.5%). Para cada ano, as sementes utilizadas foram sempre provenientes da safra anterior e com germinação superior 80%, seguindo a metodologia proposta pela Regra para a análise de sementes (Brasil, 2009). Após a obtenção de níveis de incidência previamente mencionada, as sementes foram analisadas novamente pelo método do substrato de papel para a verificação do nível final de incidência.

3.1.4 Avaliações e variáveis obtidas

3.1.4.1 Estande, incidência e severidade foliar da mancha parda

A avaliação do estande de plantas foi realizada no estágio V3/V4 (Counce *et al.*, 2000) por ocasião do início da irrigação. O estande foi avaliado quanto ao número de plantas em uma área de 0,5 m², obtido pelo somatório do número de plantas em duas áreas de 0,25 m² selecionadas aleatoriamente dentro de cada parcela (Figura 2-A).

A incidência foliar da mancha parda foi avaliada semanalmente a partir do surgimento dos primeiros sintomas e em intervalos fixos de sete dias até início dos primeiros sintomas na folha bandeira. Nessas avaliações, dez perfilhos foram escolhidos aleatoriamente por parcela e anotou-se, em cada perfilho, o número de folhas (iniciando-se pelas folhas mais baixas do perfilho) com presença/ausência de sintomas (Figura 2-B), ou seja, pequenas pontuações necróticas de coloração parda com halo amarelado, típicas da doença. Curvas de progresso da incidência em função do tempo foram plotadas com os dados das avaliações semanais.

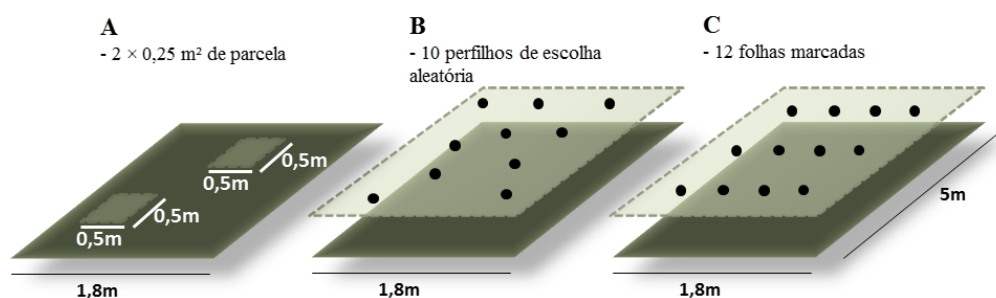


FIGURA 2. Desenho da amostragem para as avaliações do estande (A), incidência foliar (B) e severidade de mancha parda em folhas-bandeira (C) causada por *Bipolaris oryzae* realizadas nos ensaios em Bagé e Cachoeirinha, durante as safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11.

Após a detecção dos primeiros sintomas de mancha parda na folha bandeira foram realizadas avaliações de severidade (percentual de área de limbo foliar com manchas necróticas) da doença na folha bandeira de 12 plantas marcadas e posicionadas sistematicamente dentro de cada parcela, de modo a abranger o melhor possível a área da parcela (Figura 2-C). As severidades das folhas foram realizadas por diferentes avaliadores ao longo das safras e, para a padronização das estimativas, houve auxílio das escalas propostas no estudo 3 desse trabalho. A avaliação de severidade prosseguiu-se até a colheita do experimento em intervalos de 7 ± 2 dias. Curvas de progresso da severidade foram plotadas com os dados das avaliações temporais.

3.1.4.2 Produtividade e análises em pós-colheita

Para a determinação da produtividade, a colheita, em Cachoeirinha, foi realizada com colhedora modelo DB200 (Shouguang Longchang Machinery®), em toda a área da parcela. Em Bagé, a colheita dos ensaios foi manual e em 4m^2 dentro da parcela. Para ambos locais a umidade foi determinada através do medidor de umidade universal do modelo Multi-grain (Dichey-john®). A produtividade foi transformada em $\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$ para a análise dos dados e a umidade ajustada a 13% b.u.

Para a análise de incidência de *B. oryzae* nos grãos, amostras de 200 grãos, coletadas de cada unidade experimental, foram dispostas em recipientes gerbox (25 grãos por recipiente) sobre duas folhas de papel mata borrão umedecido com água destilada autoclavada. Os recipientes foram colocados em câmara de incubação, à temperatura de 23 ± 2 °C, em regime de luz alternada (12 h de luz e 12 h de escuro), por um período de sete dias (Brasil, 2009). A identificação de *B. oryzae* nas amostras foi com base nas características típicas do esporo (Alcorn, 1988), com auxílio de lupa

estereoscópica com 140X de aumento e, quando necessário, microscópio ótico. Os resultados foram expressos em percentual.

3.1.4.3 Número de ensaios e avaliações

O número de ensaios avaliados foi diferente para as variáveis observadas. O estande, plântulas, foi avaliado em oito ensaios, sendo quatro em Bagé e quatro em Cachoeirinha (Tabela 2).

TABELA 2. Características e número de avaliações para variáveis relacionadas ao estabelecimento da cultura, intensidade de epidemias de mancha parda e produtividade em ensaios para a avaliação do efeito de níveis de *Bipolaris oryzae* nas sementes.

Cód. Ensaio	Local ¹	Ano de colheita	Data de semeadura (ES) ²	Número de avaliações por variável ³				
				EST	INC	SEV	PROD	INCBO
BA09-3A	BA	2009	21/11/08 (3)	0	0	3	1	0
BA09-3B	BA	2009	19/12/08 (3)	0	0	3	1	0
BA10-2	BA	2010	30/10/09 (2)	1	2	5	1	1
BA10-3	BA	2010	14/12/09 (3)	1	4	4	1	1
BA11-2	BA	2011	28/10/10 (2)	1	0	4	1	1
BA11-3	BA	2011	23/11/10 (3)	1	0	3	1	1
CA09-3A	CA	2009	21/11/08 (3)	1	0	3	1	1
CA09-3B	CA	2009	20/12/08 (3)	1	0	3	1	1
CA10-2	CA	2010	29/10/09 (2)	1	6	3	1	1
CA10-3	CA	2010	08/12/09 (3)	0	0	4	1	1
CA11-1	CA	2011	17/09/10 (1)	1	0	3	1	1

¹ Local: Bagé (BA) e Cachoeirinha (CA);

² Datas de semeadura e épocas de semeadura (ES) classificadas em antecipada (1), preferencial (2) e tardia (3) (Steinmetz & Braga, 2001);

³ Variáveis observadas: estande de plantas (EST), incidência foliar da doença (INC), severidade da doença (SEV), produtividade (PROD) e incidência de *B. oryzae* nos grãos colhidos (INCBO).

Avaliações temporais de incidência foliar de mancha parda em estádios vegetativos foram realizadas em três ensaios: dois em Bagé e um em Cachoeirinha, ambos na safra 2009/10. A severidade da mancha parda e a produtividade da cultura

foram avaliadas em todos os ensaios. Por fim, a incidência do patógeno nas sementes produzidas nas parcelas dos tratamentos foi avaliada em nove ensaios.

3.1.5 Análise dos dados

Foram ajustados modelos lineares generalizados (MLG) para avaliar a influência do nível de inóculo na semente sobre as variáveis: estande (EST), incidência mínima (INC_{\min}), incidência máxima (INC_{\max}), severidade final (SEV_{\max}), produtividade do arroz (PROD) e de incidência de *B. oryzae* em sementes (INCBO).

Pela natureza contínua dos níveis do fator do tratamento (incidência de *B. oryzae* nas sementes), para cada ensaio, foram estimados os parâmetros de modelos lineares (coeficiente linear = β_0 ; coeficiente angular = β_1) para cada tipo de variável resposta (Bezerra Neto *et al.*, 2002; Bertoldo *et al.*, 2008). Assim, o modelo geral para cada ensaio em particular, é representado por:

$$f(y_{ijk}) = \beta_0 + \beta_1 x + \gamma_j + \varepsilon_{ij}$$

Em que y_{ijk} representa a variável resposta observada no tratamento “i”, bloco “j” e nível de inóculo “k”; f , a função de ligação, “ β_0 ” é o intercepto do modelo (estimativa da variável resposta transformada para o nível zero de infecção) e “ β_1 ” o coeficiente angular do modelo linear (taxa de variação da variável resposta transformada em resposta à variação de x) e γ_j o efeito de bloco j , e ε_{ij} erro experimental associado a cada observação.

As evidências do efeito do nível de inóculo de *B. oryzae* em sementes sobre cada variável resposta, em cada ensaio, foram quantificadas pelo nível de significância nominal (valor p) de um teste- t unilateral sobre β_1 ($H_0: \beta_1=0$). A justificativa para o uso do teste unilateral é que se espera, *a priori*, β_1 positivo, para

os casos das avaliações EST e PROD, ou negativo, para os casos INC_{\min} , INC_{\max} , SEV_{\max} e INCBO.

Nos MLGs, para cada variável foram consideradas distribuições de probabilidade e funções de ligação de acordo com a natureza dos dados (Cerrito, 2005). Devido ao grande número de unidades avaliadas nas duas variáveis de INC e em INCBO, para essas foi considerada uma aproximação normal. Para EST, utilizou-se a distribuição de Poisson por se tratarem de dados de contagem (Madden *et al.*, 2007). Para PROD, variável contínua, assumiu-se comportamento normal.

Para SEV, utilizou-se um modelo recomendado para variáveis que representam proporções, no caso a razão entre área doente e área sadia. Essas distribuições possuem uma característica que é comum à distribuição Binomial: os valores são restritos ao intervalo entre 0 e 1. No entanto, devem ser modificadas pela especificação de um parâmetro aleatório \emptyset , que indique a superdispersão dos dados (SAS, 2006). Portanto, para esse caso, a distribuição adotada é a binomial com função de ligação logito, função de ligação padrão da distribuição binomial (McCullagh & Nelder, 1989).

Em análises preliminares (dados não apresentados) para avaliação da adequação dos modelos propostos foi considerado o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre valores observados e preditos (que variou de 0,71 à 0,91, sendo para todos os casos $p < 0,01$), a análise gráfica dos resíduos de Pearson (painéis de Pearson) e os níveis de significância nominais derivados dos testes de hipótese dos parâmetros dos MLG ($p < 0,01$ para todos os casos). Assim, concluiu-se que os modelos propostos para as análises eram adequados.

Para as variáveis resposta nas quais foi constatado efeito do nível de inóculo nas sementes em pelo menos um ensaio, os efeitos de local e época de semeadura

foram investigados utilizando apenas uma análise descritiva dos coeficientes β_0 e β_1 dos modelos lineares ajustados; para as variáveis nas quais não houve influência do tratamento, foram consideradas as médias dos ensaios. Optou-se pela análise descritiva porque o número de ambientes (combinações local \times ano), para a maioria das variáveis resposta, é considerado insuficiente para que esse fator seja considerado aleatório num modelo misto (Stroup & Muiltze, 1991 – citado por O'Donovan *et al.*, 2011). Todas as análises foram realizadas utilizando o procedimento GLIMMIX (GLIMMIX Procedure) do software estatístico SAS/STAT®(SAS, 2006).

3.2. Estudo 2: Análise digital de lesões de mancha parda nas folhas de arroz

3.2.1 Amostragem de folhas sintomáticas

Durante visitas de inspeção em parcelas de experimentos conduzidos na EEA-IRGA ao longo da safra 2009/10, entre os meses de dezembro a fevereiro, foram coletadas 350 folhas bandeiras de diversas cultivares. A coleta de folhas sintomáticas, com variado nível de severidade, foi feita de maneira aleatória no momento em que as plantas haviam emitido a folha bandeira. Logo que colhidas, as folhas foram armazenadas em garrafas plásticas contendo uma lâmina de 10 cm de água no seu interior para preservar a integridade da folha, evitando-se o enrolamento da mesma, para posterior análise no laboratório.

3.2.2 Digitalização e preparo das imagens

As folhas foram digitalizadas com auxílio de escâner (HP®, modelo ScanJet 2400) em até 10 horas após as coletas na resolução de 300 d.p.i. (*dots per inch* = pontos por polegada quadrada). Cada folha digitalizada foi armazenada como arquivo de imagem com extensão JPG. Posteriormente, cada folha foi editada no programa Fireworks MX versão 6.0 (Macromedia®) para preparar a imagem para a análise da severidade da doença. Primeiramente, a área da imagem que não representava a folha foi colorida de azul e, na sequência, retoques foram feitos na área foliar visando eliminar injúrias ou outras lesões, orifícios dentre outros, preservando-se as lesões de mancha parda, as quais não foram retocadas ou pintadas.

3.2.3 Comprimento das folhas

O comprimento de cada folha foi mensurado pela comparação da imagem da folha com a imagem de uma régua milimétrica, digitalizada na mesma resolução (300 d.p.i.). Os dados foram sumarizados em média e distribuição de frequência.

3.2.4 Análise digital da severidade

Após retoque inicial na área da folha não afetada pela mancha parda, as imagens foram analisadas no programa de computador Assess 2.0 (Software de Análise de Imagem da *Plant Disease Quantification* St. Paul, MN, USA, APS, 2008) para a determinação da severidade da mancha parda, no caso, o percentual de área da folha ocupada por lesões (necrose + halo). O processo de análise constou da abertura da imagem com fundo em azul (Figura 3-A) e, por meio do comando LEAF, o reconhecimento automático e a estimativa da área total da folha, em pixels (Figura 3-B). Posteriormente, acionando-se o comando LESION, identificou-se de maneira

automática ou com ajustes manuais, quando necessário, as áreas necrosadas que são coloridas automaticamente de branco, cujo somatório da área selecionada, em pixels, representa a área de lesões (Figura 3-C). A razão entre a área lesionada e a área total equivale à proporção de tecido sintomático, ou severidade, que é calculada automaticamente no programa. A quantificação da severidade foi realizada para todo o conjunto amostral de 350 folhas.

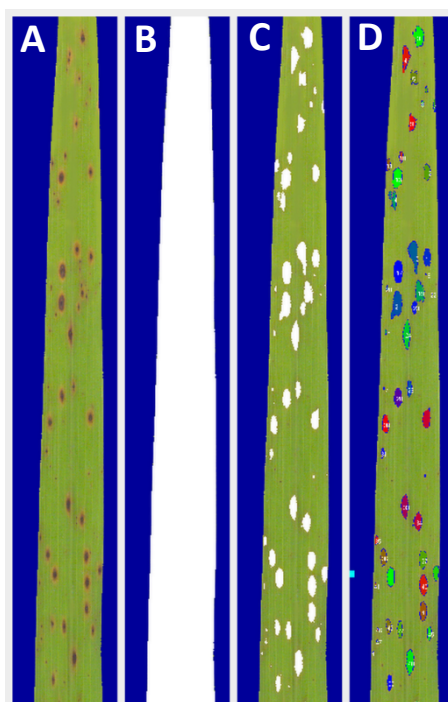


FIGURA 3. Processamento sequencial de uma imagem de uma folha de arroz com lesões de mancha parda (A) no Assess 2.0, com as etapas de seleção da área total da folha (B), seleção da área com lesões (C) e identificação de cada lesão para a contagem do número total de lesões (D).

3.2.5 Número de lesões por folha e área de lesões individuais

Da amostra de 350 imagens de folhas analisadas foi selecionado um subconjunto de 100 imagens, em que se incluíram todas as imagens com mais de 8% de severidade (24 folhas) e o restante abaixo de 8%, selecionadas de acordo com a frequência de severidade na amostra inicial.

Após a seleção, a contagem do número de lesões por folha e a estimativa da área de cada lesão foram realizadas no Assess 2.0, por meio do comando COUNT que identifica e numera cada lesão (Figura 3-D) e determina a sua área em mm². Com os dados de número de lesões por folha e severidade na mesma folha, foi estudada a relação entre essas duas variáveis por meio da regressão linear, tendo-se o número de lesões como variável independente e a severidade a variável dependente.

3.2.6 Padrão espacial das lesões no limbo foliar

O padrão espacial das lesões nas folhas foi determinado no mesmo subconjunto de 100 folhas, mencionadas no item 3.2.5. A análise foi feita com base no número de lesões em subáreas de 1 cm² da folha definidas de maneira sistemática. Para tal, foi criada uma imagem transparente contendo 15 quadriláteros de 1 cm², numerados de 1 a 15 e ordenados verticalmente do ápice até a base da folha, na mesma resolução das imagens (300 d.p.i.). No programa Fireworks, a imagem dos quadriláteros foi posicionada sobre a extensão de cada folha, sempre na porção central da folha (Figura 4). O número de lesões dentro de cada quadrilátero foi contado visualmente por um mesmo avaliador, sendo anotados o número do quadrilátero e o número de lesões dentro do mesmo. As lesões foram consideradas como pertencentes a um determinado quadrilátero quando a maior porção da lesão posicionava-se dentro do quadrilátero.

Dois métodos de análise espacial foram utilizados. O primeiro baseia-se na razão variância/média, também chamado de índice de dispersão (ID) (Garson & Moser, 1995). O segundo é baseado em um índice de distância (SADIE® – Spatial Analysis by Distance Indices) (Perry, 1998).

O índice de dispersão (*ID*), foi calculado no programa *PASSaGE 2*® (Rosenberg, 2011), o qual calcula, primeiramente, a média e a variância das contagens, para o cálculo do *ID* que é dado por:

$$ID = \frac{s^2}{\bar{y}}$$

Em que s^2 e \bar{y} são a variância e a média amostral, respectivamente. A igualdade entre variância e média ($D = 1$) indica que a distribuição dos dados se resume a distribuição de Poisson, que para dados de contagem sem referência de localização indica um padrão aleatório de distribuição, nesse caso, um padrão aleatório de distribuição das lesões na folha; tal igualdade pode ser testada por um teste χ^2 (com $n-1$ graus de liberdade; n = número de quadrats) (Garson & Moser, 1995; Madden *et al*, 2007).

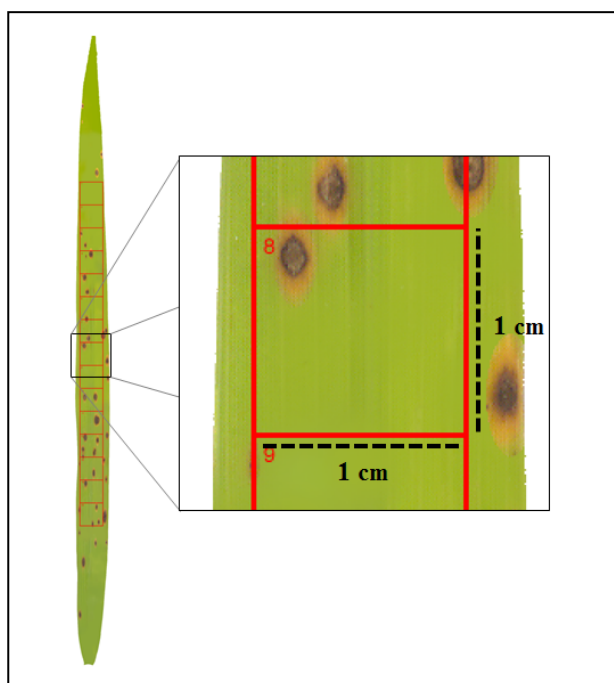


FIGURA 4. Folha de arroz irrigado com sintomas de mancha parda sobreposta por uma área de amostragem de 15 cm², dividida em 15 subáreas de 1 cm², em sua porção central visando a contagem de lesões nas subáreas, com o auxílio do programa Fireworks MX versão 6.0 (Macromedia®).

O índice global de agregação (I_a) foi calculado no programa SADIE (Perry, 1995). O I_a foi utilizado nesse trabalho justamente por ser indicado para dados de contagem com frequência do valor zero (Perry, 1998). O método usa as contagens de lesões em cada quadrilátero e leva em conta a localização do mesmo – no caso, a localização imposta pelo número do quadrilátero no grid. Para o cálculo de I_a , o SADIE executa aleatoriamente permutações entre os dados, deslocando os indivíduos (lesões) para as diferentes localizações presentes na amostra (quadriláteros do grid), para a distribuição regular dos indivíduos nos quadriláteros, ou seja, o mesmo número em cada. Assim, o I_a é calculado a partir desses rearranjos, com base na distância mínima à regularidade (Dr) da amostra e da distância média à regularidade (Ea), observado nas permutações aleatórias da amostra (Perry, 1995; Perry, 1998). I_a , portanto, é definido como:

$$I_a = \frac{Dr}{Ea}$$

Padrões agregados tendem a ter grandes distâncias à regularidade, ao passo que padrões mais uniformes (regular) tendem a ter distâncias menores à regularidade. Assim, o padrão agregado é indicado por $I_a > 1$, enquanto que o padrão é aleatório quando $I_a = 1$, já quando $I_a < 1$ o padrão é considerado regular (Perry, 1998; Dallot *et al.*, 2003).

O SADIE executa um teste formal (Pa) de probabilidade de agregação pela comparação do padrão espacial observado com as reorganizações obtidas após as permutações aleatórias dos indivíduos entre os quadriláteros (Perry, 1998). A proporção de permutações cuja distância à regularidade é tão grande quanto ou maior do que o valor observado de Dr , definida como Pa , é então utilizada para um teste

unilateral da agregação espacial (ao nível de significância de 5%) (Korie *et al.*, 2000).

