



Quality of phytopathometric variables generated from a ranking scale for the CABMV-passionfruit pathosystem¹

Qualidade de variáveis fitopatômétricas geradas a partir de escala de notas para o patossistema CABMV – maracujazeiro ‘amarelo’

Antonio Carlos Mota Porto^{2*}, Mariana de Lima Santos³, Antonio Carlos de Oliveira⁴

Abstract: The Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is one of the most important pathogenic agents in passionfruit culture, causing extensive loss throughout the national territory. Efficient quantification of disease symptoms is highly dependent on the methodology used, and is directly related to the quality of data generated for later manipulation and analysis. Thus, our objective was to evaluate different methods of using the data collected using a scale based on quality of the generated variables, using statistical parameters. Assumptions of additivity, homoscedasticity and normality of the errors in parametric analysis were tested. Experimental quality, for each phytopathometric variable (PV) was tested for calculated F (Fc), coefficient of determination (R^2) and coefficient of variation (CV%). Four different PVs were generated through a ranking scale: AUDPC-III, AUDPC-GS, III and GS. All variables met the assumptions for analysis of variance, with AUDPC-III and III PVs having slightly higher values in terms of adherence to normality, and AUDPC-GS and GS PVs having slightly higher values in terms of significance for additivity and homoscedasticity. AUDPC-III and III had the highest calculated R^2 and F values, and the highest coefficients of variation. We recorded the inverse for AUDPC-GS and GS, with lower coefficients of variation and higher R^2 and F values. A lower correlation, though still significant, was observed between AUDPC-GS and AUDPC-III, while a higher correlation was recorded between III and GS. Overall the PVs III and AUDPC-III systems were the best for use in the analyzes of the studied pathosystem.

Key words: AUDPC. Biometrics. Passiflora.

Resumo: O Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV), responsável pelo endurecimento dos frutos do maracujazeiro, é um dos mais importantes agentes patogênicos na passicultura, pois causa grandes perdas em todo território nacional. A eficiência na quantificação dos sintomas foliares da doença é altamente dependente da metodologia empregada, que tem relação direta com a qualidade dos dados gerados para posterior manipulação e análise dos dados. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar, com base em parâmetros estatísticos, variáveis fitopatômétricas geradas a partir da coleta de dados de escala de notas de severidade. Foram testados os pressupostos de aditividade, homocedasticidade e normalidade dos erros para análise paramétrica. A qualidade experimental, para cada variável fitopatômétrica (VF), foi testada via F calculado (Fc), coeficiente de determinação (R^2) e coeficiente de variação (CV%). Foram geradas quatro diferentes VFs via de escala de notas: AACPD-III, AACPD-GS, III e GS. Todas as variáveis obtiveram os pressupostos para análise de variância com um pequeno ganho para as VFs AACPD-III e III quanto a aderência à normalidade dos erros. As VFs AACPD-GS e GS obtiveram pequeno ganho na significância quanto à aditividade e homocedasticidade. AACPD-III e III apresentaram melhores valores R^2 e F calculado, obtendo os maiores coeficientes de variação. Observou-se o inverso para as AACPD-GS e GS, com menores coeficientes de variação e maiores R^2 e Fc. Foi possível observar menor correlação, ainda que significativa, entre AACPD-GS e AACPD-III; e maior correlação entre III e GS. As VFs III e AACPD-III se mostraram melhores para utilização nas análises para o patossistema estudado.

Palavras-chave: AACPD. Biometria. Passiflora.

*Corresponding author

Sent for publication in 05/04/2017 and approved in 23/10/2017

¹Part project of scientific initiation promoted to the first author by CNPq (Process # 119116 / 2014-6) while graduating from the State University of Southwest of Bahia, under the guidance of the third author;

²Master's Degree student in Genetics and Plant Breeding, Department of Biology, Federal University of Lavras - UFLA, Lavras - MG, Brazil. porto.antonio@outlook.com;

³PhD student in Plant Biotechnology, Department of Phytopathology, Federal University of Lavras - UFLA, Lavras - MG, Brazil. santos-ml@outlook.com;

⁴Full professor, Advisor, Laboratory of Plant Genetics, Department of Natural Sciences, State University of Southwest of Bahia, Campus Vitória da Conquista - BA, Brazil. ancaol1@yahoo.com.br

INTRODUCTION

Passionfruit cultivation is one of the fastest growing in the Brazilian fruit sector. The area under cultivation has almost doubled in the last five years, which has been important for small farmers (MELETTI, 2011; FALEIRO, 2015). In 2015, Brazilian production exceeded 1 million tons, making Brazil the world's largest producer of passion fruit (IBGE, 2016). The yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) is the most commonly cultivated *Passiflora* variety (SOUZA and MELETTI, 1997). However, productivity has declined in the recent years as a result of several phytosanitary problems (MELETTI, 2011; CAVICHIOLLI et al, 2014).

Fruit hardening is one of the main diseases impacting crop productivity. In Brazil this is caused by the Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV). Foliar symptoms of the virus infestation include circular discolorations, deformations, mosaic patterning and blistering (NOVAES, 1999). In the fruits, infection causes deformation, size reduction, pericarp hardening and substantial reduction in pulp, reducing the overall production of the crop by up to 60% (VIANA et al., 2014).

Genetic improvement programs are constantly trying to develop disease-resistant varieties and so minimize the agricultural impact of this disease. This requires consistent measures for maintain fruit quality, while attending to producer and consumer safety, environmental protection and production costs reduction (QUIRINO, 1998; FALEIRO et al., 2006). For such purposes, analysis has focused on the early evaluation of genotypes in order to speed up breeding programs. This has occurred especially in perennial crops, including passion fruit breeding programs. While studies by LEÃO et al. (2006) and PINTO et al. (2008) evaluated passion fruit seedlings under greenhouse conditions to select CABMV-resistant genotypes, most evaluations for this pathosystem occur under field conditions (OLIVEIRA et al., 2013; VIANA et al., 2014; SANTOS et al., 2015).

Several scales have been proposed to evaluate leaf infestation symptoms for different passion fruit genotypes. These are largely derived from the scale proposed by Novaes and Resende (2009), which has subsequently been used in a variety of statistical assessments. In these, one, two or more temporal evaluations are generally used, and the data either used directly in statistical analyzes or disease progress is parametrized, such as with analysis of the area under a disease progress curve (AUDPC) (CAMPBELL and MADDEN, 1990).

INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro é uma das que mais cresce dentro do setor frutícola brasileiro. A área cultivada quase que dobrou nos últimos cinco anos, o que tem sido importante para pequenos produtores rurais (MELETTI, 2011; FALEIRO, 2015). Em 2015, a produção brasileira ultrapassou 1 milhão de toneladas, o que faz do Brasil o maior produtor mundial de maracujá (IBGE, 2016). O maracujazeiro ‘amarelo’ (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) é a espécie que mais se destaca dentre as cultivadas (SOUZA e MELETTI, 1997), porém, nota-se que a produtividade reduziu ao longo dos últimos anos em decorrência de diversos problemas fitossanitários (MELETTI, 2011; CAVICHIOLLI et al, 2014).

Uma das principais doenças que acometem essa cultura é o endurecimento do fruto do maracujazeiro, acarretada, no Brasil, pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Os sintomas foliares da virose incluem manchas anelares, deformações, mosaico e bolhosidades (NOVAES, 1999). Nos frutos, provoca deformações, redução no tamanho, endurecimento do pericarpo e grande redução da polpa, dessa forma, reduz em até 60% a produção da lavoura (VIANA et al., 2014).