3.3 Estudo 3: Diagramas de severidade de mancha parda em arroz

3.3.1 Elaboração dos diagramas

Os diagramas de área padrão de severidade foram elaborados com base nas imagens das 350 folhas analisadas digitalmente no Estudo 2 (item 3.2.1). Foram elaboradas quatro escalas diagramáticas cujas diferenças consistiam em seus níveis intermediários de incremento da severidade: seguindo incrementos lineares (Diagrama Linear) ou exponenciais (Diagrama Exponencial), bem como na coloração de sua representação: imagens reais coloridas das folhas (Diagrama Cores) ou imagens em preto e branco processadas digitalmente (Diagrama P&B). O nível mínimo e máximo da severidade representados nos diagramas foram os valores observados na amostra (Estudo 2) e foram, portanto, os mesmos valores nos quatro diagramas.

3.3.2 Validação das escalas diagramáticas

Para a validação dos diagramas, dezesseis avaliadores foram igualmente divididos em dois grupos, um para validar dois diagramas com incremento linear (grupo Linear) e outro para os dois diagramas com incremento exponencial (grupo Exponencial).

Para cada grupo de avaliadores, em momentos diferentes, foram projetadas 50 imagens reais de folhas com severidade variando entre o valor mínimo e máximo determinado na análise digital, em tempo fixo de doze segundos para cada imagem.

Para cada folha, o avaliador estimou visualmente a severidade, em um primeiro momento sem auxílio e, após, a estimativa foi repetida com auxílio dos diagramas P&B e Cores, nessa ordem, para as mesmas imagens. O processo de validação acima descrito foi repetido após sete dias para cada grupo de avaliadores.

A concordância entre os valores estimados pelos avaliadores e os valores reais de severidade, foram avaliados por duas metodologias analíticas: a regressão linear (Nutter & Esker, 2006) e o coeficiente de correlação de concordância (ρc) (Madden *et al.*, 2007). Adicionalmente, realizou-se a análise de distribuição de frequência dos erros absolutos, para a avaliação sem auxílio e a primeira com auxílio para ambos os grupos. A distribuição dos desvios (severidade estimada menos a severidade real) foi avaliada visualmente em um gráfico de área da frequência e em um gráfico dos erros absolutos em função da severidade.

Na análise de regressão linear, considerou-se a severidade real como variável independente e a severidade estimada como variável dependente. A precisão das estimativas para cada avaliador foi avaliada pelo coeficiente de determinação da regressão (R^2) enquanto que a acurácia foi determinada por meio do teste t aplicado ao coeficiente angular da reta (b) ($H_0: b=1; p<0,05$) e ao coeficiente linear da reta (a) ($H_0: a=0; p<0,05$), ambos obtidos pela regressão linear (severidade real \times severidade estimada). Segundo Nutter & Schultz (1995), a proximidade entre os valores reais e estimados podem ser obtidos pela comparação de a e b com 0 e 1, respectivamente, pois tais valores equivalem a reta de regressão da situação ideal, sem erros sistemáticos.

Na análise pelo coeficiente de correlação de concordância, o CCC segundo Lin (1989), a concordância entre os valores estimados e os reais foram sumarizados pelo coeficiente ρc , que indica o grau de concordância e varia entre 0 e 1

respectivamente, para mínima e máxima concordância. Segundo Madden *et al.* (2007), o CCC é uma análise mais apropriada e de fácil interpretação uma vez que combina os componentes de acurácia e precisão e é dado pela fórmula:

$$\rho_c = r \times C_b$$

Em que r é o coeficiente de correlação de Pearson (r), que representa a precisão das estimativas, e C_b é um componente que representa a acurácia. O parâmetro C_b é um fator de correção que mede a distância para o ajuste perfeito com a reta de 45°, e é calculado com base em dois parâmetros: u e v .

$$u = \frac{(\mu_e - \mu_r)}{\sqrt{\sigma_e \times \sigma_r}} \quad v = \frac{\sigma_e}{\sigma_r}$$

Em que μ é a média e σ é a variância dos valores reais (r) e estimados pelos avaliadores (e). O parâmetro v é a medida da diferença em escala entre a reta de regressão dos valores estimados e da reta que representa a situação ideal – valores de coeficientes angulares iguais entre essas duas retas resultariam em v igual a 1. O parâmetro u mede a distância entre a reta de regressão e a reta que representa a situação ideal – retas sobrepostas resultariam em valor de u igual a 0 (Madden *et al.*, 2007; Bock *et al.*, 2010; Spolti *et al.*, 2011; Capucho *et al.*, 2011).

O coeficiente de correlação (r) entre as estimativas da primeira e da segunda avaliação, sem e com auxílios, de um mesmo avaliador foi utilizado como indicador de repetibilidade, também chamada de confiabilidade intra-avaliador. A reprodutibilidade, ou confiabilidade interavaliador, teve como indicador o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre estimativas pareadas entre os avaliadores sem e com auxílio dos diagramas (Madden *et al.*, 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo 1: Efeito da incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes e na produtividade do arroz irrigado.

4.1.1 Estabelecimento do estande do arroz

Nos oito ensaios em que foi avaliado o efeito dos tratamentos sobre o estande de plântulas, expresso em número de plantas.m², a média geral foi de 62 plantas.m⁻², sendo a mais alta observada em Cachoeirinha (73 plantas.m⁻²) e a mais baixa em Bagé (50 plantas.m⁻²). Comparando-se os locais, a variação no estande de plântulas entre os quatro ensaios foi menor em Bagé, em comparação aos ensaios em Cachoeirinha. O maior estande de plantas (>90 plantas.m⁻²) ocorreu no ensaio da safra 2008/09 e o menor (<30 plantas.m⁻²) na safra 2010/11, ambos em Cachoeirinha (Figura 5).

O estande de plântulas decresceu de forma exponencial com o aumento da incidência de *B. oryzae* nas sementes para todos os ensaios ($p < 0.02$), exceto no ensaio CA093A ($p = 0,99$) (Tabela 3).

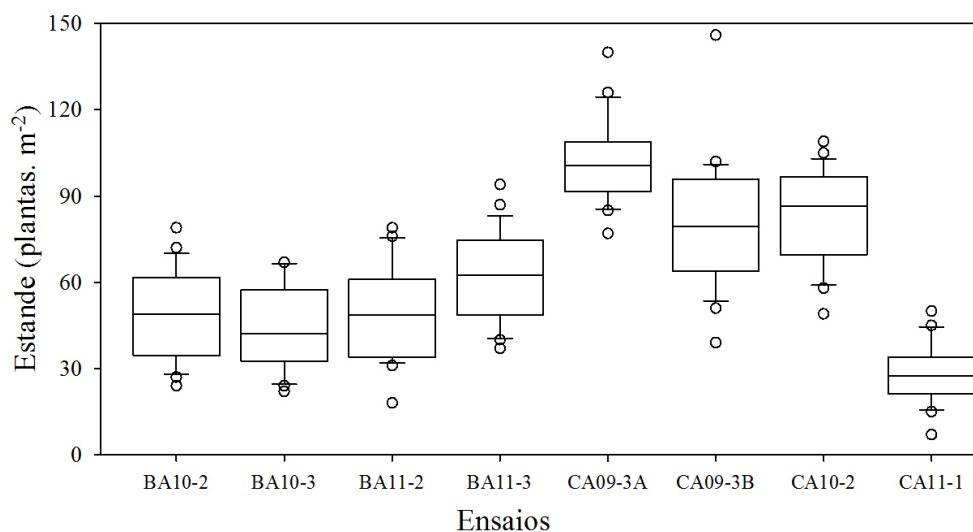


FIGURA 5. *Box plot* para os valores de estande de plantas de arroz irrigado em ensaios para a avaliação do efeito de níveis de inóculo de *Bipolaris oryzae* na semente ($n=24$; 6 tratamentos x 4 blocos). A linha central da caixa indica a mediana; os limites da caixa os quartis inferior e superior, as hastes fora da caixa adjacentes (menor valor não discrepante do conjunto) inferior e superior e os pontos os valores discrepantes.

TABELA 3. Parâmetros β_0 (logaritmo do estande, para o nível zero de inóculo) e β_1 (taxa de variação unitária do logaritmo do estande em função do nível de inóculo) com respectivos erros padrão e significância, do modelo linear generalizado ajustado para dados de estande (plantas.m⁻²) sob influência de tratamentos de níveis de incidência de *Bipolaris Oryzae* em sementes de arroz irrigado.

Ensaio	β_0 (EP) ¹	P^2	β_1 (EP) ¹	P^2
BA10-2	3,920 (0,041)	<0,001	-0,004 (0,002)	0,017
BA10-3	3,944 (0,041)	<0,001	-0,013 (0,002)	<0,001
BA11-2	4,079 (0,039)	<0,001	-0,014 (0,002)	<0,001
BA11-3	4,305 (0,034)	<0,001	-0,013 (0,002)	<0,001
CA09-3A	4,565 (0,028)	<0,001	0,003 (0,001)	0,991
CA09-3B	4,443 (0,031)	<0,001	-0,005 (0,001)	0,003
CA10-2	4,572 (0,030)	<0,001	-0,01 (0,001)	<0,001
CA11-1	3,394 (0,053)	<0,001	-0,007 (0,003)	0,008

¹ Erro padrão da estimativa do parâmetro do modelo linear.

² Probabilidade de erro tipo I para o teste-t ($H_0: \beta_0=0$);

³ Probabilidade de erro tipo I para o teste-t unilateral à esquerda ($H_0: \beta_1=0$).

Como os valores preditos pelos modelos originais (Tabela 3) estão na escala logarítmica, os valores preditos de estande foram obtidos utilizando a transformação

inversa (função exponencial). Assim, apesar de originalmente lineares, os modelos representam um padrão de dependência exponencial negativo, isto é, para valores mais baixos de inóculo, uma variação unitária implica em redução de estande mais acentuada quando comparada à redução para valores mais altos. Nas Figuras 6 e 7, respectivamente, são apresentados os modelos exponenciais ajustados para os dados dos ensaios realizados nos municípios de Bagé e Cachoeirinha.

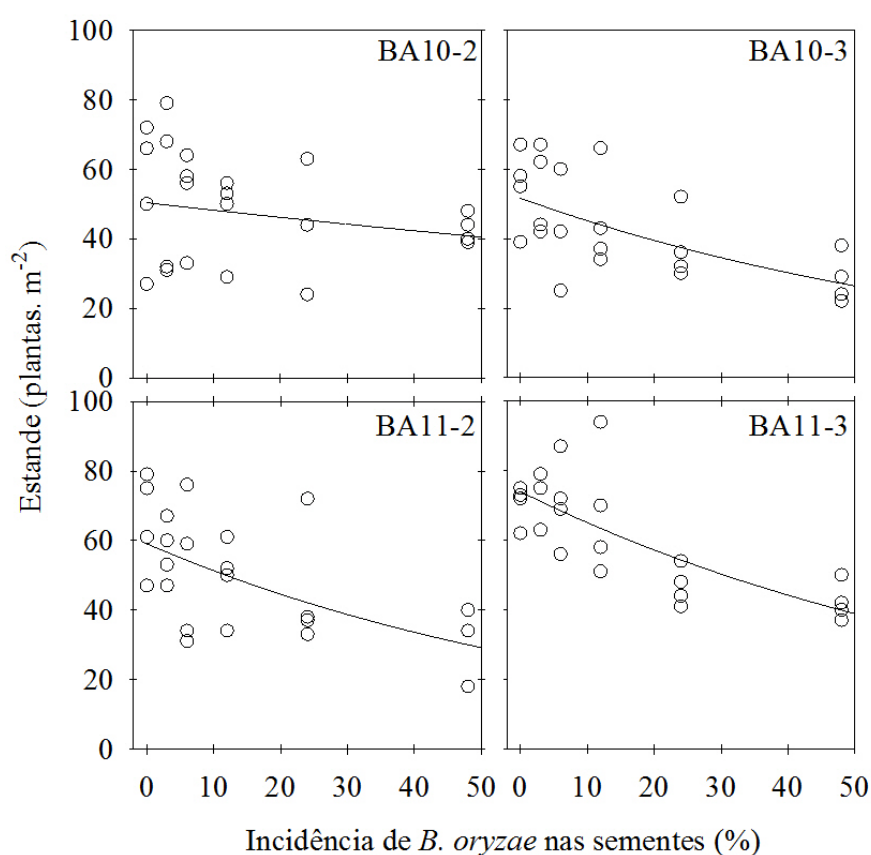


FIGURA 6. Estande de plântula do arroz irrigado em estágio V3/V4 (Counce *et al*, 2000) em função de níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* na semente, para quatro ensaios conduzidos na localidade de Bagé, nas safras 2009/10 e 2010/11. Os pontos representam os valores observado de estande em cada um dos quatro blocos e a linha representa os valores estimados pelo modelo linear generalizado.

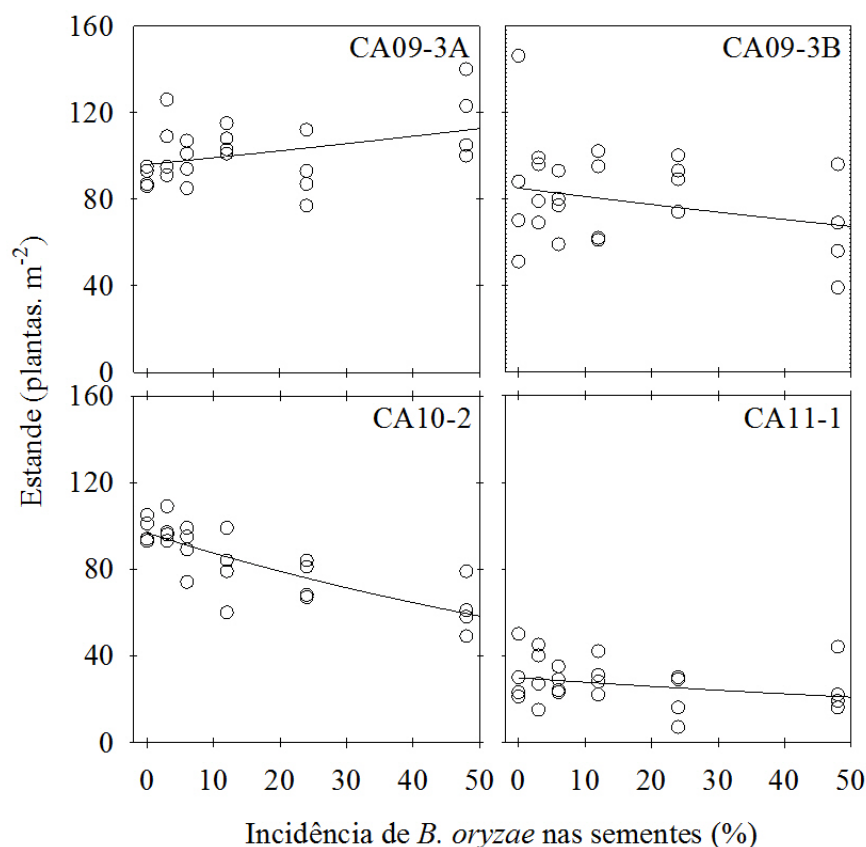


FIGURA 7. Estande de plântula de arroz irrigado em estágio V3/V4 (Counce *et al*, 2000) em função dos níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* nas sementes, para quatro ensaios conduzidos na localidade de Cachoeirinha, nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11. Os pontos representam os valores observados de estande em cada um dos quatro blocos e a linha representa os valores estimados por um modelo linear.

Na maioria dos ensaios a tendência foi de redução no estande com o incremento dos níveis de inóculo na semente, com exceção de um ensaio em Cachoeirinha (CA09-3A), cujo plantio foi em época tardia na safra de 2008/09 (Figuras 6 e 7).

As reduções mais acentuadas de estande foram observadas em Bagé, do que em Cachoeirinha. A maior taxa média de redução no estande ocorreu no ensaio em Bagé (BA11-2), em época de semeadura preferencial, onde o número de plantas foi

reduzido em cerca de 50% com nível de 48% de incidência do patógeno, comparado à testemunha. Para as épocas de semeadura mais tardias, as reduções no estande mantiveram-se acentuadas apenas em Bagé, pois em Cachoeirinha, para os dois ensaios avaliados em épocas tardias de semeadura, em apenas um se observou redução significativa do estande, o qual, inclusive, foi a menor taxa de redução média observada dentre todos os ensaios (Figuras 6 e 7).

As diferenças na taxa média de variação do estande entre os dois locais e as diferentes épocas de semeadura podem ter ocorrido em função das condições climáticas prevalentes no período de estabelecimento inicial da cultura em ambos locais, no caso, os meses de setembro a dezembro. A normal climatológica para a temperatura mensal no período da safra em Bagé é 2°C menor que em Cachoeirinha. Nos anos dos ensaios, a temperatura manteve-se próxima à normal climatológica, para o município de Bagé (Figura 8). Já em Cachoeirinha a menor taxa de redução do estande em função do nível de *B. oryzae* nas sementes ocorreu na safra 2009/10, justamente no ano em que a temperatura foi menor a normal climatológica para os meses de setembro a novembro (avaliação realizada em 21/11/2009).

Além disso, em nenhum dos ensaios, foi observado sintomas de mancha parda em folhas antes do estágio V4 (Counce *et al.*, 2000). Semelhante resultado foi obtido por Farias (2007) em estudo em condições de casa de vegetação. Para avaliar a patogenicidade de diferentes espécies de *Bipolaris*, incluindo *Bipolaris oryzae*, inoculadas em sementes de arroz. Tais resultados sugerem uma influência da temperatura na germinação e emergência de sementes infectadas com *B. oryzae*, em que temperaturas mais baixas, a menor velocidade de emergência pode favorecer o ataque do patógeno podendo levar à morte de plântulas em pré-emergência, assim como já foi relatado em outros patossistemas (Shah & Bergstrom, 2000).

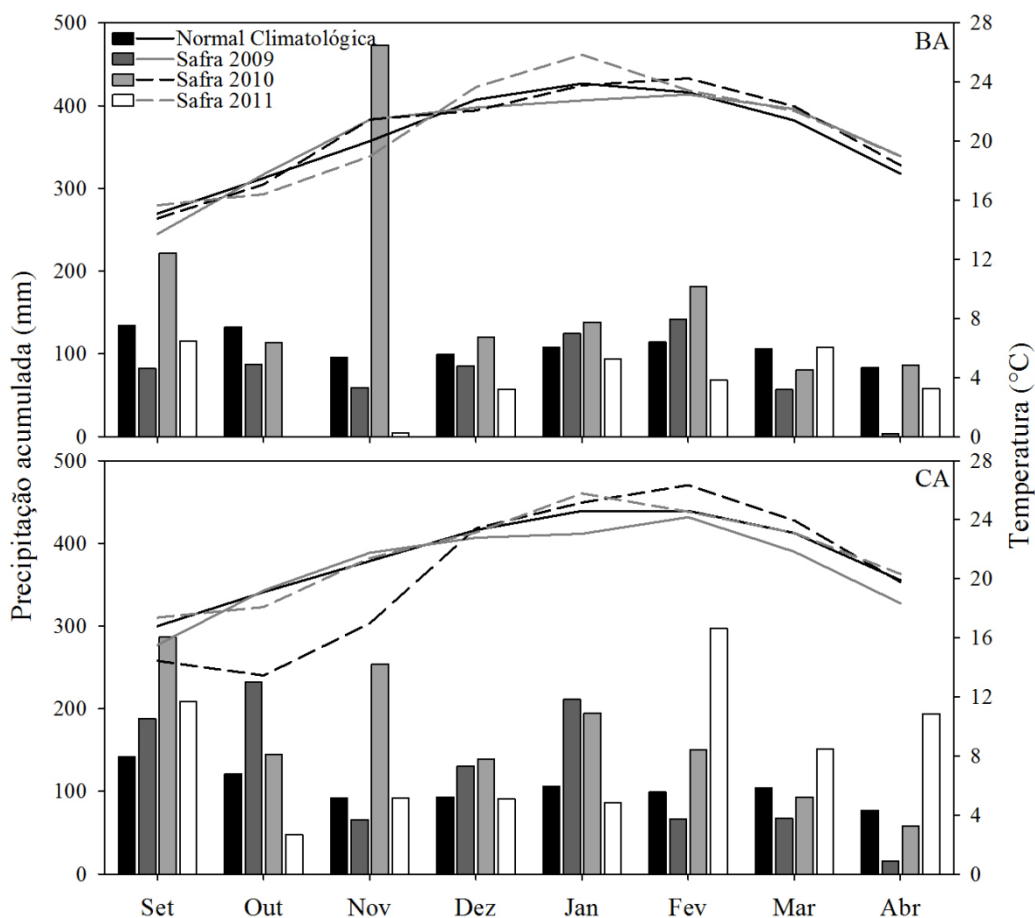


FIGURA 8. Normal climatológica e os dados observados durante as safras de 2008/09, 2009/10 e 2010/11 de temperatura (C°) e precipitação (mm) mensais para Bagé (BA) e Cachoeirinha (CA).

Os resultados desse trabalho corroboram com estudos que mostraram redução na germinação em função da presença de *Bipolaris oryzae* na semente. Prabhu & Vieira (1989), estudando o efeito de *B. oryzae* na semente sobre a germinação e transmissão e controle do fungo, conduzido sob condições controladas, constatou que o fungo possui a capacidade de diminuir a germinação das sementes, principalmente em sementes com maior intensidade de manchas no tegumento. O autor ainda relata que a resposta positiva do tratamento de sementes, com fungicidas, em lotes que apresentam germinação um pouco abaixo dos padrões estabelecidos pela pesquisa,

justifica a definição de medidas apropriadas para a certificação de tais sementes no que se refere a sua qualidade sanitária.

Malavolta *et al.* (2002), conduziram experimentos de laboratório, casa de vegetação e a campo, afim de verificar o efeito de diferentes níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz sobre aspectos fisiológicos, transmissão do patógeno às plântulas e produção. Os autores observaram que, além da diminuição da germinação em ambiente controlado, com níveis de infecção de 64,5% de *B. oryzae* nas sementes, houve redução de até 33% no estande de plantas no campo em relação à testemunha. Além disso, com 48% de nível de inóculo de *B. oryzae* na semente, ou seja, com o mesmo valor máximo de inóculo abordado nesse estudo, os autores observaram redução de 28% no estande plantas, valor comparável com o observado em alguns ensaios nesse estudo (BA11-3, CA09-3B e CA10-2).

4.1.2 Efeito de níveis de incidência de *B. oryzae* em sementes na intensidade da mancha parda

Em apenas três ensaios a epidemia de mancha se manifestou em estádios vegetativos (V6 a V8) e evoluiu de maneira mais expressiva a ponto de permitir a quantificação do progresso da incidência e a consequente comparação entre os tratamentos. Nos demais ensaios, embora a doença tenha sido detectada em estágio vegetativo, os níveis de incidência foliar permaneceram em valores-traço (<1%).

Nesses três ensaios, o efeito dos tratamentos na incidência da doença foi quantificado para a primeira (ou mínima incidência avaliada) e última (ou máxima avaliada) avaliação. O número de avaliações ao longo do tempo variou entre os

ensaios. Em Bagé foram de duas a quatro, e em Cachoeirinha até seis avaliações (semanais). O número mínimo e máximo de folhas avaliadas por parcela durante todas as avaliações foi de 39 e 68 folhas respectivamente, sendo que o número de folhas por planta variou de 2 a 7 na primeira avaliação e de 2 a 9 durante a última avaliação. A média geral de incidência foliar da mancha parda em todos os ensaios foi de 17,3% ($\pm 11\%$). Já na última avaliação a média foi de 32% (± 13).

As estimativas dos parâmetros β_0 e β_1 do modelo linear ajustado para avaliar a influência do nível de incidência na semente sobre a incidência da mancha parda nas folhas, nas duas avaliações, são apresentados na Tabela 4. Nesse caso, não foi utilizada nenhuma transformação para a análise de dados, pois considerou-se uma aproximação normal (função de ligação “identidade”) para a porcentagem de folhas sintomáticas. Assim, β_0 corresponde à incidência para o nível zero de inóculo e β_1 a taxa de variação da incidência em função do aumento no nível de inóculo.

TABELA 4. Estimativas dos parâmetros β_0 (incidência para o nível zero de incidência) e β_1 (taxa de variação unitária da incidência em função do nível de incidência) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de inóculo nas sementes de arroz sobre a incidência inicial e final de mancha parda, em todos os ambientes avaliados.

Variável	Ensaio	β_0 (EP) ¹	P ²	β_1 (EP) ¹	P ²
INC _{mín}	BA10-2	0,092 (0,008)	<0,001	0,001 (0)	0,002
	BA10-3	0,281 (0,018)	<0,001	0,001 (0,001)	0,085
	CA10-2	0,078 (0,017)	<0,001	0,002 (0,001)	0,011
INC _{Max}	BA10-2	0,227 (0,013)	<0,001	0 (0,001)	0,456
	BA10-3	0,258 (0,019)	<0,001	0,002 (0,001)	0,012
	CA10-2	0,485 (0,034)	<0,001	-0,003 (0,002)	0,948

¹ Erro padrão da estimativa do parâmetro do modelo linear.

² Probabilidade de erro tipo I para o teste-t ($H_0: \beta_0=0$);

³ Probabilidade de erro tipo I para o teste-t unilateral à direita ($H_0: \beta_1=0$).

A incidência de mancha parda no nível zero de incidência de *B. oryzae* nas sementes (β_0) foi significativamente diferente de zero para as duas avaliações de

incidência, em todos os ensaios ($p < 0.001$). Houve influência do tratamento na incidência mínima para dois dos três ensaios, enquanto que para a avaliação final (incidência máxima), ocorreu em apenas um dos casos (Tabela 4).

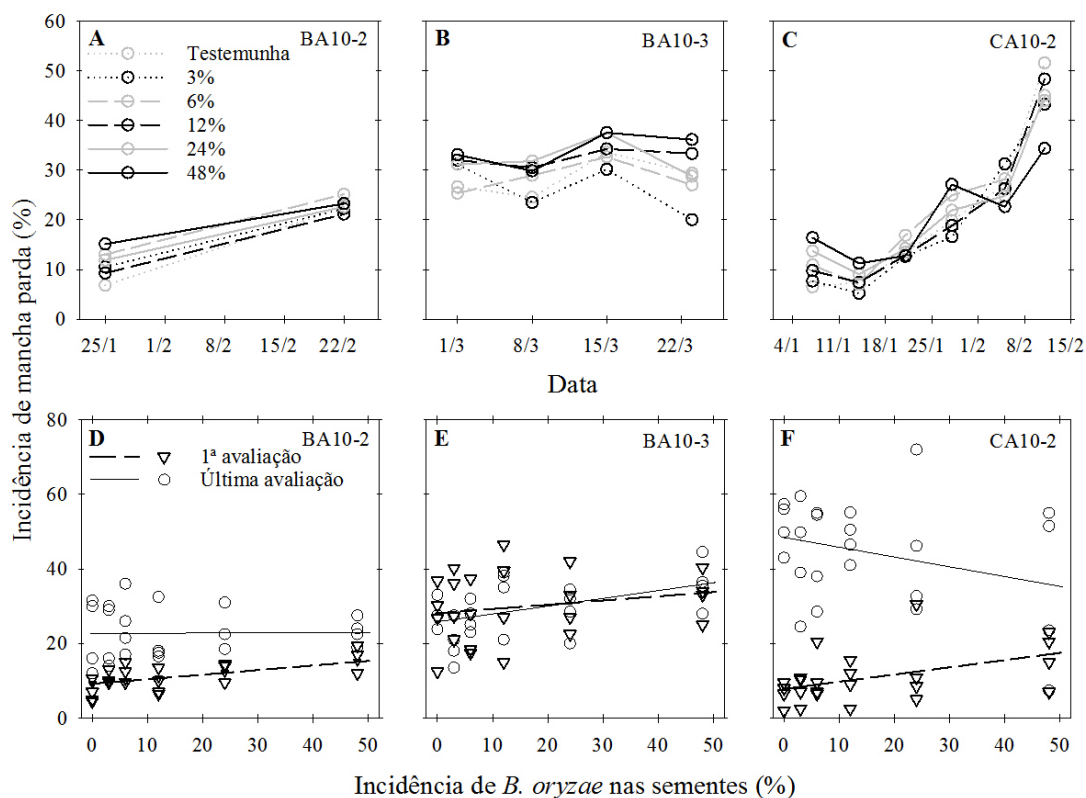


FIGURA 9. Curvas de progresso da mancha parda e modelos lineares ajustados para representar o efeito do nível de incidência de *Bipolaris oryzae* nas sementes de arroz na incidência mínima (linha contínua em D, E, e F) e máxima (linha pontilhada em D, E e F) de mancha parda (%). Triângulos em D, E e F correspondem aos valores observados de incidência mínima e máxima, respectivamente.

Em dois ensaios a incidência mínima teve valores positivos de β_1 significativamente diferentes de zero ($p < 0,01$) indicando incremento da incidência de mancha parda em função do aumento no nível de incidência de *B. oryzae* nas sementes (escala decimal) – aproximadamente de 0,1% a 0,2% na incidência de mancha parda na folha para cada 1% de aumento na incidência de semente infectada.

Para a incidência máxima em apenas em um dos ensaios (BA10-3) foi observado o efeito do nível de inóculo ($p=0,012$).

O maior progresso da incidência da mancha parda ocorreu no ensaio de Cachoeirinha. Em Bagé, no ensaio de terceira época (BA10-3), observou-se mínimo incremento na incidência, inclusive com a diminuição da incidência da mancha parda nas folhas para alguns tratamentos ao longo do tempo (Figura 9). Tal redução pode ter ocorrido em função da senescência das primeiras folhas dos perfilhos, onde se concentrou a maioria dos sintomas observados (Figura 10). Nesse caso, o crescimento de novas folhas assintomática e senescência das folhas mais velhas provoca a diluição da incidência.

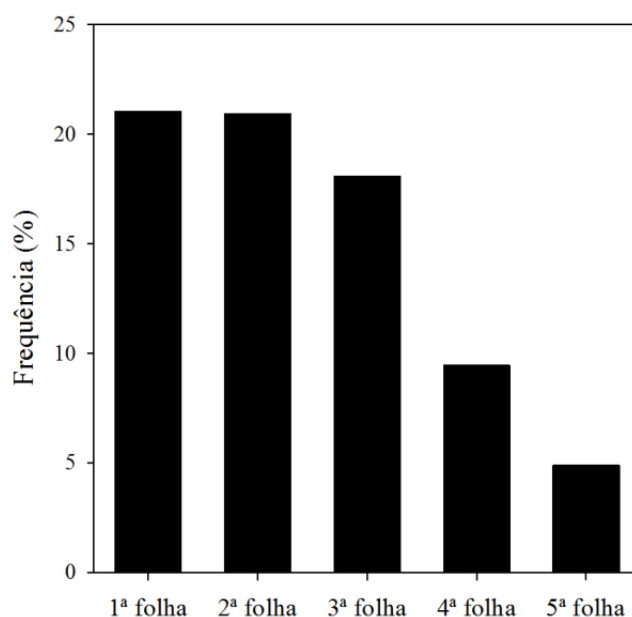


FIGURA 10. Frequência da incidência de lesões de mancha parda nas folhas de perfilhos com cinco folhas avaliadas nos ensaios BA10-2, BA10-3 e CA10-2 (n = 2529).

A presença de sintomas no estágio vegetativo da cultura na safra 2009/10 pode estar relacionada a uma condição ambiental específica que favoreceu o

estabelecimento e progresso antecipado da doença. Essa safra foi a única em que, durante os meses de janeiro a março, a temperatura média mensal esteve acima da normal climatológica em ambos os locais aliada a alta precipitação registrada no referido período e nos meses imediatamente anteriores (outubro a dezembro), quando em Bagé, por exemplo, a precipitação acumulada no mês de novembro foi quase 500% do esperado para o mês (Figura 8). Além disso, no ensaio com valores mais altos de incidência da doença (CA10-2), grande parte das avaliações foram realizadas no período com temperaturas mais altas na safra 2009/10, que foi no mês de fevereiro em Cachoeirinha.

A influência da temperatura sobre a epidemia de mancha parda já é conhecida. Percich *et al.* (1997), trabalhando com a influência da temperatura e molhamento folhar sobre a infecção de *B. oryzae* em arroz selvagem (*Zizania palustris* L.) em ambiente controlado, observaram que altas taxas de infecção ocorrem quando a temperatura situa-se entre 25 e 30°C e que se intensifica a medida que o período de molhamento folhar cresce de 16 a 28h. Além disso, Dalagnoll *et al.* (2011), estudando influência de diferentes temperaturas e condições de luz em diferentes ambientes (controlado e casa de vegetação) na mancha parda em arroz, observaram menor período de incubação e maiores valores finais de severidade e taxas de expansão das lesões na maior temperatura testada em ambiente controlado, 32°C, e em baixa densidade de fatores. Os resultados obtidos por esses autores corroboram com o observado nesse trabalho, onde a epidemia manifestou-se de maneira mais intensa e precoce quando ocorreram conjuntamente maiores temperaturas e precipitações (consequentemente maior umidade relativa, molhamento folhar e menor luminosidade) em relação à normal climatológica e aos demais anos observados.

4.1.3 Severidade de mancha parda na folha bandeira

A variação no número de avaliações se deu em função da variação ambiental nos ensaios, que fez com que a epidemia se manifestasse de maneira distinta em cada situação, ora com as primeiras lesões aparecendo em folha bandeira em momento mais antecipado ou mais tardio. No entanto, ao contrário das avaliações de incidência de mancha parda, em todos os ensaios se observou um aumento da severidade ao longo do tempo (Figura 11). A diminuição da severidade, nesse caso, não poderia acontecer, pois além do progresso ser baseado em valores acumulados no tempo, as folhas bandeiras avaliadas eram previamente marcadas logo na primeira avaliação e não houve desfolha ou crescimento de novas folhas, como foi o caso da incidência foliar em estádios vegetativos.

As curvas de progresso da doença variaram de acordo com a época de semeadura para um mesmo local, especialmente em Cachoeirinha (Figura 11G-K), onde nas safras 2008/09 e 2009/10 a severidade foi mais alta na semeadura mais antecipada.

Estudos prévios sugeriram que quanto mais tardia for a semeadura, maior o risco de ocorrência das manchas foliares (Grohs *et al.*, 2009; Grohs *et al.*, 2010; Lütz *et al.*, 2011). Embora não tenha sido objetivo específico do nosso estudar caracterizar a influência da época de semeadura nas epidemias, os dados sugerem que essa diferença pode estar relacionada a condições ambientais prevalentes em cada período ou mesmo fatores locais relacionado a diferenças de fertilidade do solo, exposição da parcela aos ventos predominantes, dentre outros.

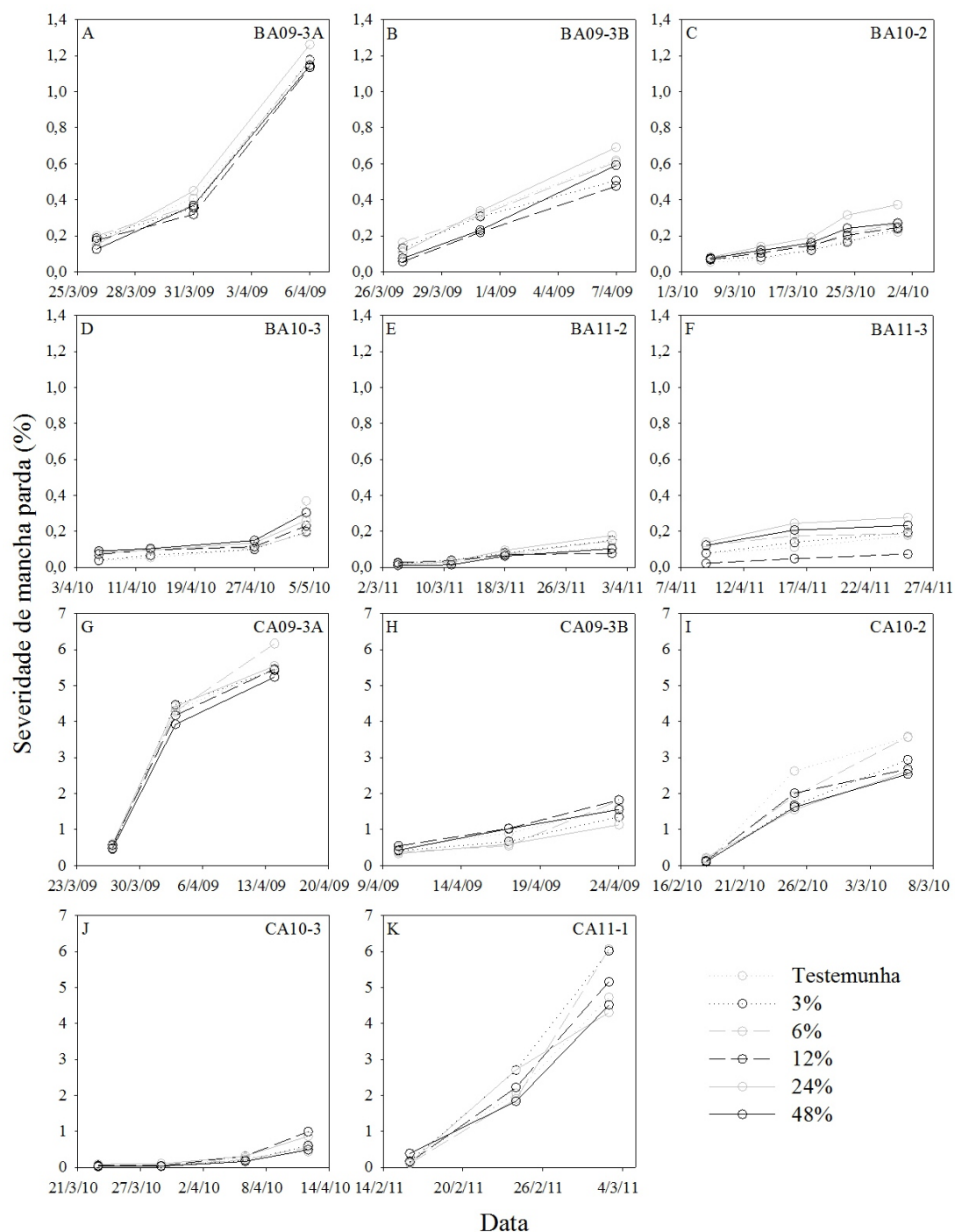


FIGURA 11. Curvas de progresso da severidade média de mancha parda (%) para cada nível de incidência de *Bipolaris oryzae* nas sementes, em onze ensaios conduzidos em Bagé (A à F) e Cachoeirinha (G à K) nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11.

A severidade máxima da mancha parda foi, de maneira geral, superior em Cachoeirinha comparada à Bagé. Em Cachoeirinha, a severidade variou de 1 a 6% entre os ensaios, enquanto que em Bagé a severidade máxima não ultrapassou 1,2%. Condições ambientais, como a menor temperatura em Bagé (Figura 8) e o curto

histórico de cultivo de arroz irrigado na EEA-URCAMP provavelmente podem ter levado à essa diferença.

Os valores de severidade em todos os ensaios foram baixos em comparação a outros trabalhos realizados em outras regiões do Brasil. Na região produtora de arroz no Centro-Oeste do Brasil, Ottoni *et al.* (2000), avaliaram a severidade da mancha parda em ensaios de fungicidas com auxílio de uma escala diagramática proposta por Azevedo (1998). Os autores relataram que a severidade média em folhas-bandeira na testemunha foi de 17,5%, muito superior à média das testemunhas desse trabalho, 0,85%. No entanto, para o RS, em uma revisão quantitativa de ensaios de fungicidas na cultura do arroz irrigado em 10 anos de pesquisa no estado, Silva Filho *et al.* (2009) mostraram que a mancha parda é uma doença que, embora bastante presente nos tratamentos testemunha dos ensaios daquele estudo (53 dos 55 casos), a maioria deles apresentou severidade <10%. Avaliações visuais de severidade estão sujeitas a subjetividade principalmente quando não se dispõe de métodos padronizados ou experiência nas avaliações. Um estudo recente demonstrou que avaliadores sem experiência na avaliação tenderam a superestimar a severidade de mancha parda principalmente nos valores mais baixos (Lenz *et al.*, 2010). Além das reais diferenças de severidade entre os diferentes estudos, não se descarta que altos valores de severidade em outros trabalhos podem estar relacionados a erros sistemáticos que levam a superestimar a severidade da doença.

As estimativas dos parâmetros β_0 e β_1 do modelo linear ajustado para avaliar a influência do nível de incidência de *B. oryzae* na semente sobre a severidade da mancha parda, são apresentados na Tabela 5. Os parâmetros encontram-se em escala logarítmica devido a função de ligação utilizada no modelo para a análise da

severidade, portanto, para a obtenção dos valores originais deve-se aplicar a função inversa (função exponencial).

TABELA 5. Estimativas dos parâmetros β_0 (logaritmo da severidade, para o nível zero de inóculo) e β_1 (taxa de variação unitária do logaritmo da severidade em função do nível de inóculo) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de inóculo nas sementes de arroz sobre a severidade inicial e final de mancha parda, em todos os ensaios avaliados.

Ensaio	β_0 (EP) ¹	P ²	β_1 (EP) ¹	P ³
BA09-3A	-4,443 (0,069)	<0,001	0 (0,003)	0,493
BA09-3B	-5,182 (0,084)	<0,001	0,001 (0,004)	0,386
BA10-2	-5,998 (0,091)	<0,001	0,004 (0,004)	0,133
BA10-3	-6,051 (0,150)	<0,001	0,002 (0,007)	0,372
BA11-2	-6,613 (0,157)	<0,001	-0,05 (0,022)	0,979
BA11-3	-6,453 (0,213)	<0,001	0 (0,011)	0,518
CA09-3A	-2,808 (0,050)	<0,001	-0,002 (0,002)	0,85
CA09-3B	-4,117 (0,120)	<0,001	-0,003 (0,006)	0,682
CA10-2	-3,387 (0,070)	<0,001	-0,007 (0,003)	0,971
CA10-3	-5,099 (0,160)	<0,001	-0,002 (0,007)	0,582
CA11-1	-2,824 (0,135)	<0,001	-0,008 (0,007)	0,876

¹ Erro padrão da estimativa do parâmetro do modelo linear.