Para minimizar o efeito das doenças na agricultura, busca-se no melhoramento genético o desenvolvimento de variedades com resistência a doenças, o que consequentemente resulta em medidas de segurança para o produtor e consumidor, preservação do meio ambiente, redução dos custos de produção e qualidade mercadológica exigida (QUIRINO, 1998; FALEIRO et al., 2006). Para tanto, principalmente em culturas perenes, tem se focado na avaliação precoce de genótipos com vistas a dar celeridade aos programas de melhoramento, o que vem ocorrendo também em programas de melhoramento do maracujazeiro. Trabalhos como os de LEÃO et al. (2006) e PINTO et al. (2008) utilizaram avaliação em mudas de maracujazeiro sob condições de casa de vegetação a fim de selecionar genótipos resistentes ao CABMV, contudo, a maioria das avaliações para esse patossistema ocorre em condições de campo (OLIVEIRA et al., 2013; VIANA et al., 2014; SANTOS et al., 2015).

Para avaliação dos sintomas foliares de genótipos de maracujazeiro, utilizam-se diferentes escalas de notas da severidade dos sintomas propostas na literatura, que em sua grande maioria são derivadas da escala de notas proposta por Novaes e Resende (2009), as quais posteriormente são utilizadas de diferentes formas nas avaliações estatísticas. Utiliza-se uma, duas ou mais avaliações temporais, em que os dados podem ser usados diretamente nas análises estatísticas ou pode-se obter parâmetros do progresso da doença, como a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

Statistical tests of the variables generated by biometric scales for disease symptom severity generally involve analyzes of variance and multiple comparison tests. This requires that the data have normality, independence of errors, homoscedasticity and that the sources of variation have additive effects (GOMEZ and GOMES, 1974; JÚNIOR *et al.*, 1996). Accordingly, the researcher must use for data analysis methodology that minimizes experimental errors. Another difficulty researchers face is the need to work with variables that can be parameterized to allow accurately estimation of genetic variation. That is, variables that, when used, offer better separation of genetic and environmental effects, and which accurately represent the pathogen-host relationships. Given this, the objective of the current study was to statistically evaluate different ways of using the collected data based on the quality of the generated variables.

MATERIALS AND METHODS

Experiments were conducted from February to September 2015 in a greenhouse at the State University of Southwest Bahia, Experimental Field Station of the UESB, Campus of Vitória da Conquista, Bahia, Brazil, under 75% lighting and controlled irrigation.

Four varieties of yellow passion fruit were evaluated: a local variety (Ceasa), where seedlings came from locally-purchased fruits; and the cultivars BRS Sol do Cerrado, BRS Gigante Amarelo and BRS Rubi do Cerrado. The experiment was conducted in a fixed model with a randomized block design (RBD) with 5 plots, each plot consisting of 12 plants.

Test plants were grown in polyethylene bag with substrate in the ratio 3: 1 (soil: manure). At 120 days after germination, test plants were artificially inoculated with a viral extract that had been obtained from CAMBV host plants by maceration of infected leaf material with isolate 2013.2 in the ratio of 1 g of tissue (leaf) to 10 ml of solution of deionized water with 5% (p/v) potassium phosphate buffer (0.02 M), pH 7. A small amount of abrasive (silicon carbide powder) was added to the obtained extract, and the virus was inoculated on all leaves of the seedlings by rubbing the tops of all leaves with a moistened finger, in order to achieve a more equal inoculation. About 10 minutes after inoculation, the leaves were lightly washed so that the abrasive did not burn the leaves (LEÃO *et al.*, 2006).

As variáveis geradas por escala de notas para biometria da severidade de sintomas de doenças geralmente são usadas em análises de variância e testes de comparação múltipla, o que exige que os dados tenham normalidade, independência dos erros, homoscedasticidade e efeito de aditividade das fontes de variação (GOMEZ e GOMES, 1974; JÚNIOR *et al.*, 1996). Com isso, o pesquisador deve usar uma metodologia adequada para análise de dados, para reduzir erros experimentais. Outra dificuldade enfrentada pelos pesquisadores é trabalhar com variáveis que ofereçam parâmetros que consigam estimar com maior precisão a variação genética. Ou seja, variáveis que quando utilizadas separem melhor os efeitos ambientais quaisquer e que representem com maior fidelidade a relação patógeno-hospedeiro. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes formas de utilização dos dados coletados via escala de notas a partir da qualidade das variáveis geradas, com base em parâmetros estatísticos.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Campo Experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, *campus* de Vitória da Conquista, BA sob 75% de luminosidade e irrigação controlada, no período de fevereiro a setembro de 2015.