² Probabilidade de erro tipo I para o teste-t ($H_0: \beta_0=0$);

³ Probabilidade de erro tipo I para o teste-t unilateral à direita ($H_0: \beta_1=0$).

Em todos os ensaios não se observou efeito significativo do nível de inóculo nas sementes na severidade máxima observada na folha bandeira (Tabela 5). A falta de consistência nos dados pode ser visualizada também pela variação do sinal dos parâmetros β_1 estimados. Tal fato pode estar relacionado à natureza policíclica da doença e a presença de inóculo aéreo de *B. oryzae* oriundo em lesões de folhas/plantas em parcelas adjacentes ao tratamento ou até mesmo de outros ensaios na área experimental, tendo em vista a importância do inóculo secundário no progresso de epidemias policíclicas (Vale *et al.*, 2004), como é o caso da mancha parda. Em um estudo envolvendo a aerobiologia de *B. oryzae*, Picco & Rodolfi (2002) mostraram que a flutuação de esporos do fungo se relacionaram com a intensidade da mancha parda do arroz em campos na Itália.

4.1.4 Produtividade da cultura

A média geral de produtividade de todas as unidades experimentais nos oito ensaios foi de 8,69 ($\pm 2,4$) ton.ha⁻¹. Comparando-se os locais, a produtividade média foi maior em Cachoeirinha (9,6 ton.ha⁻¹) do que em Bagé (7,92 ton.ha⁻¹) (Figura 12).

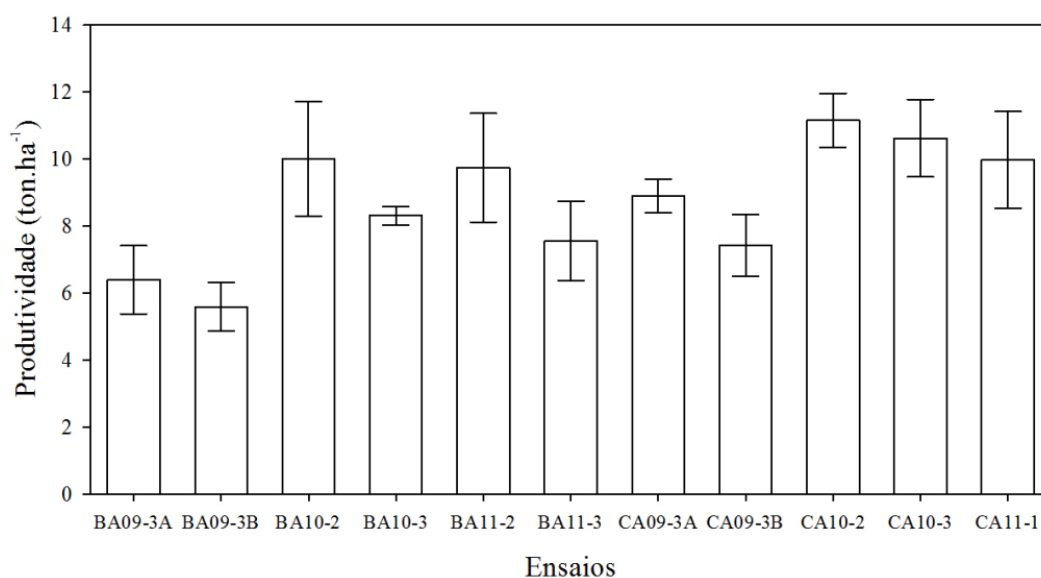


FIGURA 12. Produtividade média (ton.ha⁻¹) em ensaios de avaliação do efeito de níveis de inóculo de *Bipolaris oryzae* na semente (n=24; 6 tratamentos x 4 blocos) para os ensaios conduzidos em Bagé e Cachoeirinha, durante as safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11. Barras verticais correspondem ao erro padrão.

Ensaios conduzidos em épocas de semeadura tardia tiveram produção menor em comparação as demais épocas, para um mesmo local (Figura 12). Este resultado está de acordo com estudos conduzidos no sul do Brasil, principalmente devido ao efeito da luminosidade – a determinação da época de plantio para diferentes locais, no caso do arroz irrigado, leva em consideração a coincidência entre os picos de máxima radiação solar incidente com o período de maior exigência de radiação solar da cultura, ou seja, o período reprodutivo (Freitas *et al.*, 2008; SOSBAI, 2010).

As estimativas dos parâmetros β_0 e β_1 do modelo linear ajustado para avaliar a influência do nível de inóculo sobre a produtividade são apresentados na Tabela 6. Nesse caso, não foi utilizada nenhuma transformação para a análise de dados (função de ligação “identidade”), em função de produtividade ser um dado contínuo, e, assim, β_0 corresponde à produtividade para o nível zero de incidência e β_1 a taxa de variação da produtividade ($\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$) em função do aumento no nível de incidência de *B. oryzae* na semente.

Em nenhum dos ensaios foi observado efeito significativo ($p>0,05$) dos tratamentos de nível de incidência de *B. oryzae* na semente na produtividade. Os valores do parâmetro β_1 (Tabela 6) gerados na escala original são extremamente baixos (menores que 0,03), indicando valores próximos de produtividade para todas as unidades experimentais, independente do tratamento. Isso é confirmado pelo teste t unilateral a esquerda aplicada ao parâmetro β_1 que confirma que o parâmetro equivale à zero em todos os ensaios.

Embora o nível de incidência de *B. oryzae* tenha efeito sobre o estande de plantas, diversos estudos no Estado do RS (Souza *et al.*, 1995; Mariot *et al.*, 2003; Carmona *et al.*, 2008) e também em outras regiões no Brasil, tanto para o arroz irrigado (Santos & Costa, 1995; Santos *et al.*, 2002) como para o arroz de sequeiro (Santos & Costa, 1995), mostram que diferentes densidades de semeadura não diferenciam-se quanto a produtividade de grãos. Este fato pode estar relacionado à capacidade de perfilhamento das plantas de arroz, que permite a planta recompor o número de panículas por área ao ponto de igualar a produtividade final de grãos. O perfilhamento das plantas de arroz no campo, entretanto, pode variar em função da

densidade de semeadura, adubação, variedade, dentre outros fatores (Wu *et al.*, 1998).

TABELA 6. Estimativas dos parâmetros β_0 (produtividade para o nível zero de incidência de *Bipolaris oryzae*) e β_1 (taxa de variação unitária da produtividade em função do nível de incidência de *B. oryzae*) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de incidência nas sementes de arroz na produtividade do arroz irrigado em ensaios conduzidos em Bagé e Cachoeirinha nas safras 2008/09, 2009/10 e 2010/11.

Ensaio	β_0 (EP) ¹	P^2	β_1 (EP) ¹	P^3
BA09-3A	6,545 (0,202)	<0,001	-0,009 (0,009)	0,154
BA09-3B	5,590 (0,229)	<0,001	0 (0,010)	0,507
BA10-2	10,008 (0,433)	<0,001	0 (0,019)	0,502
BA10-3	8,260 (0,078)	<0,001	0,003 (0,003)	0,803
BA11-2	10,425 (0,441)	<0,001	-0,069 (0,043)	0,064
BA11-3	7,561 (0,303)	<0,001	-0,004 (0,018)	0,402
CA09-3A	8,838 (0,131)	<0,001	0,004 (0,006)	0,74
CA09-3B	7,304 (0,260)	<0,001	0,008 (0,011)	0,751
CA10-2	11,278 (0,224)	<0,001	-0,008 (0,010)	0,222
CA10-3	10,941(0,261)	<0,001	-0,018 (0,011)	0,069
CA11-1	10,406 (0,446)	<0,001	-0,027 (0,020)	0,092

¹ Erro padrão da estimativa do parâmetro do modelo linear.

² Probabilidade de erro tipo I para o teste-t ($H_0: \beta_0=0$);

³ Probabilidade de erro tipo I para o teste-t unilateral à esquerda ($H_0: \beta_1=0$).

Além disso, uma vez que a severidade da mancha parda não foi influenciada pelos níveis de incidência de *B. oryzae* na semente, seu possível efeito na produtividade acaba sendo menos provável, uma vez que diferenças em produtividade seriam esperadas em situações de diferenças de severidade, embora a relação entre severidade de mancha parda e dano em produtividade não esteja bem estabelecida.

4.1.5 Incidência de *B. oryzae* nos grãos colhidos

A média geral de incidência média de *B. oryzae* nos grãos colhidos para os nove ensaios foi de 13%. Para cada local, no entanto, as médias foram bastante

distintas, sendo maior em Cachoeirinha, 19,8%, do que para Bagé onde a média foi 6,2% (Figura 13).

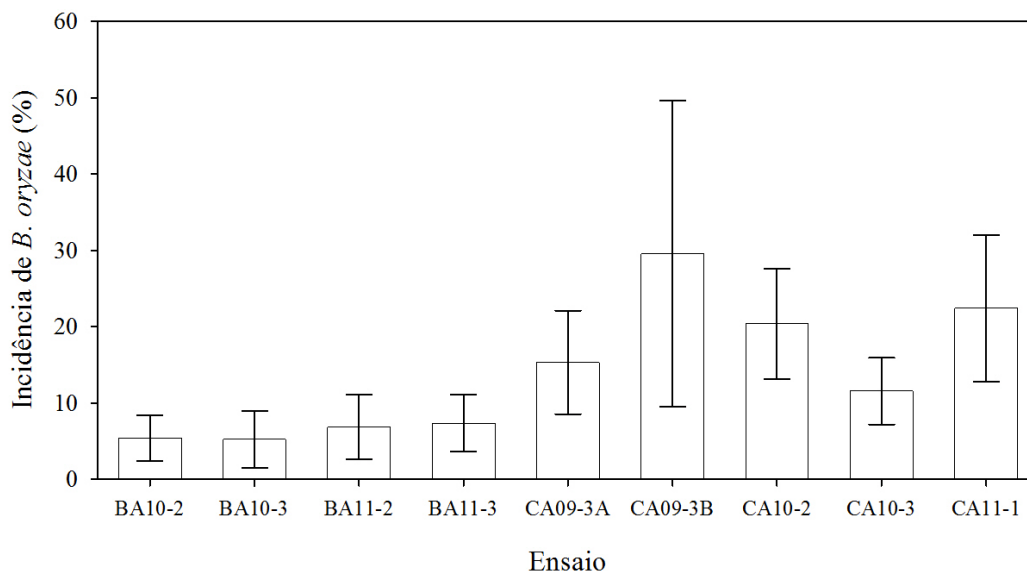


FIGURA 13. Incidência média de *Bipolaris oryzae* (%) em grãos colhidos entre todos os tratamentos para cada um dos ensaios de Bagé e Cachoeirinha, durante as safras de 2008/09, 2009/10 e 2010/11. Barras verticais correspondem ao erro padrão.

Assim como para a severidade da mancha parda nas folhas, houve uma maior variação de incidência do patógeno na semente em Cachoeirinha, comparado aos ensaios de Bagé. Em alguns casos (ensaios CA09-3B e CA11-1) houve grande variabilidade, evidenciada pelo alto desvio padrão (Figura 13).

As estimativas dos parâmetros β_0 e β_1 do modelo linear ajustado são apresentados na Tabela 7. Assim como no caso da incidência de mancha parda nas folhas, não foi utilizada nenhuma transformação para a análise de dados (função de ligação “identidade”), pois se considerou uma aproximação Normal para a porcentagem da incidência de *B. oryzae* nos grãos colhidos nos ensaios.

TABELA 7. Estimativas dos parâmetros β_0 (incidência de *Bipolaris oryzae* nos grãos para o nível zero de incidência na semente) e β_1 (taxa de variação unitária da incidência de *B. oryzae* nos grãos em função do nível de incidência na semente) do modelo linear utilizado para representar a influência do nível de incidência nas sementes de arroz sobre a incidência de *B. oryzae* em grãos colhidos para todos os ensaios avaliados.

Ensaio	β_0 (EP) ¹	P ²	β_1 (EP) ¹	P ³
BA10-2	0,057 (0,008)	<0,001	0 (0)	0,686
BA10-3	0,063 (0,010)	<0,001	-0,001 (0)	0,947
BA11-2	0,076 (0,011)	<0,001	-0,001 (0)	0,842
BA11-3	0,078 (0,010)	<0,001	0 (0)	0,734
CA09-3A	0,167 (0,021)	<0,001	-0,001 (0,001)	0,839
CA09-3B	0,265 (0,042)	<0,001	0,002 (0,002)	0,153
CA10-2	0,218 (0,018)	<0,001	-0,001 (0,001)	0,865
CA10-3	0,114 (0,012)	<0,001	0 (0,001)	0,456
CA11-1	0,224 (0,029)	<0,001	0 (0,001)	0,49

¹ Erro padrão da estimativa do parâmetro do modelo linear.

² Probabilidade de erro tipo I para o teste-t ($H_0: \beta_0=0$);

³ Probabilidade de erro tipo I para o teste-t unilateral à direita ($H_0: \beta_1=0$).

Para nenhum dos ensaios constatou-se efeito significativo ($p>0,05$) dos tratamentos na incidência do fungo nos grãos colhidos e, assim como no caso da produtividade, os parâmetros β_1 em escala original (decimal) tiveram valores extremamente baixos, próximos à zero (Tabela 7).

Os parâmetros β_0 estimados foram todos maiores em Cachoeirinha se comparados a Bagé (Tabela 7), mostrando que a incidência de *B. oryzae* foi maior em Cachoeirinha, seguindo o mesmo padrão observado para a severidade.

A ausência de efeito dos níveis de incidência de *B. oryzae* na semente pode ter se relacionado à similaridade em severidade nos tratamentos, uma vez que folhas sintomáticas podem servir de fonte de inóculo para infecções nas panículas. A infecção de grãos de arroz no campo por parte da epidemia de mancha parda é conhecida há muitos anos (Ocfemia, 1924) e, inclusive, há trabalhos que testam o

efeito da contaminação natural dessas sementes sobre diversos aspectos relacionados a cultura e a epidemia (Prabhu & Vieira, 1989).

4.2 Estudo 2: Análise digital de lesões de mancha parda nas folhas de arroz.

4.2.1 Severidade e número de lesões em folhas

A severidade média da mancha parda determinada por análise digital no total de 350 imagens de folhas foi de 3,3% variando de 0,04% a 28,8%. 92 % das folhas apresentou severidade <10% e 55% das folhas com severidade <2% (Figura 14-A). O comprimento médio das folhas foi de 25 cm, variando de 12,8 a 36,7 cm, seguindo uma distribuição normal (não apresentado). No subconjunto de 100 folhas selecionadas, o número mínimo e máximo de lesões em uma folha foi de 1 e 293, respectivamente em folhas com severidade determinada em 0,04 e 28,8%. Mais de 40% das folhas apresentou menos de 20 lesões (Figura 14-B).

Os valores de severidade determinados digitalmente foram relativamente baixos em comparação a outros trabalhos (Santos *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2005) que expressaram a severidade em folhas bandeira em notas de uma escala ordinal, cujos valores de severidade são bem acima dos valores determinados neste estudo. Em estudos em ambiente controlado e inoculação artificial foram relatados valores de severidade de mancha parda superiores a 60%, em folhas do estágio vegetativo (Zanão Junior *et al.*, 2009; Dallagnol *et al.*, 2011). Na região produtora de arroz no Centro-Oeste do Brasil, Ottoni *et al.* (2000), avaliaram a severidade da mancha parda em ensaios de fungicidas com auxílio de um diagrama de severidade proposto por

Azevedo (1998). Os autores relataram severidade máxima em folhas-bandeira de 25,63%, bastante próximo ao máximo observado nesse trabalho (28,8%).

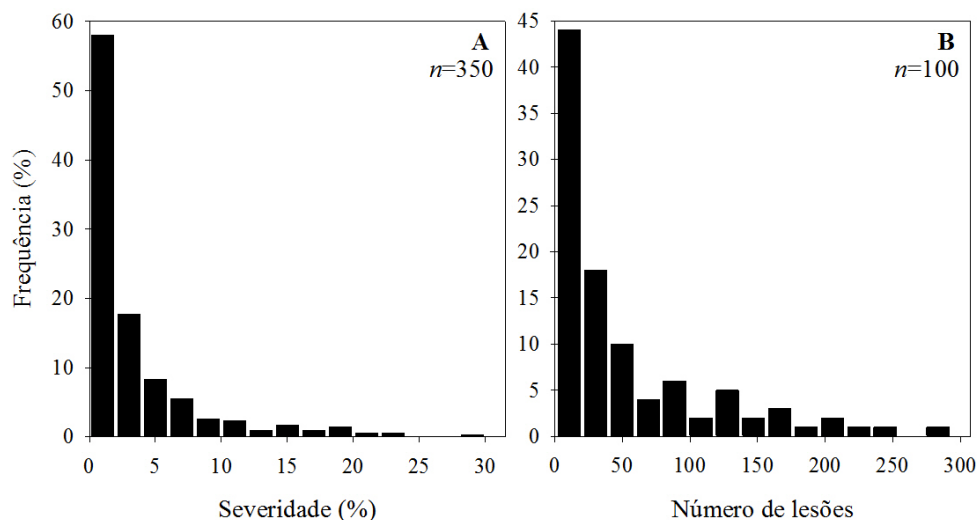


FIGURA 14. Histograma de frequência dos valores de severidade de mancha parda (A), determinada por meio de análise digital em 350 folhas, e do número de lesões por folha (B), em um subconjunto de 100 folhas selecionadas. Folhas amostradas em áreas experimentais na Estação Experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz durante a safra 2009/10 em Cachoeirinha/RS.

No estudo de validação de um diagrama de severidade (Lenz *et al.*, 2010), 100 folhas de arroz irrigado no RS foram amostradas na região central do Estado, com o valor máximo relatado de severidade de 38,6%. No entanto, os autores não informaram a distribuição dos demais valores determinados. Silva-Filho *et al.* (2009), em uma revisão quantitativa de ensaios de fungicidas na cultura do arroz irrigado em 10 anos de pesquisa no RS, mostrou que a mancha parda é uma doença que, embora bastante presente nos tratamentos testemunha nos ensaios daquele estudo (53 dos 55 casos), a maioria deles apresentou severidade <10%.

A relação entre o número de lesões e a severidade em uma folha, para o subconjunto de amostras de 100 folhas, foi ajustado a um modelo linear (Figura 15) com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,85. O coeficiente angular de 0,103

indica que um incremento em 10 lesões, a severidade incrementa em aproximadamente um ponto percentual.

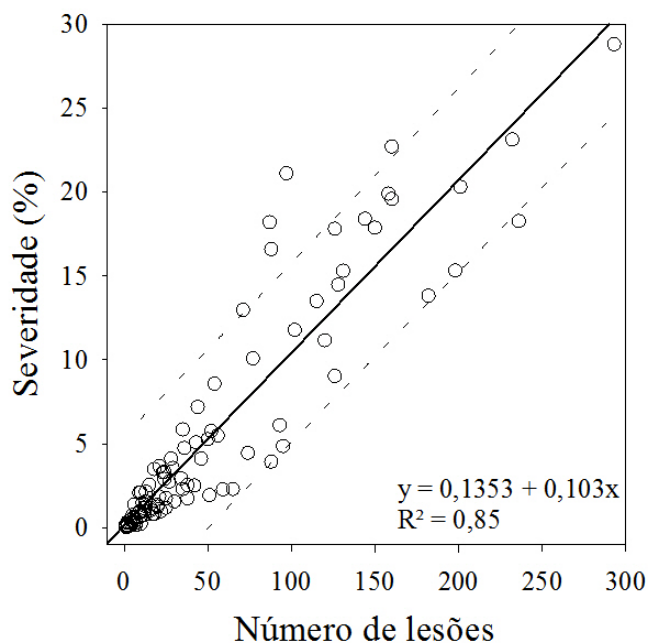


FIGURA 15. Gráfico da relação entre o número de lesões (x) e a severidade (y) na folha bandeira para o conjunto de 100 amostras, onde a linha sólida representa a reta da regressão linear e as linhas tracejadas o intervalo de confiança de 95%.

Em um estudo com a mancha folhar de septoria em mirtilo, causada por *Septoria albopunctata*, Ojiambo & Scherm (2006) também observaram uma relação linear entre a severidade e o número de lesões, onde para cada incremento de 10 lesões, a severidade aumentava em 1,7 pontos percentuais. Bade & Carmona (2011), trabalhando com *Puccinia sorghi* em milho, sugerem que mesmo havendo variação no número de pústulas para valores de severidade idênticas, ser possível e mais acurado estimar a severidade por meio da contagem do número de lesões em valores baixos de severidade (até 6%), sendo mais as estimativas mais acuradas e precisas, principalmente para avaliadores com pouca experiência. No presente trabalho, a relação entre o número de lesões e a severidade em valores abaixo de 2% é explicada

em apenas 53% por um modelo linear, sugerindo que estimativas visuais de severidade podem ser mais acuradas do que contagem de lesões.

4.2.2 Área de lesões individuais e padrão espacial no limbo foliar

A área média das lesões (área necrótica e halo amarelado) foi de 293 mm², variando de 10 a 3.083 mm². Visualmente, as folhas não aparentaram agregação espacial das lesões na maioria das folhas. No entanto, para valores acima de 8% foi observada coalescência de lesões (Figura 16) e maior variação na área das lesões com um grande número de lesões com valores extremos de área, mais facilmente observado com os dados na escala logarítmica (Figura 17).