Foram avaliadas quatro variedades de maracujazeiro ‘amarelo’: variedade local ou Ceasa, sendo composta por mudas provenientes de sementes de frutos advindos do comércio local; e as cultivares BRS Sol do Cerrado, BRS Gigante Amarelo e BRS Rubi do Cerrado. O experimento foi conduzido sob delineamento em blocos completos casualizados (DBCC) com 5 parcelas, sendo cada parcela constituída de 12 plantas.

As plantas foram conduzidas em saco de polietileno com substrato na proporção 3:1 (solo: esterco). Decorridos 120 dias após a germinação, as plantas foram inoculadas artificialmente com extrato viral obtido de plantas de maracujazeiro hospedeiras do CAMBV, através de maceração do material foliar infectado com isolado 2013.2 na proporção de 1 g de tecido (folha) para 10 ml de solução de água deionizada com tampão de fosfato de potássio a 5% (p/v) (0,02 M), pH 7. Adicionou-se pequena quantidade de pó de carvão de silício (abrasivo) ao extrato obtido, e o vírus foi inoculado em todas as folhas das mudas, friccionando as partes superiores de todas as folhas com o dedo molhado, a fim de proporcionar uma melhor homogeneidade na inoculação. Cerca de 10 minutos após a inoculação, as folhas foram levemente lavadas para que o abrasivo não queimasse as folhas (LEÃO *et al.*, 2006).

Phytopathometry

For each variety 60 plants were grown and visual phytopathometric evaluation performed at 30, 60 and 90 days after inoculation in order to measure the severity of foliar symptoms. Scores were given on a scale of 1 to 5 (TEMPESTA JÚNIOR *et al.*, 2004), according to the symptoms shown by the leaves (Table 1).

Fitopatometria

As 60 plantas de cada uma das variedades foram visualmente avaliadas fitopatometricamente em três épocas diferentes, aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação quanto a mensuração da severidade dos sintomas foliares. Foram atribuídas notas em uma escala de 1 a 5 (TEMPESTA JÚNIOR *et al.*, 2004), acordantes aos sintomas apresentados pela folha (Tabela 1).

Table 1 - Ranks and visual symptomology used in leaf analysis

Tabela 1 - Notas e sintomatologia visual utilizada para a análise das folhas

Rank	Visual symptom
1	Leaf without mosaic symptom
2	Leaf with light mosaic and without foliar deformation
3	Leaf with light mosaic and leaf deformations
4	Leaf with mosaic, blisters and leaf deformations
5	Leaf with severe mosaic, blisters and leaf deformations

Analysis following collection of symptom severity scores

Data from the three evaluation periods were analysed four different ways to obtain the phytopathometric variables, hereafter termed PVs.

(i) GS - Mean of symptom severity scores for the three evaluation periods;

GS was obtained from the severity ranks collected for each genotype, in each evaluation period through the equation below, where ' k_i ' is the symptom severity score and 'n' is the number of leaves.

$$GS = \frac{\sum k_i}{n}$$

(ii) III - Mean of infection intensity scores from the three evaluation periods;

(iii) AUDPC-III - AUDPC calculated through the infection intensity indices of the three evaluation periods;

Variable III or Infection Intensity Index (CZERMAINSKI, 1999) is calculated based on the by-genotype frequency of severity scores, using the generalized 'disease index' proposed by McKINNEY (1923). In each evaluation period, frequencies of the severity rankings ' k_i ' undergo angular transformation, with $\omega = \arcsen \sqrt{I}$, obtaining values on a scale of 0 to 100.

$$III = \text{sen}^2 \omega$$

Análises após coleta das notas de severidade dos sintomas

Os dados das avaliações nas três épocas de avaliação foram utilizados sob quatro diferentes formas para obtenção das variáveis fitopatométricas; VFs doravante chamadas.