Na análise do padrão espacial das lesões no limbo foliar com as duas metodologias distintas de análise, tanto o índice global de agregação (I_a) determinado pelo SADIE e o índice de dispersão (D) com base na relação variância/média, confirmou a predominância (80% das folhas) de aleatoriedade no padrão espacial das lesões, com uma concordância nos resultados para 78 das 100 folhas analisadas, entre as duas metodologias.

O índice D apresentou valor médio de 1,42, com variação de 0,36 (aleatório; $p=0,98$) a 9,29 (agregado; $p<0,01$). Em 80 folhas o índice D indicou um padrão aleatório de distribuição das lesões. No entanto, nas 24 folhas com severidade superior a 8%, 12 apresentaram padrão agregado de lesões, sugerindo uma tendência de mudança para o padrão agregado em folhas com severidade acima desse limiar (Figura 18-A).



FIGURA 16. Folhas de arroz com lesões de mancha parda onde se verifica variação na área individual das lesões e coalescência dos halos em folhas com severidades abaixo de 5% (A e B) e folhas com severidade acima de 10% (C e D).

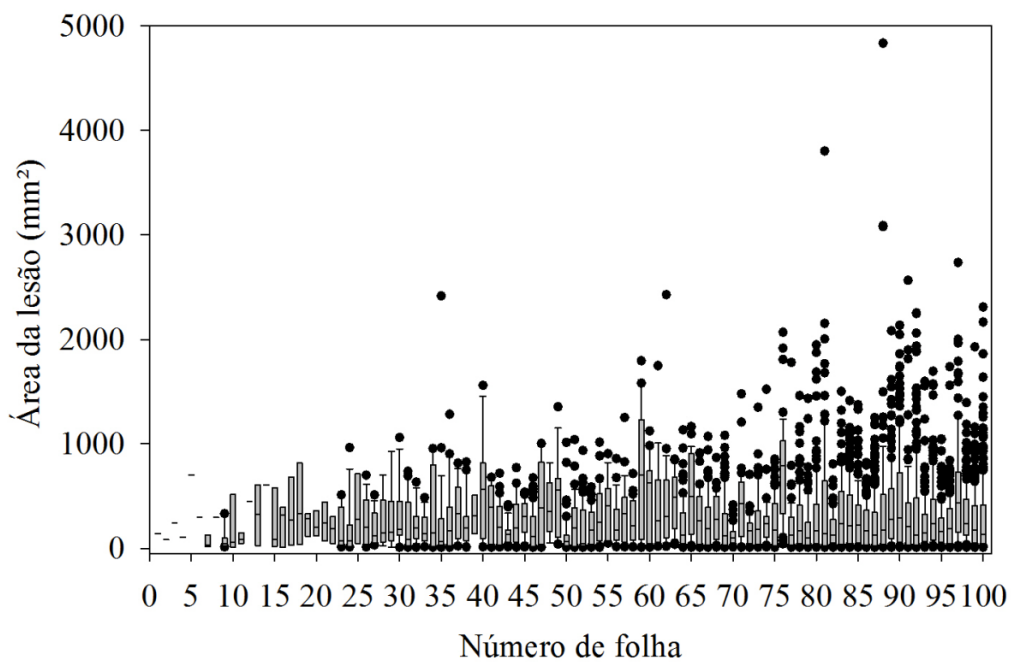


FIGURA 17. *Box plot* da área individual de lesões de mancha parda mensuradas digitalmente em uma amostra de 100 folhas de arroz sintomáticas para mancha parda. As folhas estão ordenadas em ordem crescente de severidade.

Por sua vez, o I_a teve um valor médio de 1,28 variando de 0,61 (aleatório; $p=0,9$) a 3,22 (agregado; $p<0,01$) sendo que para 20 folhas a análise indicou padrão agregado ($I_a > 1$; $p<0,01$) – 40% dessa com severidades acima de 8% (Figura 18-B).

Algumas características de lesões como número, área, presença de halo, agregação em áreas da folha e formato da folha podem afetar a percepção dos avaliadores quando da avaliação da severidade (Nutter & Esker, 2006). Em função disso, a análise do padrão de distribuição das lesões para um determinado patossistema pode ser útil em trabalhos de construção de diagramas de severidade, de forma que o esse possa reproduzir o padrão típico da doença no órgão afetado. Na literatura se encontram diagramas construídos e validados com diferentes representações para uma mesma doença, considerando a presença de mais de um padrão de distribuição das lesões, os quais são representados em folhas com mesmo valor de severidade (Martins *et al.*, 2004; Belasque Junior *et al.*, 2005).

Padrões espaciais de lesões podem ser determinados com diferentes metodologias tais como distribuições teóricas ou índices para dados de contagem em quadriláteros (ou subáreas) definidos no órgão de interesse (Madden *et al.*, 2007), ou então por métodos baseados em distância com base na localização e distâncias entre as lesões (Pires *et al.*, 2009). Os primeiros trabalhos com enfoque na análise do padrão espacial de lesões no limbo foliar foram publicados no início da década de 1980, com dados de contagem de lesões em folhas (Rouse *et al.*, 1980; Waggoner & Rich, 1981), que foram ajustados a modelos de distribuição para a verificação do padrão espacial – dados de contagem ajustam-se as distribuições de poisson e negativa binomial quando representam padrões espaciais aleatórios e agregados, respectivamente (Madden *et al.*, 2007).

Rouse *et al.* (1980), estudando a frequência da distribuição de lesões de oídio no trigo relataram um padrão agregado tanto em experimentos em condições controladas como em condições de campo, pois o modelo da distribuição se aproximou da binominal negativa em ambos os casos. Waggoner & Rich (1981) examinaram a frequência da distribuição de lesões em diferentes patossistemas e constataram que podem haver variações para um mesmo patossistema, pois mesmo com a predominância de um determinado padrão (aleatório) para um conjunto de casos analisados, podem haver desvios (agregado). Recentemente, Pires *et al.* (2009), trabalhando com o número de lesões de ferrugem com anotação de sua localização em uma grade determinada em folhas de trigo, analisou o padrão espacial pelo método baseado em distâncias entre as unidades, e verificou mudança no padrão, de aleatório para agregado, com o avanço da epidemia, possivelmente devido aos eventos de autoinfecção. Bock *et al.* (2011) analisou dados de contagem de lesões de sarna do pessegueiro em regiões do fruto e ajustou um modelo linear generalizado para avaliar a distribuição das lesões no fruto, constatando que a ocorrência de lesões ocorria principalmente na região superior do fruto (com 90° em relação ao pendúnculo), inferindo sobre a capacidade de disseminação e infecção de *Fusicladosporium carpophilum*.

Diferentes metodologias têm sido utilizadas na determinação de padrões espaciais de entidades doentes no contexto da fitopatologia (Madden *et al.*, 2007). O programa SADIE® (Perry, 1998), que tem base em índice global de agregação gerado pela distância média necessária entre entidades doentes para que seja obtido um padrão regular, é de uso relativamente recente na Fitopatologia, especialmente em estudos do padrão espacial de dados de contagem de unidades doentes em

subáreas em uma área de cultivo (Turechek & Madden, 2000; Dallot *et al.*, 2003; Schmale *et al.*, 2005).

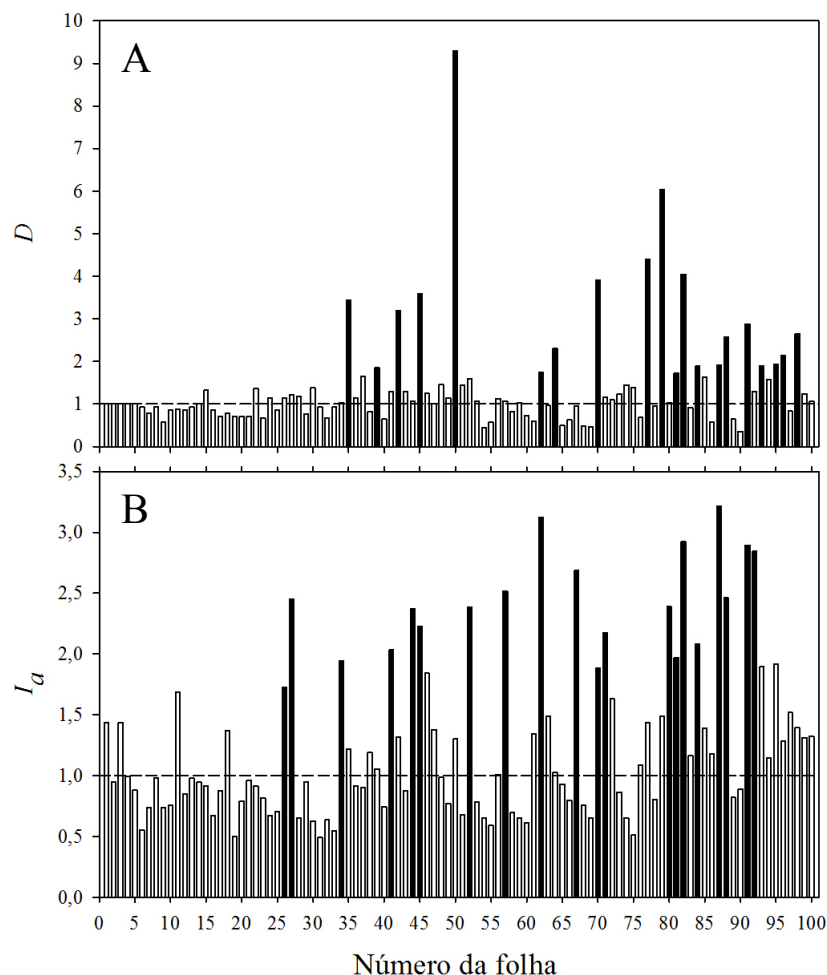


FIGURA 18. Valores do índice de dispersão (D) (razão variância/média) (A) e do índice global de agregação (I_a) determinado pelo SADIE (Spatial Analysis by Distance Indices) (B) para dados de contagem de lesões de mancha parda do arroz em quinze subáreas determinadas em cada folha de um conjunto de 100 folhas de arroz. Barras pretas indicam que D é significativamente >1 pelo teste-t ($H_0: D=1; p<0,05$), ou $I_a > 1$ ($p<0,05$), sugerindo um padrão agregado de distribuição das lesões.

No entanto, não foram encontrados estudos usando o SADIE para determinar padrão de lesões em folhas, sendo este o primeiro trabalho. A predominância de aleatoriedade na distribuição das lesões determinada tanto pelo SADIE como pela

razão variância/média, no entanto, foi mais evidente em valores mais baixos de severidade, sendo que acima de 8% foi observado padrão agregado para 40% e 50% dos casos, respectivamente, para essas metodologias.

Em um estudo sobre efeito do silício na resistência de plantas de arroz à mancha parda, Dallagnol *et al.* (2009) observou a presença de coalescência dos halos das lesões para as folhas com os maiores valores de severidades, especialmente naqueles dos tratamento testemunha, com severidades mais altas, corroborando com o observado nesse trabalho. Além disso, os autores verificaram que área das lesões e a área ocupada pelo halo variaram em função do genótipo de arroz. No presente trabalho, as folhas coletadas foram originadas de diferentes cultivares, mas que não foram identificadas quando da análise.

Nas folhas com mais altos valores de severidade determinadas no presente trabalho, oriundas de parcelas em estágio mais avançado da epidemia, também se observou uma grande variabilidade na área das lesões (figura 16 e 17), o que sugere que as lesões menores possam ter se originado de infecções secundárias. De maneira similar, Pires *et al.* (2009), na análise do padrão espacial de lesões da ferrugem do trigo, observaram que o padrão das lesões mudou de aleatório para agregado na medida em que a epidemia avançou no tempo, devido a formação de aglomerados ao redor das lesões de ferrugem mais velhas nas folhas, induzindo a coexistência de lesões grandes (coalescidas) na região central do limbo com lesões menores, localizadas na periferia do limbo folhar.

4.3 Estudo 3: Diagramas de severidade de mancha parda em arroz

Para representar os diferentes níveis de severidade nos diagramas foram escolhidas folhas com comprimento de 25 ± 1 cm, que foi o valor médio determinado na amostra de 350 folhas. Os níveis de severidade foram definidos arbitrariamente em número de sete por diagrama, cujos intervalos foram determinados de acordo com um padrão de incremento linear ou exponencial do mínimo até o valor máximo de severidade. Os valores mínimo e máximo de severidade, 0,1 e 28,8%, respectivamente, foram os mesmos para todos os diagramas (Figura 19 e 20).

Na maior parte dos estudos os diagramas são representados com desenhos ou imagens digitalizadas de folhas reais em preto e branco, com incremento exponencial dos valores nos diagramas (Gomes *et al.* 2004; Camochena *et al.*, 2008; Michereff *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010; Lenz *et al.* 2010).

O uso do incremento exponencial para os valores de severidade representados em diagramas é justificado por vários autores de trabalhos de construção e validação de diagramas com base na suposta lei de Weber-Fechner, segundo Horsfall & Barret (1945), que afirma que a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo visual e que o olho humano busca identificar em severidade abaixo e acima de 50% a área das lesões e a área sadia, respectivamente, e que, em função disso, a capacidade da visão humana em identificar diferenças de severidade em valores entre 25 e 50% seria limitada (Martins *et al.*, 2004; Spósito *et al.*, 2004; Angelotti *et al.*, 2008; Salgado *et al.*, 2009).

No entanto, recentemente, Nutter & Esker (2006) apontaram que o trabalho de Horsfall & Barratt (1945) está equivocado, apontando que a suposta lei de Weber-Fechner são duas leis independentes, a lei de Weber e a lei de Fechner

(Goldstein,1989), e que não seria aplicável para a acuidade da visão humana na mensuração da severidade em folhas.

Em seu estudo, Nutter & Esker (2006) trabalharam com valores de severidade entre 25 e 50% em dois patossistemas, o míldio da videira e a ferrugem do trigo, que apresentam diferentes padrões de lesões, sendo o primeiro com lesões maiores e o segundo com lesões menores, demonstraram que a acuidade visual em avaliações de severidade em folhas dentro dessa faixa de valores de severidade é linearmente proporcional ao estímulo visual – sugerindo que pode ser mais apropriado adotar incrementos lineares. Contudo, ainda não há na literatura trabalhos que buscaram comparar diagramas com incremento linear e exponencial.

Embora existam outros diagramas de severidade ou de notas para a avaliação de mancha parda do arroz (CIAT, 1983; IRRI, 1996; Azevedo, 1998; Lenz *et al.*, 2010) apenas no trabalho de Lenz *et al.* (2010) os diagramas passaram por um processo formal de validação científica. O presente estudo se diferencia dos trabalhos anteriores, nos seguintes aspectos: (1) por utilizar imagens reais de folhas diferentes para cada representação de um valor de severidade do diagrama; (2) por avaliar uma versão em preto e branco e outra em cores com dois padrões de incrementos – linear ou exponencial – totalizando quatro representações; (3) pela metodologia analítica aplicada no processo de validação, através da avaliação da concordância entre valores estimados e observados tendo como base a análise de correlação de concordância (CCC) das estimativas, além dos parâmetros da regressão (a , b e R^2); (4) e por realizar análise de reprodutibilidade e repetibilidade das estimativas.

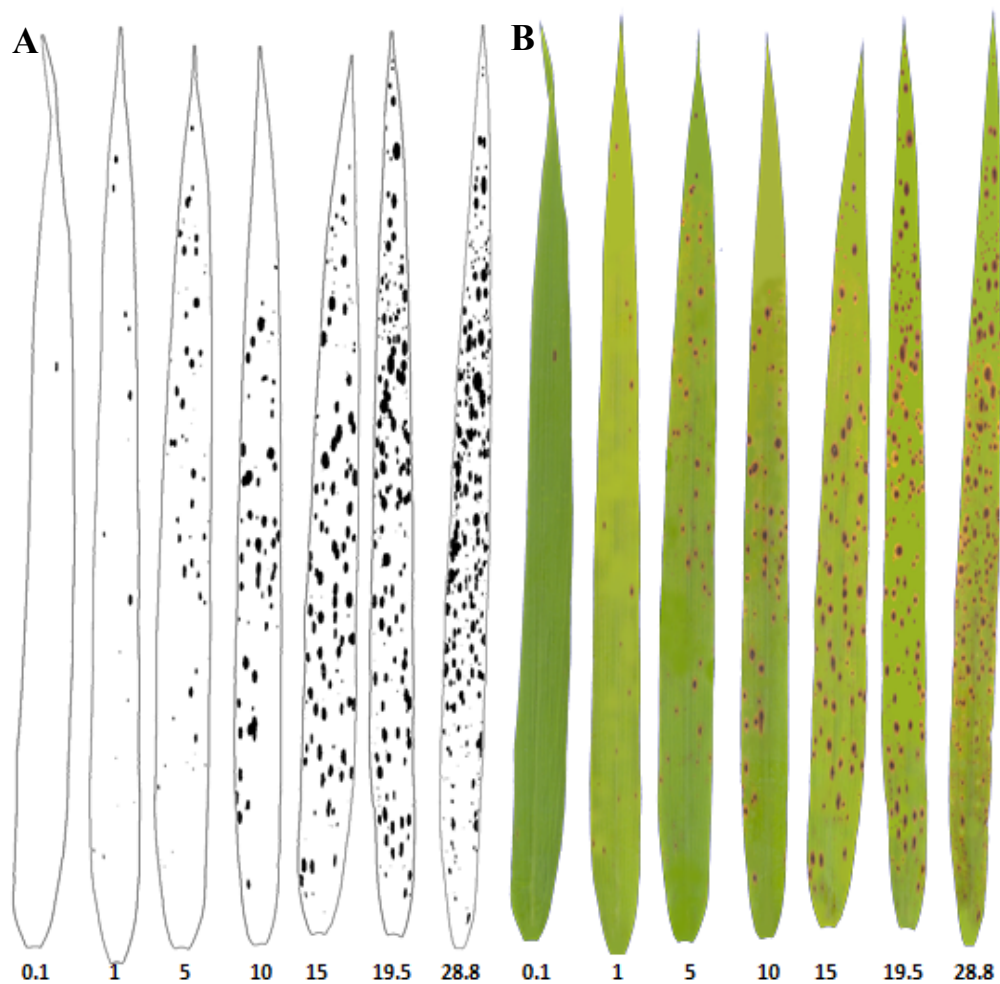


FIGURA 19. Diagramas de severidade da mancha parda do arroz com valores em incremento aproximadamente linear nas versões em preto e branco (A) e em cores (B).

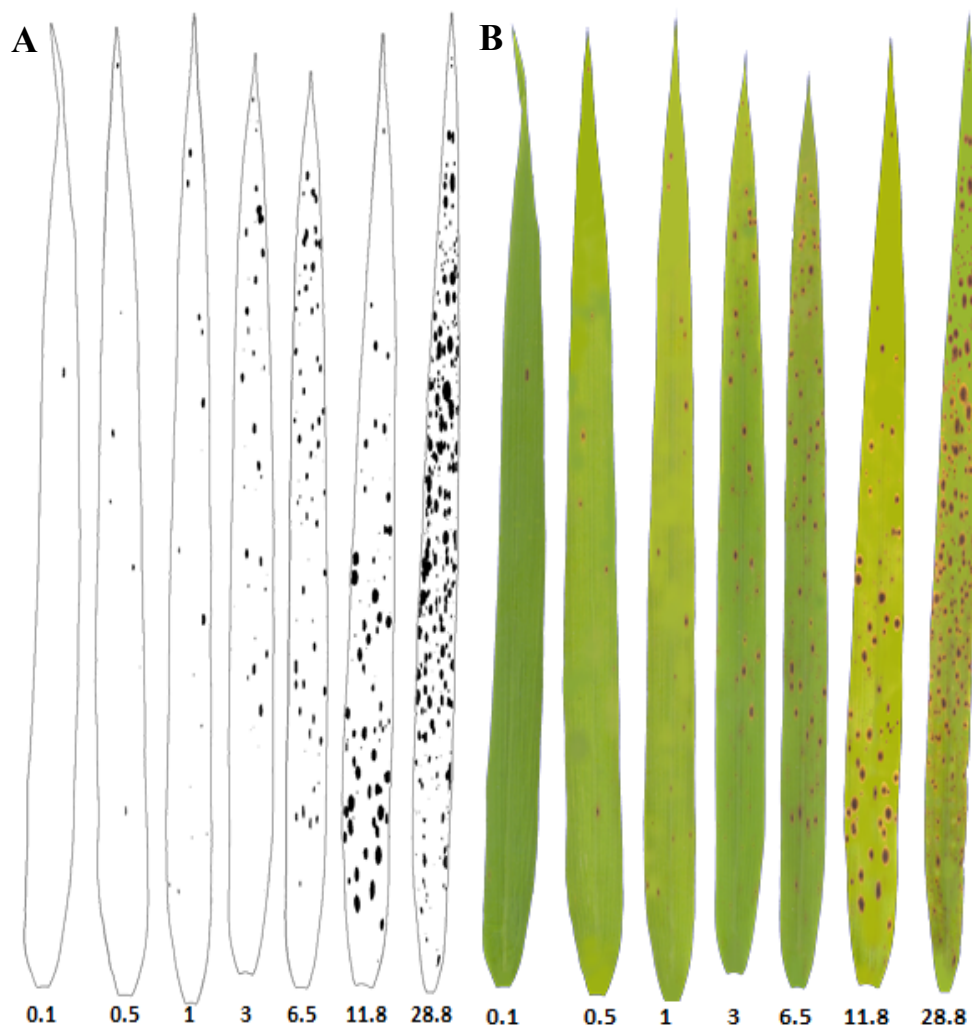


FIGURA 20. Diagramas de severidade da mancha parda do arroz com valores em incremento exponencial nas versões em preto e branco (A) e em cores (B).

4.3.1 Impacto do uso dos diagramas em estimativas de severidade

4.3.1.1 Concordância, acurácia e precisão

4.3.1.1.1 Regressão linear

A análise visual dos gráficos de dispersão entre os valores reais e estimados pelos avaliadores mostrou, de maneira geral, com exceção dos avaliadores H e J, uma tendência dos avaliadores em superestimar os valores de severidade da mancha parda na ausência dos diagramas (sem auxílio), além de uma baixa precisão evidenciada pela mais alta dispersão dos valores ao redor da linha da regressão (Figuras 21 e 22).

A estatística com base nos coeficientes da reta e o coeficiente de determinação da regressão confirmam a baixa acurácia e precisão dos avaliadores nas estimativas sem auxílio dos diagramas nos dois grupos de avaliadores. O coeficiente de determinação (R^2), indicativo de precisão das estimativas, teve valor médio (todos os avaliadores) de 0,7 para as avaliações sem auxílio, variando de 0,45 a 0,83 para os avaliadores J e E, respectivamente.

Com o uso dos diagramas, a precisão das estimativas foi variável entre os avaliadores, mas com um incremento no R^2 de 0,73 (sem auxílio) para 0,8 no grupo linear, indiferente da coloração do diagrama. Já no grupo exponencial o R^2 praticamente não diferiu entre as avaliações sem auxílio (0,66) e com auxílio (0,67) para os diagramas P&B, no entanto teve um incremento para 0,74 quando do uso dos diagramas Cores.

Quanto ao coeficiente linear (a) e ao coeficiente angular da reta (b), indicadores da acurácia das estimativas, nas avaliações sem auxílio, os valores variaram, de -1,94 a 17,17 (avaliadores B e P, respectivamente), com média de 5,16, para o parâmetro a , indicando uma tendência geral dos avaliadores em superestimar a severidade especialmente nos níveis mais baixos. Já o parâmetro b variou de 0,7 a 3,15 (avaliadores H e L, respectivamente). A análise estatística para testar a hipótese de que a e b diferem significativamente de 0 e 1, respectivamente (valores de intercepto e coeficiente angular da reta 1:1) mostrou que a proporção de avaliadores com valores P significativos, foi maior nas avaliações sem auxílio, em relação as avaliações com auxílio, para ambos os grupos de avaliadores.

Para o grupo linear, com o auxílio do diagrama colorido, apenas para um avaliador (avaliador A) o parâmetro a não diferiu de 0, o que indicou uma tendência de superestimação da severidade quando da utilização desse diagrama. Em contrapartida, em mais da metade dos casos (quatro em sete), b foi significativamente <1 , com a maior porção da linha de regressão localizando-se abaixo da reta 1:1, indicando uma tendência de subestimar a severidade em valores mais altos de severidade.

Os resultados corroboram com diversos outros estudos de validação de diagramas, que usaram a regressão linear, que também mostraram uma tendência de superestimação dos valores de severidade, quando sem auxílio, e aumentos significativos de acurácia e precisão das estimativas por avaliadores quando com auxílio dos diagramas propostos (Noronha, 2002; Sposito *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2005; Deschamps *et al.*, 2008; Salgado *et al.*, 2009; Lenz *et al.*, 2010; Pedroso *et al.*, 2011).

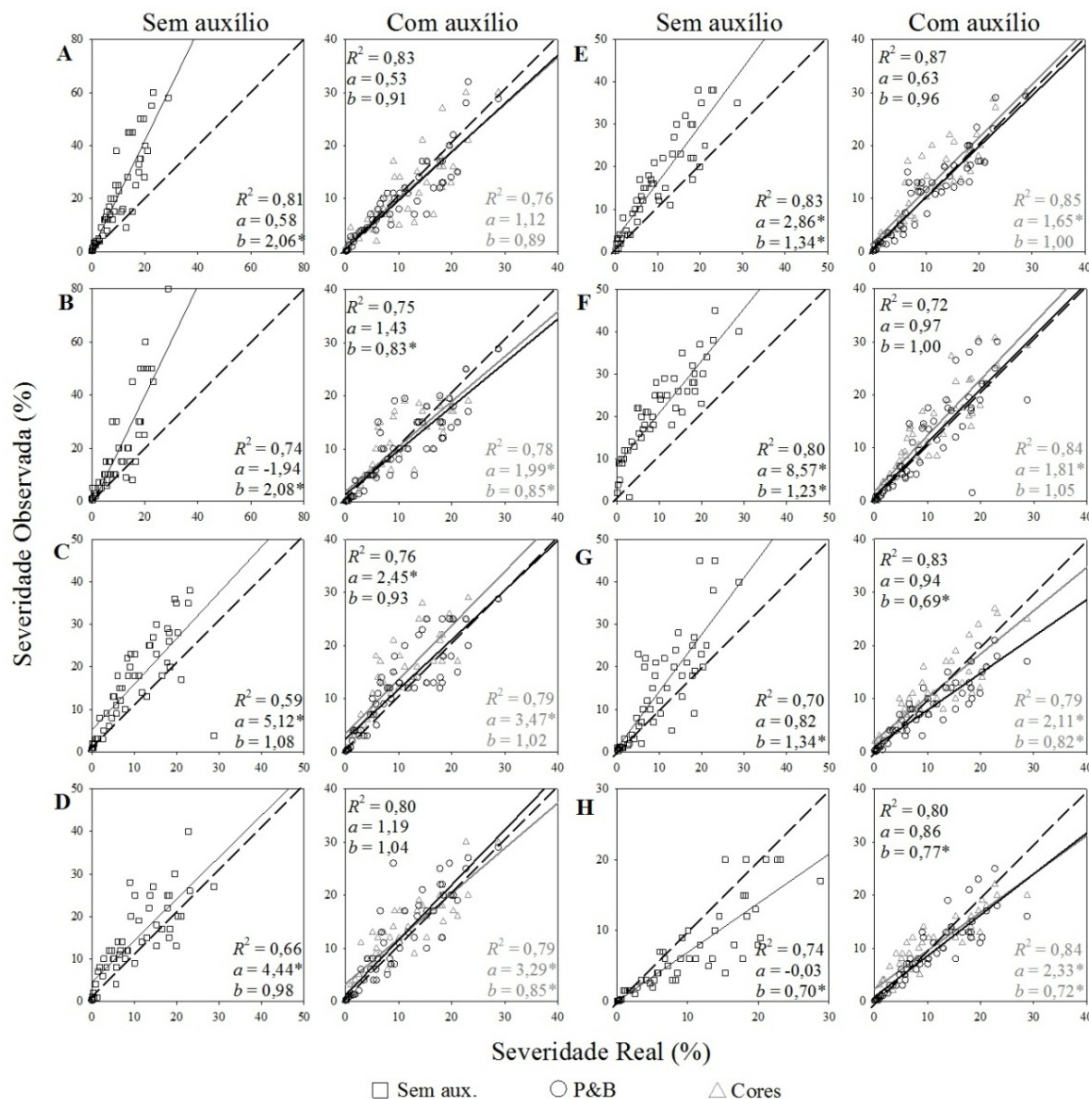


FIGURA 21. Gráficos de dispersão entre os valores de severidade real determinados por análise digital de imagem e valores estimados por oito avaliadores (A a H) do grupo linear como auxílio um diagrama com incremento linear em suas duas versões (P&B e Cores). A linha tracejada representa a situação de total concordância entre o valor estimado e o valor real de severidade. As linhas sólidas na cor preta e cinza representam a regressão entre os valores reais e estimados com auxílio do diagrama em P&B e Cores, respectivamente. No interior do gráfico, os coeficientes da regressão linear (R^2 = coeficiente de determinação; a = coeficiente linear; e b = coeficiente angular) para P&B e Cores no canto superior e inferior, respectivamente. Valores de a e b acompanhados de asterisco (*) diferem estatisticamente de 0 e 1, respectivamente, pelo teste-t ($p < 0,05$).

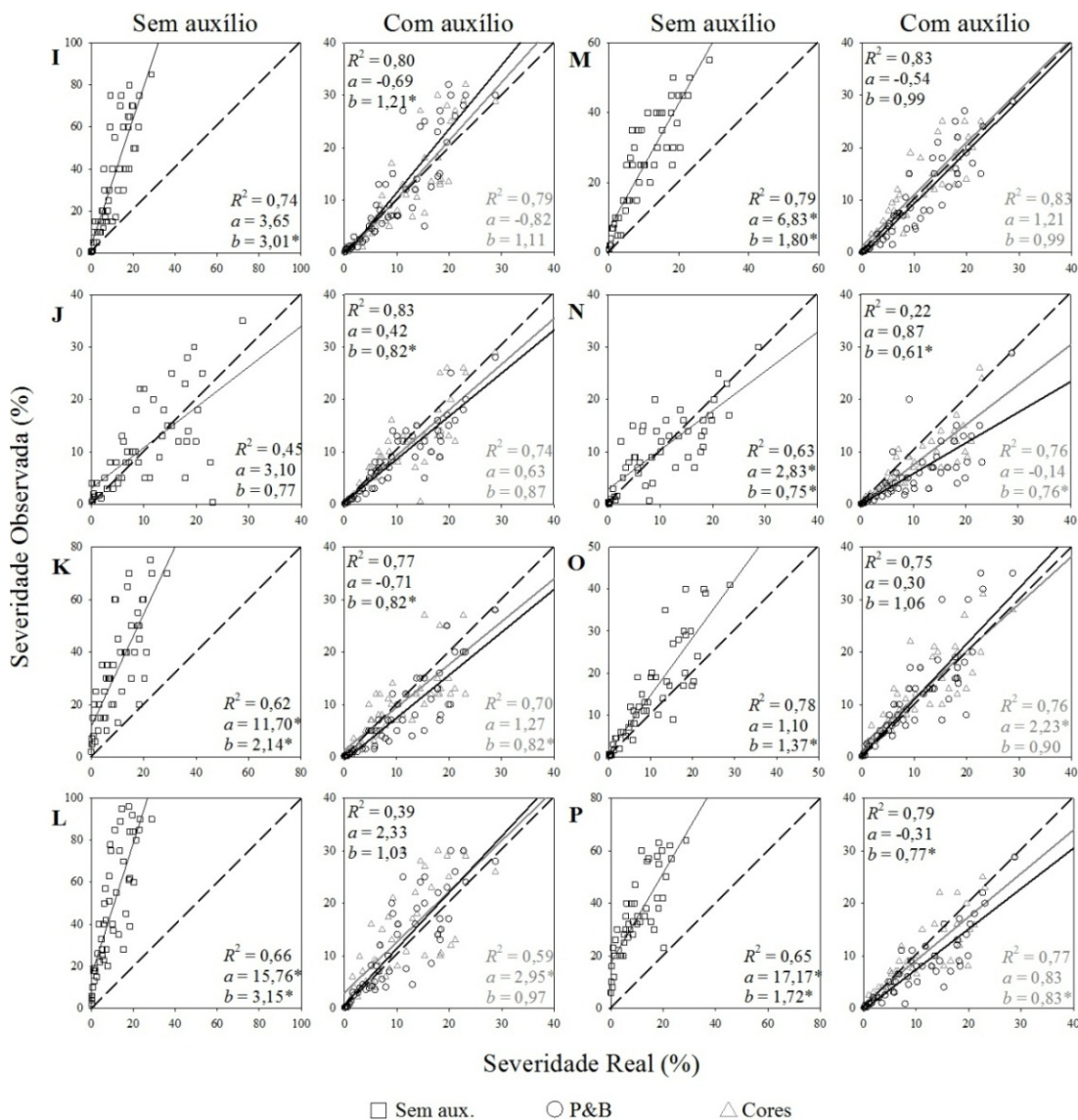


FIGURA 22. Gráficos de dispersão entre os valores de severidade real determinados por análise digital de imagem e valores estimados por oito avaliadores (I a P) do grupo que utilizou como auxílio um diagrama com incremento exponencial em suas duas versões (P&B e Cores). A linha tracejada representa a situação de total concordância entre o valor estimado e o valor real de severidade. As linhas sólidas na cor preta e cinza representam a regressão entre os valores reais e estimados com auxílio do diagrama em P&B e Cores, respectivamente. No interior do gráfico, os coeficientes da regressão linear (R^2 = coeficiente de determinação; a = coeficiente linear; e b = coeficiente angular) para P&B e Cores no canto superior e inferior, respectivamente. Valores de a e b acompanhados de asterisco (*) diferem estatisticamente de 0 e 1, respectivamente, pelo teste-t ($p < 0,05$).

No diagrama desenvolvido recentemente por Lenz *et al.* (2010), também para a avaliação da severidade de mancha parda do arroz, os valores de severidade seguiram um incremento aproximadamente exponencial, que variou de 1,6 a 38,6% de severidade. No processo de validação, oito avaliadores estimaram a severidade sem e com o auxílio do diagrama. De maneira geral, os autores verificaram superestimativas na ausência do auxílio e aumento da acurácia e precisão das estimativas quando com o auxílio do diagrama proposto, verificados pelos parâmetros da análise de regressão. Ainda, naquele trabalho, com relação a acurácia das estimativas, quando sem auxílio, houve 3 e 4 diferenças significativas para os parâmetros a ($H_0: a=0$) e b ($H_0: b=1$), respectivamente; já quando houve o auxílio do diagrama proposto naquele trabalho, os parâmetros a e b foram, para todos os avaliadores, estatisticamente iguais a 0 e 1, respectivamente. Em se tratando da precisão das estimativas, houve incremento verificado pelo coeficiente de determinação (R^2), que variou de 0,16 a 0,46, quando sem auxílio, para 0,84 a 0,94 quando com auxílio. Já no presente trabalho, para quaisquer dos diagramas, houve no mínimo quatro diferenças significativas, entre parâmetros a e b ($H_0: a=0$; $H_0: b=1$), durante as avaliações; enquanto que os incrementos de R^2 foram mais modestos (Figura 21 e 22) em relação ao incremento observado por Lenz *et al.* (2010). Essas diferenças de valores devem-se, possivelmente, à variação existente entre diferentes avaliadores, os quais, individualmente, possuem capacidades distintas de avaliar proporções de áreas através do estímulo visual (Nutter & Schultz, 1995).

4.3.1.1.2 Coeficiente de correlação de concordância

Quanto aos valores do coeficiente de correlação de concordância ($CCC = \rho_c$), foi observado um incremento em ρ_c quando do uso dos diagramas propostos,

indicando mais alta concordância entre valores estimados e reais. O valor médio de ρc nas avaliações sem auxílio foi de 0,61 e 0,43, para os grupos linear e exponencial, respectivamente; já com o uso do diagrama P&B, o ρc médio foi de 0,87 e 0,78 e com o diagrama colorido, o ρc médio foi de 0,87 e 0,84, para esses respectivos grupos.

De modo geral, houve maior variabilidade nos valores de ρc entre os avaliadores do grupo exponencial, indiferente se sem ou com auxílio, sendo que os valores de ρc foram inferiores a 0,4 para cinco avaliadores (Figura 23). Quando no uso dos auxílios, apenas um dos avaliadores (avaliador N, grupo exponencial) apresentou decréscimo no valor de ρc comparado as estimativas sem auxílio, enquanto que os demais apresentaram incremento de ρc .

Os valores dos coeficientes de correlação (r), indicativo da precisão das estimativas, variaram de 0,62 (avaliador L) a 0,93 (avaliador E). Houve um aumento geral da precisão das estimativas com a utilização dos diagramas, pois, quando sem auxílio, a maioria dos valores de r foi menor do que com o auxílio dos diagramas propostos – principalmente para o grupo de avaliadores que utilizou os diagramas com incremento exponencial. No entanto, o menor valor de r observado no estudo, 0,62, foi para o avaliador L, do grupo Exponencial, quando esse utilizou o diagrama P&B.

Em se tratando dos parâmetros u e v , indicativos de mudança de posição da reta (valor ideal é igual a 0) e de mudanças de escala (valor ideal é igual a 1), respectivamente, se verificou uma maior aproximação desses valores dos valores ideais com a utilização dos diagramas, principalmente para o grupo Exponencial de validação (Figura 23).

O valor médio de u nas avaliações sem o auxílio foi de 0,61 e 1,31, para os grupos Linear e Exponencial, respectivamente; já com o uso do diagrama P&B o u médio foi de 0 e -0,15, enquanto que com o uso do diagrama Cores o u médio foi de 0,15 e 0, para esses respectivos grupos. Com relação ao valor médio de v , sem o auxílio, esse foi de 1,57 e 2,24 para os grupos Linear e Exponencial, respectivamente; com os diagramas, as médias foram de 1 para ambas representações (P&B e Cores) para o grupo Linear, enquanto que para o grupo Exponencial foi de 1,09 e 1,05 para P&B e Cores, respectivamente.

Observando-se os valores por avaliador do parâmetro u (Figura 23) constata-se que sem o auxílio dos diagramas propostos os avaliadores do grupo Linear superestimaram mais dos que os avaliadores do grupo Exponencial. Essas superestimativas, para alguns avaliadores (A, B, K, M, O e P), foram mais acentuadas quanto maiores foram os valores de severidade real das folhas apresentadas na primeira avaliação sem auxílio – como mostra o parâmetro v que para esses casos foi maior que 1.

Dentre os parâmetros avaliados na análise de concordância das estimativas (Figuras 23) não há uma distinção evidente entre as estimativas pelos diagramas P&B e Cores, em nenhum dos grupos (linear e exponencial). Tratando-se exclusivamente dos valores de ρ_c , a comparação do valor médio de ρ_c mostrou haver diferença nos valores de ρ_c das estimativas sem auxílio com relação a cada diagrama (P&B e Cores), dentro de cada grupo (linear e exponencial); no entanto, os valores médios de ρ_c não diferiram quando na utilização dos diagramas propostos, independente do tipo de incremento ou cor.

Segundo Madden *et al.* (2007) o CCC é uma métrica apropriada para análise de concordância (Lin's CCC, 1989) e de mais simples interpretação por considerar acurácia e precisão em um único coeficiente (ρ_c), enquanto que a regressão linear pode induzir a rejeição de modelos de regressão pertinentes devido a incongruências que podem ocorrer em algumas situações pela análise separada da significância dos parâmetros da acurácia (a e b) e precisão (R^2). Até o momento, foram poucos e recentes os trabalhos que utilizaram o CCC de Lin no processo de validação de diagramas (Nita *et al.*, 2003; Bock *et al.*, 2010; Spolti *et al.*, 2011; Capucho *et al.*, 2011).

Com o uso dos diagramas, a análise mostrou aumento da acurácia e precisão das estimativas tanto na análise dos parâmetros da regressão como nos componentes do CCC, para todos os avaliadores em ambas as representações P&B e Cores.

Com relação aos valores observados de ρ_c , observou-se maior concordância das estimativas com os valores reais, para todos os avaliadores. Outros trabalhos que utilizaram o CCC para a verificação da concordância obtiveram resultados similares. Capucho *et al.* (2011), em trabalho propondo diagramas para a avaliação da severidade de ferrugem em café, observou um incremento no valor absoluto de ρ_c de 0,32 (0,76-0,44) para um mesmo avaliador; enquanto que Spolti *et al.* (2011), trabalhando com fuligem e sujeira de mosca em frutos de macieira, observou incrementos de 0,34 (0,99 - 0,65). Já no presente trabalho, o maior incremento de ρ_c para um mesmo avaliador foi observado para o avaliador L, que variou de 0,15 (sem auxílio) a 0,72 (Cores), ou seja, 0,57 de incremento absoluto no valor de ρ_c , maior do que nos trabalhos citados anteriormente, indicando maior impacto do diagrama para esse avaliador.