(i) GS - Média das notas de severidade dos sintomas das três épocas de avaliação;

O GS é obtido através das notas de severidade coletadas para cada genótipo, em cada época de avaliação através da equação abaixo, onde ' k_i ' é a nota da severidade dos sintomas e 'n' é o número de folhas.

(ii) III - Média das notas do índice de intensidade de infecção das três épocas de avaliação;

(iii) AACPD-III - AACPD calculada através dos Índices de intensidade de infecção das três épocas de avaliação;

O III ou Índice de intensidade de infecção (CZERMAINSKI, 1999) é calculado com base na frequência das notas de severidade por genótipo, por meio da generalização do 'índice de doença', proposto por McKINNEY (1923). Em cada época de avaliação, as frequências das notas de severidade ' k_i ' sofrem transformação angular, com $\omega = \arcsen \sqrt{I}$, obtendo-se valores numa escala de 0 a 100.

(iv) AUDPC-GS - AUDPC calculated using symptom severity ranking from the three evaluation periods;

Campbell and Madden (1990) proposed trapezoidal integration as an approximation to AUDPC. This procedure is widely used for plant diseases epidemiology studies, where 'n' is the number of evaluations, 'k' is the CABMV severity index, and 't' is the time of each evaluation.

$$AACPD = \sum_i^{n-1} (k_i - k_{i+1}) / 2 \times (t_{i+1} + t_i)$$

Statistical Analysis

Data were tested for normality of errors with a Shapiro-Wilk Test. The method proposed by Ascombe and Tukey (1963) was used to test for homoscedasticity, and that proposed by Tukey (1949) to test the additivity effects of the model.

To compare the different methods of data analysis using ranking scales coefficients of variation (CV), of determination or repeatability (R²), and calculated F were used as measures of experimental quality. Sequential paired Spearman correlations was PVs were used to test correlation between the data obtained from the ranking scale. Statistical analyzes were performed with using *psych* and *agricolae* software packages in R (DE MENDIBURU, 2014).

RESULTS AND DISCUSSION

All PVs had normal distribution when errors were assayed for normality with a Shapiro-Wilk test (Table 2). The tested residuals showed data normality with a low degree of freedom, indicating a normal distribution of average scores. This occurs because of the quantitative inheritance of the character under study; that is, it is controlled by several genes, and this generates a gradient of genotypes within the frequency distribution, with the largest number of individuals around the mean intensity and far lower percentages at the extremes of pathogen response.

PVs AUDPC-III and III had values slightly closer to normality. The same occurred when the PVs were tested for homoscedasticity. According to Czermainski (1999), when applying angular transformation (I) to ordinal qualitative scales, such as the ranking scale used in this study, data will meet normality and homoscedasticity requirements for analysis of variance. In the analysis of effects, all PVs showed additivity. Non-additivity results in heterogeneity for error, which leads to loss of experimental precision. The data generated by the four PVs proved to be robust in terms of effect additivity.

(iv) AACPD-GS - AACPD calculada através das notas de severidade dos sintomas das três épocas de avaliação;

Campbell e Madden (1990) propuseram a integração trapezoidal como aproximação a AACPD. Esse procedimento é amplamente utilizado em epidemiologia de doenças de plantas. Em que 'n' é o número de avaliações, 'k' é o índice de severidade do CABMV, 't' é o tempo de cada avaliação.

Análises estatísticas

Os dados foram testados quanto a normalidade dos erros pelo teste Shapiro-Wilk. Para testar a homocedasticidade foi utilizado o método proposto por Ascombe e Tukey (1963), e a metodologia proposta por Tukey (1949) foi utilizada para testar a aditividade dos efeitos do modelo.