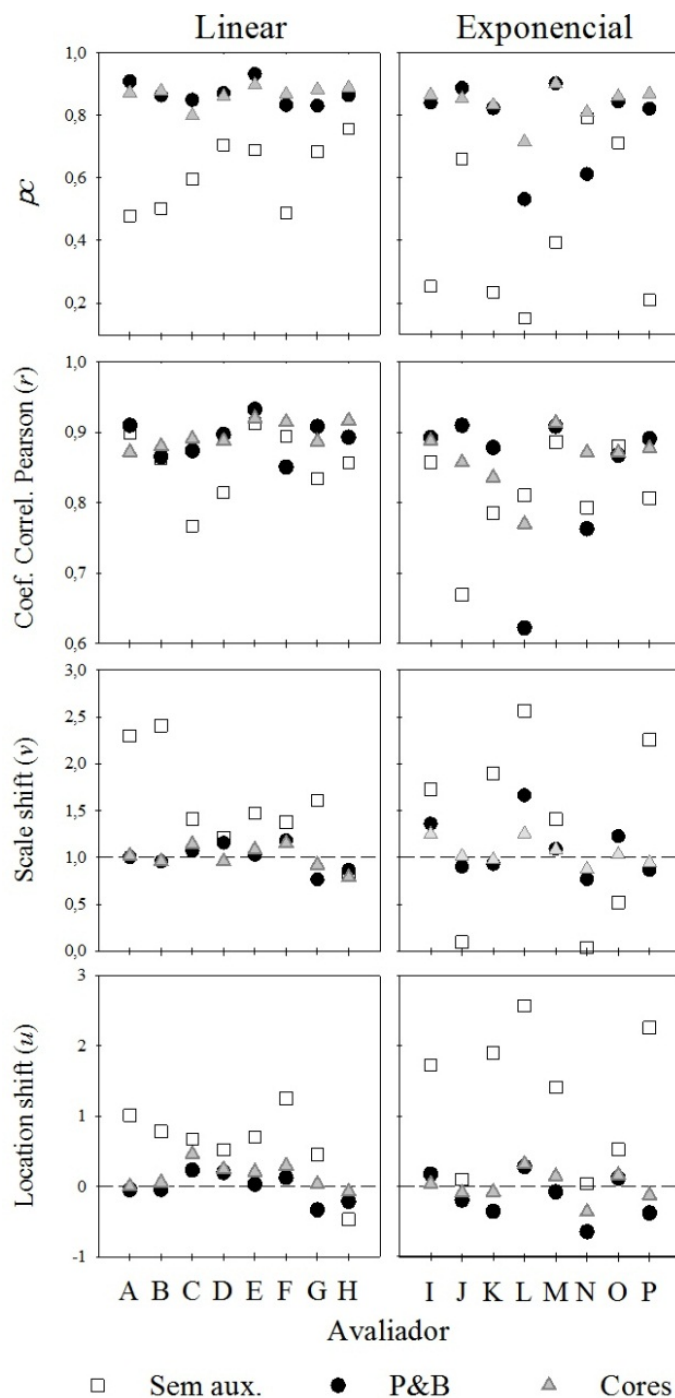


FIGURA 23. Parâmetros da análise do coeficiente de correlação de concordância (Lin's CCC) entre valores de severidade real de mancha parda em 50 folhas de arroz determinada por análise digital e valores estimados sem ou com auxílio de diagramas para dois grupos de avaliadores que estimaram a severidade usando um diagrama com incremento linear ou exponencial, representados em desenhos em preto e branco (P&B) ou em folhas reais (Cores). ρ_c = coeficiente de correlação de concordância ($\rho_c = r.Cb$), r = coeficiente de correlação de Pearson, indicador de precisão; v (scale shift) e u (location shift) são componentes de Cb , indicador de acurácia.

4.3.1.1.3 Análise de resíduos das estimativas

A tendência de superestimativa da severidade pode ser mais facilmente visualizada em gráficos de frequência (%) dos desvios considerando todos os avaliadores (Figura 24), onde fica evidente que alguns avaliadores superestimaram a severidade quando sem auxílio. Para o grupo Exponencial houve desvios positivos de até 80% acima do valor real de severidade na ausência do auxílio do diagrama; enquanto que para o grupo Linear, os desvios chegaram a 50% acima do valor real, quando sem o auxílio. Quando utilizando-se dos diagramas como auxílio, não se observou distinção aparente no padrão de desvios nas estimativas independente do incremento nos níveis de severidade ou coloração de representação do diagrama.

A distribuição dos desvios pode ser também avaliada em função dos níveis de severidade (Figura 25). Observa-se que, sobretudo nos valores baixos de severidade, houve uma tendência de maior superestimação da severidade para as duas representações dos diagramas com incremento linear (principalmente para a representação Cores), bem como para a representação Cores do diagrama com incremento exponencial. Para as estimativas feitas com o auxílio do diagrama exponencial P&B, independente do valor de severidade da imagem avaliada, houve uma distribuição aleatória dos resíduos ao redor do valor zero ao longo do intervalo de severidade; o que não ocorreu para os demais diagramas avaliados.

Nascimento *et al.* (2005), em validação de diagrama para a avaliação de severidade cancro bacteriano em videira, cujas lesões se apresentam de forma agregada em grandes áreas necrosadas, relatou que, sem a utilização de um diagrama, houve uma tendência geral de superestimação entre os avaliadores, com superestimativas superiores a 70% (observado menos o real) para alguns casos. No entanto, a superestimação foi minimizada com o auxílio do diagrama, com os valores

máximos de desvios positivos e negativos ao redor de 20%, de forma similar ao observado no presente estudo.

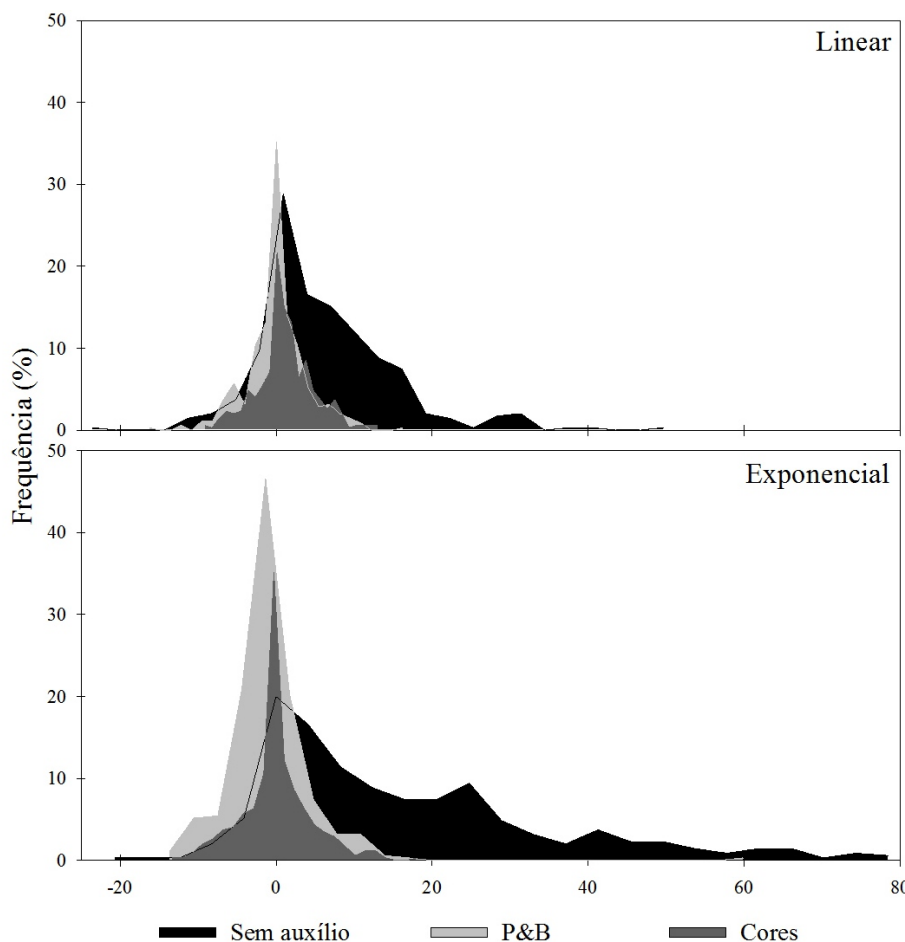


FIGURA 24. Gráficos de área para frequência dos desvios (severidade estimada subtraída da severidade real) sem auxílio e com auxílio de um diagrama de severidade de mancha parda em preto e branco (P&B) ou em cores, na primeira avaliação de um grupo de oito avaliadores usando um diagrama com incremento aproximadamente linear de severidade e oito um diagrama com incremento exponencial de severidade.

As diferenças em função da coloração de representação (P&B ou Cores) foram insignificantes, tanto para o grupo Linear quanto para o Exponencial. Houve muita variação para os valores de ρ_c entre os avaliadores, não permitindo inferir sobre a real superioridade de uma representação sobre a outra. No entanto, com base

na regressão linear, foi observado um maior número de significâncias para os parâmetros a e b observadas para o diagrama Cores no grupo Linear, indicando estimativas menos acuradas com esse diagrama em relação à representação P&B.

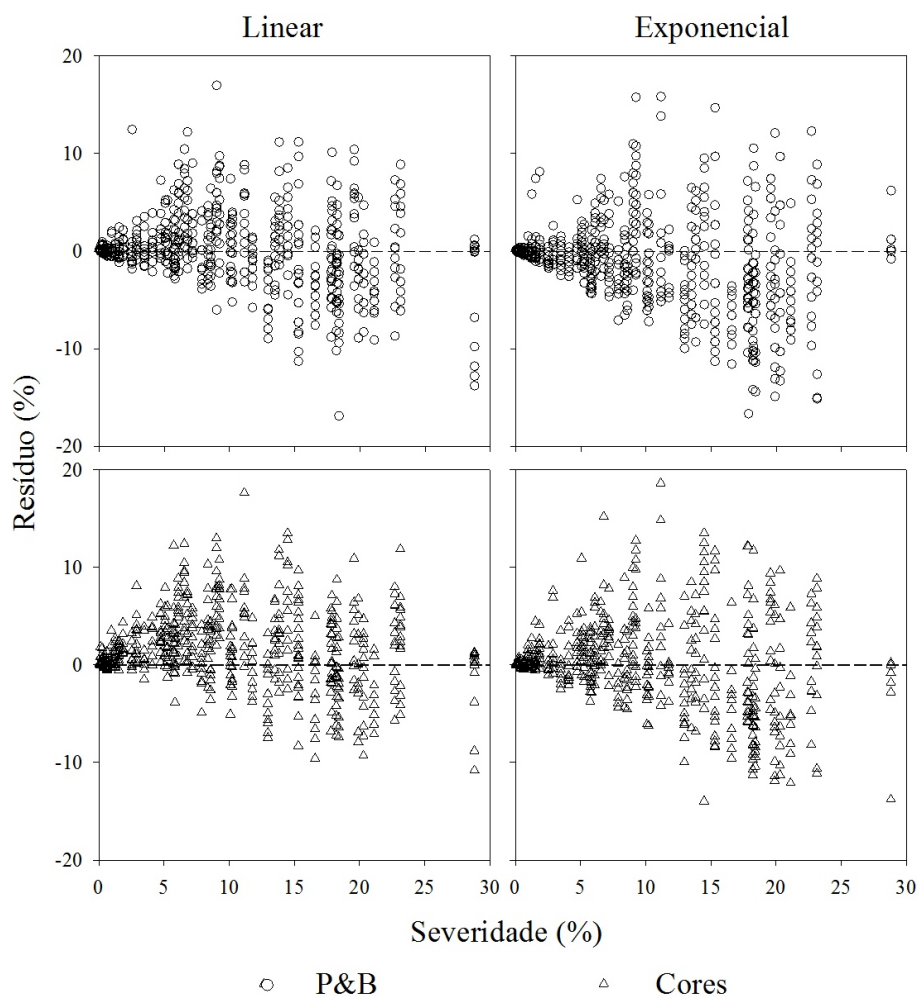


FIGURA 25. Resíduos (estimado – real) em estimativas visuais de severidade da mancha parda do arroz tendo como auxílio quatro diferentes diagramas validados com dois grupos de avaliadores.

Em trabalho anterior, Angelotti *et al.*, (2008) mostrou diferença nas respostas de avaliadores de acordo com a coloração do diagrama (em P&B ou em Cores), para avaliação da severidade de ferrugem da videira, sendo que o uso do diagrama em cores proporcionou melhor acurácia e precisão nas estimativas, com base nos

parâmetros regressão linear entre os valores estimados e reais e pela análise da reprodutibilidade das estimativas. É possível que essas variações sejam função da qualidade dos diagramas quanto à representação, bem como do estímulo em patossistemas onde há variação de cores nas lesões ou presença de halos que podem melhor representar a severidade.

A análise dos desvios, no entanto, sugere certa superioridade na qualidade do auxílio proporcionado pelo diagrama com incremento Exponencial na versão P&B. Para os valores baixos de severidade, a distribuição dos desvios tendeu a maior similaridade no número de desvios negativos e positivos do que para os demais diagramas – nos quais as superestimativas para baixa severidade é que predominam. Este aspecto é de relevância uma vez que há uma predominância de valores de severidade (<5%) nas folhas amostradas para o presente estudo, bem como em dados de severidade da mancha parda publicados em estudos feitos na região (Silva Filho *et al.*, 2009).

É possível que a superioridade dos diagramas com incremento exponencial em relação ao linear se dê pelo fato de se ter maior número de representações (cinco das sete representações) entre a severidade mínima (0,1%) até a severidade de 6,5%, enquanto que para o diagrama de incremento linear são apenas três representações. Segundo Bock *et al.* (2008), trabalhando com características relacionadas a percepção na avaliação da severidade, tomando o cancro cítrico como estudo de caso, apontou que os maiores erros relativos (percentual do observado em relação ao real) ocorrem justamente nos valores mais baixos de severidade, o que indica a necessidade de se ter maior número de representações nessa faixa.

4.3.2 Repetibilidade ou confiabilidade intra-avaliador

A média geral para os avaliadores e a variação nos coeficientes de correlação de Pearson (r) entre valores estimados na primeira e na segunda avaliação de um mesmo avaliador podem ser observados na Figura 26. De maneira geral, uma melhor repetibilidade foi observada com o uso dos diagramas linear, indicada pelo maior valor médio do coeficiente de correlação, 0,92 para a primeira e segunda avaliação, para os diagramas em P&B e em Cores, respectivamente. Já para o grupo exponencial esses valores foram de 0,84 e 0,86 (Figura 26). A variação entre os valores de r também foi menor entre os avaliadores que utilizaram o diagrama linear. Em um estudo de validação de diagramas para estimativas de severidade da cercosporiose em alface e da antracnose em bastão do imperador, Gomes *et al.* (2004) e Barguil *et al.* (2008) apontaram médias de valor de r de 0,85 e 0,95, respectivamente, apontando boa repetibilidade nas estimativas. Tais valores são similares aos valores observados nesse trabalho para o grupo exponencial e linear, respectivamente.

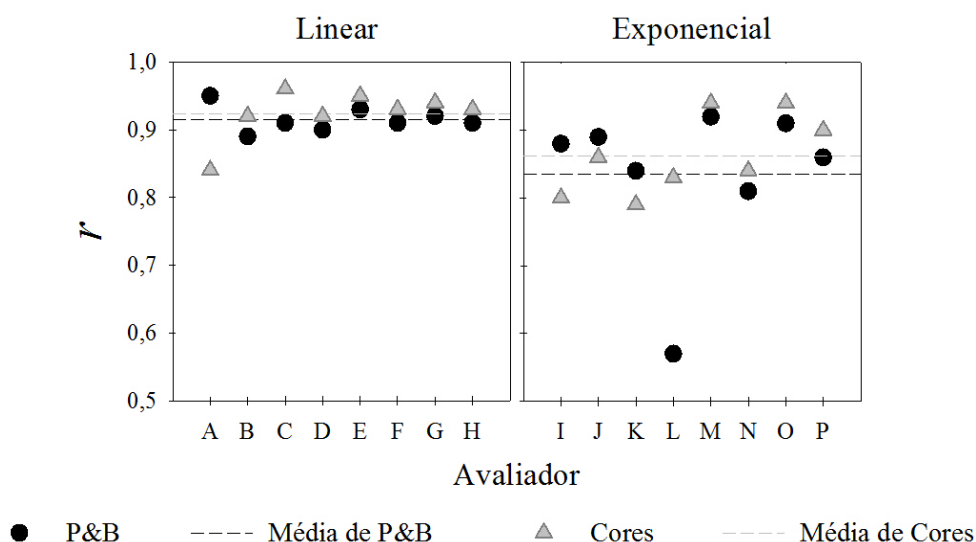


FIGURA 26. Coeficiente de correlação de Pearson (r) da relação entre a primeira e segunda avaliação para cada avaliador que estimou a severidade com auxílio de um diagrama com fotos coloridas (Cores) de folhas e outro um desenho em preto e branco (P&B).

4.3.3 Reprodutibilidade ou confiabilidade interavaliador

O uso dos diagramas resultou em maior reprodutibilidade das estimativas para o conjunto de avaliadores, comparado à estimativas sem auxílio. Na primeira avaliação, para o grupo linear, os valores médios do coeficiente de correlação de Pearson (r) gerados pelo confronto das estimativas para cada par de avaliadores, aumentaram de 0,82, sem auxílio, para 0,88 e 0,91 quando com o auxílio dos diagramas P&B e Cores, respectivamente. Já no grupo Exponencial o coeficiente incrementou de 0,75 (sem auxílio) para 0,77 e 0,84, quando se utilizou os diagramas P&B e Cores, respectivamente (Figura 27). Para o grupo linear, com o auxílio do diagrama Cores, observou-se que 85% dos avaliadores tiveram valor de r maior que 0,9, enquanto que para o grupo exponencial, nesse mesmo diagrama, apenas um avaliador obteve r maior que 0,9. Observou-se também que os valores de r , além de mais baixos, apresentaram maior variação no grupo Exponencial para todos os casos em comparação aos mesmos tipos de auxílio do grupo Linear – indicando uma menor confiabilidade inter-avaliador no grupo exponencial.

Na segunda avaliação, os valores de r , tanto os valores médios como a variação entre valores, foram similares aos valores gerados na primeira avaliação. No entanto, houve aumento do valor médio de r , além da diminuição da variação dos valores, em ambos os grupos de avaliadores, Linear e Exponencial, durante a segunda avaliação, em relação à primeira.

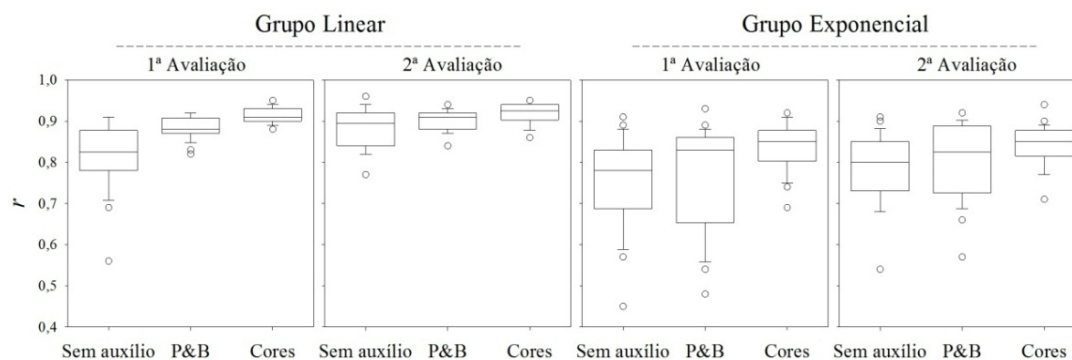


FIGURA 27. Coeficiente de correlação de Pearson (r), gerados pelo confronto entre todos os avaliadores, de um mesmo grupo (Linear ou Exponencial) que utilizaram os diagramas com incremento linear (P&B e Cores) para as duas avaliações.

Tanto para a reprodutibilidade como para a repetibilidade, os valores médios foram um pouco superiores para a representação em Cores, o que ter ocorrido em função do treinamento prévio dos avaliadores que é inerente ao processo de validação (Madden *et al.*, 2007), já que no presente estudo, o mesmo grupo quando usando o auxílio, avaliou primeiro com o diagrama em P&B e, logo imediatamente, com o diagrama em Cores.

Barguil *et al.* (2008), em um estudo de validação de um diagrama para a avaliação da severidade de antracnose em bastão do imperador, relatou que, sem auxílio, apenas 7% dos avaliadores obtiveram valores de r maiores que 0,9, sendo que esse percentual aumentou para 76% quando houve auxílio. Já no trabalho de Capucho *et al.* (2011) esse incremento foi de 35 para 90% dos casos, sem e com auxílio, respectivamente. Incrementos similares, entre os avaliadores, foram observados para o grupo Linear no presente estudo.

Os diagramas propostos para quantificação da severidade da mancha parda em arroz proporcionaram melhoria significativa nos níveis de acurácia, precisão e reprodutibilidade das estimativas. Portanto, podem ser utilizados em estudos

epidemiológicos e de comparação de medidas de controle da doença. A análise geral de todas as características avaliadas, indica que as estimativas feitas pelos avaliadores usando um diagrama com incremento exponencial na versão P&B, pode ser o mais indicado, à medida que é mais representativa para valores baixos de severidade (menores que 5%), ou seja, maior número de representações, justamente onde ocorrerem os maiores desvios, normalmente positivos (Bock *et al.*, 2008). Além disso, os diagramas em P&B induziram a menor superestimação do que o diagrama Cores.

5 CONCLUSÕES

1. O inóculo de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz irrigado afeta o estabelecimento inicial da cultura pela redução do estande de plântulas.

2. A incidência de mancha parda nas folhas é influenciado pelo nível de incidência do patógeno na semente em anos com precipitação e temperatura acima da normal climatológica.

3. A severidade foliar da mancha parda, produtividade e incidência de *B. oryzae* nos grãos colhidos não são influenciados pela incidência do fungo na semente.

4. A distribuição espacial de lesões no limbo foliar segue um padrão predominante aleatório, com tendência a agregação em valores mais altos de severidade, possivelmente relacionada com eventos policíclicos.

5. Escalas diagramáticas auxiliam avaliadores inexperientes levando a melhora da qualidade de estimativas de severidade em relação à acurácia, repetibilidade e reprodutibilidade das estimativas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL FATTAH, G. M. et al. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. **Mycopathologia**, Den Haag, v.164, p. 81–89, 2007.
- AHN, I. P.; SUH, S. C. Calcium/calmodulin-dependent signaling for prepenetration development in *Cochliobolus miyabeanus* infect in rice. **Journal of General Plant Pathology**, Japan, v. 173, p. 113-120, 2007.
- ALMAGUER, M. et al. Airborne fungal succession in a rice field of Cuba. **European Journal of Phytopathology**, Dordrecht, v. 132, p. 1-10, 2011.
- ANGELOTTI, F. et al. Diagrammatic scale for assessment of grapevine rust. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 439-443, 2008.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis Biociências, 1998. 114p.
- BADE, C. I. A.; CARMONA, M. A. Comparison of methods to assess severity of common rust caused by *Puccinia sorghi* in maize. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 264-266, 2011.
- BALARDIN, R. S. Controle de doenças na cultura do arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1999, Pelotas. **Anais**. Pelotas, 1999. v.1, p. 396-398.
- BARGUIL, B. M. et al. Escala diagramática para avaliação da severidade da antracnose em bastão do imperador. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 807-810, 2008.
- BAYER, T. M. et al. Frequência de patógenos identificados em sementes de arroz (*Oryzae sativa*) no ano de 2004, na clínica fitossanitária. CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4., 2005, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria, 2005. p. 520-521.
- BEDENDO, I. P.; PRABHU, A. S. Doenças do arroz. In: KIMATI, K. et al. **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 79-90.
- BELASQUE JUNIOR, J. et al. Escalas diagramáticas para avaliação da severidade do cancro cítrico. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 30, n. 4, p. 387-393, 2005.

BERTOLDO, J. G. et al. Problemas relacionados com o uso de testes de comparação de médias em artigos científicos. **Biotemas**, Florianópolis, v. 21, n. 2, p. 145-153, 2008.

BEZERRA NETO, F.; NUNES, G. H. S.; NEGREIROS, M. Z. Avaliação de procedimentos de comparações múltiplas em trabalhos publicados na revista Horticultura Brasileira de 1.983 a 2.000. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 5-9, 2002.

BOCK, C. H. et al. Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 29, n. 2, p. 59-107, 2010.

BOCK, C. H. et al. The distribution of peach scab lesions on the surface of diseased peaches. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 130, p. 393-402, 2011.

BOCK, C.H. et al. Characteristics of the perception of different severity measures of citrus canker and the relations between the various symptom types. **Plant Disease**, Sant Paul, v. 92, p.927-939, 2008.

CAMOCHENA, R. C.; SANTOS, I.; MAZARO, S. M. Escala diagramática para avaliação da severidade da Mancha Ocular em milho causada por *Kabatiella zeae*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2124-2131, 2008.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 532p, 1990.

CAPUCHO, A. S. et al. Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 60, n. 6, p. 1144-1150, 2011.

CARMONA, R. C. et al. Influência de cultivares, densidades de semeadura e doses de nitrogênio na produção integrada de arroz e peixes. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 811-814, 2008.

CASTELL-MILLER, C. V.; SAMAC, D. A. Population Genetic Structure of *Cochliobolus miyabeanus* on Cultivated Wild Rice (*Zizania palustris* L.) in Minnesota. In: AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY ANNUAL MEETING, 2009, Portland. [Abstract]. Portland, 2009. p. 101.

CELMER, A. et al. Controle químico de doenças foliares na cultura do arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 901-904, 2007.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT) (1983). **Sistema de evaluación estandar para arroz**. 2ª ed. Cali: CIAT, 1983. 61p.

CERRITO, P. B. From GLM to GLIMMIX: which model to choose. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE SOUTHEAST SAS USERS GROUP, 13., 2005, Portsmouth. [Anais]. Portsmouth, 2005. v. SP10, p. 1-7.

CORRÊA, C. L. **Sobrevivência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz armazenadas sob duas condições ambientais**. 2006. 54f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

COUNCE, P.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v.40, n.2, p. 436-443, 2000.

DALLAGNOL, L. J. et al. Dano das doenças foliares na cultura do arroz irrigado e eficiência de controle dos fungicidas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 313-318, 2006.

DALLAGNOL, L. J. et al. Defective active silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 99, n. 6, p. 116-121, 2009.

DALLAGNOL, L. J.; RODRIGUES, F. A.; DAMATTA, F. M. Brown spot of rice is affected by photon irradiance and temperature. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 159, p. 630-634, 2011.

DALLOT, S. et al. Spatial pattern analysis of Sharka disease (Plum pox virus strain M) in peach orchards of southern France. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 93, p. 1543-1552, 2003.

DESCHAMPS, C. et al. Escala Diagramática para avaliação da severidade da ferrugem de *Mentha arvensis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, p. 82-87, 2008.

DHINGRA, O. D. Teoria da Transmissão de Patógenos Fúngicos por Sementes. In: SEMENTES: qualidade fitossanitária. Visconde de Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2005. p. 75-112.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO RIO GRANDE DO SUL – EMATER/RS. **Sumário de informações**. Disponível em: <<http://www.emater.tche.br/site/br/arquivos/servicos/informativos/sumario2010.pdf>> . Acesso em: 11 jan. 2012.

FARIAS, C. R. J. **Espécies de *Bipolaris* associadas a helmintosporiose do arroz (*Oryza sativa* L.) no sul do Brasil**. 2007, 104 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

FARIAS, C. R. J. et al. Infecção de Sementes de trigo com *Bipolaris sorokiniana* pela técnica de restrição hídrica. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 253-257, 2010.

FARIAS, C. R. J. et al. Qualidade sanitária de arroz de diferentes cultivares oriundas de quatro regiões orizícolas do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4., 2005, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria, 2005. p. 542-544.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) (2003). **Nutricional contribution of rice: impact of biotechnology and biodiversity in rice consuming countries.** Crop and Grassland Service. Roma , Itália, 2003. Disponível em: < <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4751E/y4751e05.htm> >. Acesso em: 19 ago. 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). (2009). **ProdSTAT.** Consumption. TradeSTAT. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 15 jul. 2010.

FRANCO, D. F. et al. Fungos associados a sementes de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, p. 235-236, 2001.

FREITAS, T. F. S. et al. Produtividade de arroz irrigado e eficiência da adubação nitrogenada influenciadas pela época da semeadura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 2397-2405, 2008.

FUNCK, G. R. D.; KEMPF, D. **Doenças do arroz irrigado no Rio Grande do Sul.** Cachoeirinha: IRGA, 2008. 39p. (Boletim Técnico nº5).

GALLI, F. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** São Paulo: Editora Ceres, 1980. v. 2, 587p.

GAZZOLA, R; WANDER, A. E; SOUZA, G. D. S. E. Comércio internacional de arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 6., 2009, Porto Alegre. **Anais.** Porto Alegre, 2009. p. 512.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 63-68, 2006.

GOLDSTEIN, E. B. **Sensation and perception.** 3^a ed. Belmont: Wadsworth Publishing Co. 1989. 22p.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. **Arroz irrigado no sul do Brasil.** Brasília, DF: Embrapa, 2004. 899p.

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

GROHS, D. S. et al. Critérios para o manejo de doenças no arroz irrigado. Cachoeirinha: IRGA, 2010. 36p. (Boletim Técnico nº7)

GROHS, D. S. et al. Efeito do uso de fungicida sobre o rendimento e qualidade dos grãos da cultivar IRGA 424 em diferentes épocas de semeadura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 6., 2009, Porto Alegre. **Anais.** Porto Alegre, 2009. v. 1. p. 381-384.

HORSFALL, J.C.; BARRAT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 35, p. 665, 1945.

IRRI. INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Standard evaluation system for Rice**. Manilla:INGER/Genetic Resources Center, 1996. 52p.

JAMES, W. C. An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage. **Canadian Plant Disease Survey**, Ottawa, v. 51, p. 39-65, 1971.

KAMAL, M. M.; MIA, M. A. T. Diversity and Pathogenicity of the rice brown spot pathogen, *Bipolaris oryzae* (BredadeHaan) Shoemin Bangladesh assessed by genetic finger print analysis. **Bangladesh Journal of Botanic**, Dhaka, v. 38. p. 119-125, 2009.

KOHL, C. L.; PERCICH, J. A; HUOT, C. M. Wild rice losses associated with growth-stage-specific fungal brown spot epidemics. **Plant Disease**, Sant Paul, v.71, p. 419-422, 1987.

KORIE, S. et al. Spatio-temporal associations in beetle and virus count data. **Biological & Environmental Statistics**, Alexandria, v. 5, p. 214-239, 2000.

KUMAR, P.; ANSHU, V.; KUMAR, S. Morpho-pathological and Molecular Characterization of *Bipolaris oryzae* in Rice (*Oryza sativa*). **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 159, p. 51-56, 2010.

LENZ, G. et al. Escala diagramática para avaliação de severidade de mancha-parda em arroz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 752-758, 2010.

LIN, L. I. K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, Washington, v. 45, p. 255–268, 1989.

LUDWIG, J. et al. Microbiolização de sementes para o controle da mancha-parda e da escaudadura em arroz irrigado. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, vol. 34, n. 5, pp. 322-328, 2009.

LÜTZ, G.; SCELZO, A. C.; GROHS, D. S. Efeito do número de aplicações de fungicida sobre o controle de doenças da parte aérea de cultivares de arroz irrigado semeadas em três épocas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 7., 2011, Camboriú. **Anais**. Camburiú, 2011. v. 1. p. 595-598

MACHADO, J. C.; POZZA, E. A. Razões e procedimentos para o estabelecimento de padrões de tolerância a patógenos em sementes. In: SEMENTES: Qualidade Fitossanitária. Visconde De Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2005. p. 375-398.

MACIEL, J. I. N. et al. Danos causados por doenças fúngicas em cultivares de arroz irrigado em função da época de semeadura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4., 2005, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria, 2005. p. 500-501.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; Van den BOSCH, F. **The study of plant disease epidemics**. St. Paul: American Phytopathological Society, 2007. 421p.

MALAVOLTA, V. M. A. et al. Efeito de diferentes níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz sobre aspectos fisiológicos, transmissão do patógeno às plântulas e produção. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 28, n. 4, p. 337-341, 2002.

MALAVOLTA, V. M. A. et al. Incidência de fungos e quantificação de danos em sementes de genótipos de arroz. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 33, n. 3, p. 280-286, 2007.

MANZONI, C. G. et al. Diferentes meios de cultura na produção de esporos de *Bipolaris oryzae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 42., 2009, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro, 2009. p. 171.

MAPA - MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. BRASIL. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009.

MARIOT, C. H. P. et al. Resposta de duas cultivares de arroz irrigado à densidade de semeadura e à adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 233-241, 2003.

MARTINS, M. C. et al. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 179-84, 2004.

MCCULLAGH, P.; NELDER, J. A. **Generalized linear models**. 2ª ed. Londres: Chapman and Hall, 1989. 511p.

MCGEE, D. C. Epidemiological approach to disease management through seed technology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 445-466, 1995.

MEW, T. W.; GONZALES, P. **A handbook of rice seedborne fungi**. Los Baños, Laguna: International Rice Research Institute/Science Publishers, 2002. 83p.

MICHEREFF, S. J. et al. Diagrammatic scale to assess downy mildew severity in melon. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 76-79, 2009.

MOLETTI, M.; GIUDICI M. L.; VILLA, B. Rice Akiochi-brown spot disease in Italy: agronomic and chemical control. **Cahiers Options Méditerranéennes**, Montpellier, v.15, n. 3, p. 79-85, 1997.

NAKAMURA, A. M.; SADER, R. Efeito da infecção por fungos na germinação e vigor de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.8, n.1, p.101-111, 1986.

NASCIMENTO, A. R. P. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 31, p. 59-64, 2005.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. Londres: Mac Millan Press Ltd, 1979. 839p.

NILSSON, H. E. Remote sensing and image analysis methods in phytopathometry. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 17, p. 154-166, 1995.

NITA, M.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V. Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 93, p. 995-1005, 2003.

NORONHA, M. A. **Escala diagramática para avaliação da mancha preta em folhas de citros e efeito de temperatura e da duração do molhamento na pré-penetração de conídios de Guignardia citricarpa Kiely**. 2002, 79f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2002.

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, n. 1, p.174-184, 1995.

NUTTER, F. W. JR. & ESKER, P. D. The role of psychophysics in phytopathology: the Weber-Fechner law revisited. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 114, p. 199-213, 2006.

NUTTER, F W. JR. et al. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability and inter-rater reliability of disease assessment systems. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 83, p. 806-812, 1993.

OCFEMIA, G. O. The Helminthosporium disease of rice occurring in the Southern United States and in the Philippines. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 11, p. 385-408, 1924.

O'DONOVAN, J. T. et al. Seeding Rate, Nitrogen Rate, and Cultivar Effects on Malting Barley Production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 103, n. 3, p. 709-716, 2011.

OJEDA, A. H.; SUBERO, L. J. Crecimiento y esporulación de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Schoem., en diferentes medios de cultivo, condiciones de luz y temperatura. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracay, v. 32, p. 145-154, 2006.

OJIAMBO, P. S.; SCHERM, H. Optimum sample size for determining disease severity and defoliation associated with *Septoria* leaf spot of blueberry. **Plant Disease**, Sant Paul, v. 90, p.1209-1213, 2006.

OTTONI, G. et al. Eficiência de fungicidas no controle de mancha parda (*Bipolaris oryzae*) em arroz (*Oryza sativa*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 2, p. 59-62, 2000.

OU, S. H. **Rice Diseases**. 2^a ed. Kew: Commonwealth Agricultural Bureau. 1985. 380p.

PADMANABHAN, S.Y. The Great Bengal famine. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 11. p. 11-26, 1973.

PADWICK, G.W. **Manual of rice diseases**. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 1950. 198p.

PEDROSO, C. A. et al. Development and validation of a diagrammatic scale for estimation of anthracnose on sweet-pepper fruits for epidemiological studies. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 93, n.1, p. 219-225, 2011.

PERCICH, J. A. et al. Interaction of temperature and moisture on infection of wild rice by *Bipolaris oryzae* in the growth chamber. **Plant Disease**, Sant Paul, v. 81, p. 1193-1195, 1997.

PERRY, J. N. Measures of spatial pattern for counts. **Ecology**, Tempe, v. 79, p. 1008-1017, 1998.

PERRY, J. N. Spatial analysis by distances indices. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 64, p. 303-314, 1995.

PICCO, A. M.; RODOLFI, M. *Pyricularia grisea* and *Bipolaris oryzae*: a preliminary study on the occurrence of airborne spores in a rice field. **Aerobiologia**, Dordrecht, v. 18, p. 163-167, 2002.

PIRES, P. C.; FERNANDES, J. M. C.; NICOLAU, M. Modelagem do progresso temporal e do padrão espacial de lesões de ferrugem da folha em trigo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 2, p. 97-107, 2009.

PRABHU, A. S.; VIEIRA, N.R.A. Sementes de arroz infectadas por *Drechslera oryzae*: germinação, transmissão e controle. Goiânia: Embrapa CNPAF, 1989. 40p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento n°7)

ROUSE, D I; NELSON, R. R.; MACKENZIE, D. R. A stochastic model of horizontal resistance based on frequency distributions. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 70, p. 951-954, 1980.

SALGADO, M. et al. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha de *Phoma* do cafeeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 6, p.422-427, 2009.

SANTOS, A. B. & COSTA, J. D. Comportamento de variedades de arroz de sequeiro em diferentes populações de plantas, com ou sem irrigação suplementar. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 1-8, 1995.

SANTOS, G. R. et al. Efeito da aplicação de fungicidas sobre o controle das principais doenças e produtividade do arroz irrigado e de terras altas. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 26, n. 1, p. 44-50, 2005.

SANTOS, G. R.; CARVALHO, E. M.; PELÚZIO, J. M. Reação de linhagens e cultivares de arroz a mancha dos grãos, mancha-parda e brusone, em condições de campo, no Estado do Tocantins. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 47, p. 125-33, 2000.

SANTOS, P. G. et al. Efeito do espaçamento e densidade de semeadura sobre a produção de arroz de terras altas irrigado por aspersão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 3, 2002. p. 480-487.

SANTOS, W. F. et al. Elaboration and validation of a diagrammatic scale for epidemiological studies of cercospora leaf spot of castor bean. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 158, p. 403-408, 2010.

SAS. (2006). SAS Institute. **The Glimmix Procedure**: SAS Publishing, 2006.

SCHICKLI, L. M.; PERCICH, J. A. Early infection events of *Bipolaris oryzae* on wild rice. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 74, p. 884-885, 1984.

SCHMALE, D. G.; SHAH, D. A.; BERGSTROM, G. C. Spatial patterns of viable spore deposition of *Gibberella zeae* in wheat fields. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 95, p. 472-479, 2005.

SHAH, D. A.; BERGSTROM, G. C. A rainfall-based model for predicting the incidence of wheat seed infection by *Stagonospora nodorum* in New York. **Phytopathology**, Sant Paul, v.92, p. 511-518, 2002.

SHAH, D. A.; BERGSTROM, G. C. Temperature dependent seed transmission of *Stagonospora nodorum* in wheat. **European Journal of Phytopathology**, Dordrecht, v. 106, p. 837-842, 2000.

SILVA FILHO, C. F. A. B. E. et al. Revisão quantitativa de ensaios de fungicidas na cultura do arroz irrigado em 10 anos de pesquisa do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 6., 2009, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre, 2009. p. 400-403.

SOAVE J. et al. Etiologia de manchas de sementes de cultivares de arroz de sequeiro no Centro-Oeste Brasileiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 23, p. 122-127, 1997.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves: SOSBAI, 2010, 188p.

SOUZA, M. V. et al. Isolamento e detecção do vírus causador do enrolamento do arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4., 2005, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria, 2005. p. 455-457.

SOUZA, R. O. et al. Densidade de semeadura e espaçamento entre linhas para arroz irrigado no sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, v. 1, p.69-74, 1995.

SPOLTI, P. et al. Improving sooty blotch and flyspeck severity estimation on apple fruit with the aid of a diagrammatic scale. **European Journal of Phytopathology**, Dordrecht, v. 129, p. 21-29, 2011.

SPÓSITO, M. B. et al. Elaboração e Validação de Escala Diagramática para Avaliação da Severidade da Mancha Preta em Frutos Cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 81-85, 2004.

SPÓSITO, M. B. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 81-85, 2004.

STEINMETZ, S.; BRAGA, H. J. Zoneamento de arroz irrigado por épocas de semeadura nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.9, n.3, p.429-438, 2001. Número Especial – Zoneamento Agrícola.

STROUP, W. W.; MULITZE, D. K. Nearest neighbour adjusted best linear unbiased prediction. **American Statistician**, Washington, v. 45, p. 194-200, 1991.

TUCKER, C. C.; CHAKRABORTY, S. Quantitative assessment of lesion characteristics and disease severity using digital image processing. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 145, p. 273-278, 1997.

TULLIS, E. C. Histological studies of rice leaves infected with *Helminthosporium oryzae*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 50, p. 82-90, 1935.

TURECHEK, W. W.; MADDEN, L. V. Analysis of the association between the incidence of two spatially aggregated foliar diseases of strawberry. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 90, p. 157-170, 2000.

VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W.C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. 531p.

VAN NGHIEP, H.; GAUR, A. Efficacy of seed treatment in improving seed quality in rice (*Oryza sativa* L.). **Omonrice**, Cantho City, Vietnam, v. 13, p. 42-51, 2005.

VAN NGHIEP, H.; GAUR, A. Role of *Bipolaris oryzae* in producing abnormal seedling of rice (*Oryza sativa*). **Omonrice**, Cantho City, Vietnam, v. 12, p. 102-108, 2004.

WAGGONER, P. E.; RICH, S. Lesion distribution, multiple infection, and the increase of plant disease. **Proceedings of National Academy of Science USA**, Washington, v. 78, p. 8292-8295, 1981. (Número Especial – Applied Mathematics.)

WEBSTER, R. K.; GUNNELL, P. S. **Compendium of rice diseases**. Saint Paul: APS Press. 1992. 62p.

WU, G.; WILSON, L. T.; McLUNG, A. M. Contribution of rice tillers to dry matter accumulation and yield. **Agronomy Journal**, Madison, v. 90, n.3, p.317-323, 1998.

XIAO, J. Z. et al. Phytotoxins produced by germinating spores of *Bipolaris oryzae*. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 80, p. 58-64, 1991.

ZAMBOLIN, L.; SOUZA, A. F.; BARBOSA, J. C. Controle integrado de doenças fúngicas da parte aérea das plantas, visando a redução na transmissão por semente. In: LAÉRCIO ZAMBOLIN. (Org.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Visconde De Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2005. p. 215-266.

ZANÃO JÚNIOR, L. A. et al. Rice Resistance to Brown Spot Mediated by Silicon and its Interaction with Manganese. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 157. pp. 73–78, 2009.

ZANÃO JÚNIOR, L. A. **Resistência do arroz à mancha-parda mediada por silício e manganês**. 2007. 125f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.