Como medidas da qualidade experimental para comparação dos diferentes métodos de análise de dados via escala de notas, foram utilizados os coeficientes de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) ou repetibilidade e F calculado. Para verificar a correlação entre os tipos de dados obtidos a partir da escala de notas, foi estimada a correlação de Spearman entre as VFs, duas a duas. As análises estatísticas foram feitas com auxílio dos pacotes *psych* e *agricolae* do software R (DE MENDIBURU, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando os erros foram testados quanto a normalidade pelo teste Shapiro-Wilk, todas as VFs tiveram distribuição normal, com alta significância (Tabela 2). A normalidade dos dados, ainda que os resíduos testados com grau de liberdade baixo, evidencia a distribuição normal das notas médias das parcelas por conta da herança quantitativa do caráter, ou seja, controlado por vários genes, o que gera o gradiente dos genótipos na distribuição das frequências, com o maior número de indivíduos em torno da média de severidade e menor parcela dos indivíduos nos extremos de reação ao patógeno.

Pode-se notar uma maior aderência, ainda que pequena, dos VFs AACPD-III e III à normalidade. O mesmo ocorreu quando testadas as VFs para a homocedasticidade. Segundo Czermainski (1999), quando aplicada a transformação angular (I) para escalas qualitativas ordinais, como a escala de notas usadas nesse trabalho, os dados cumprem os requisitos de normalidade e homocedasticidade para análise de variância. Na análise dos efeitos, em todas as VFs apresentaram aditividade. A não aditividade resulta na heterogeneidade do erro, o que leva a perda de precisão experimental. Os dados gerados pelas quatro VFs se mostraram robustos quanto à aditividade dos efeitos.

Table 2 - Analysis of the assumptions for the DBCC fixed model for analysis of variance of phytopathometric variables of CABMV severity in yellow passionfruit varieties

Tabela 2 - Análises dos pressupostos para o modelo fixo DBCC da análise de variância para as variáveis fitopatômicas da severidade do CABMV em variedades de Maracujazeiro 'amarelo'

Variable	Assumptions		
	Normality	Homocedasticity	Non-additivity
AUDPC-III	0.9803**	0.1617 ^{NS}	0.0059 ^{NS}
AUDPC-GS	0.9778**	0.7684 ^{NS}	0.0045 ^{NS}
III	0.9822**	0.0725 ^{NS}	0.0762 ^{NS}
GS	0.9593**	0.5544 ^{NS}	0.0028 ^{NS}

Normality: Shapiro-Wilk (W); Homocedasticity: Ascombe and Tukey (Fc); Non-additivity: Tukey (Fc); ** significance ($\alpha=0.01$); NS non-significant ($\alpha=0.01$).

Normalidade: Shapiro-Wilk (W); Homocedasticidade: Ascombe e Tukey (Fc); Não-aditividade: Tukey (Fc); ** significativo ($\alpha=0,01$); NS não significativo ($\alpha=0,01$).

Vieira *et al.* (2016) employed AUDPC, a non-parametric approach, to evaluate popcorn corn genotypes for foliar diseases, and reported difficulty in adapting the data generated to parametric assumptions required for ANAVA. Use of variables based on ranking scales has been a major problem because of the difficulties with normalization.

For quality evaluation for data generated from quality experimental parameters, the use of the infection intensity index increased the coefficient of variation, both directly and in the calculation of AUDPC. However, values for R^2 and Fc showed that use of III reduces experimental error and therefore generates higher gradient evaluations between variation of varieties and variation in experimental error (Table 3).

Vieira *et al.* (2016) lançaram mão da abordagem não paramétrica com o uso da AACPD para avaliar genótipos de milho pipoca a doenças foliares, relatando a dificuldade da adequação dos dados gerados à pressupostos paramétricos para ANAVA. O uso de variáveis via escala de notas tem sido um grande problema por conta da dificuldade da normalização.

Quanto a avaliação da qualidade dos dados gerados a partir dos parâmetros de qualidade experimental, observou-se que o uso do índice de intensidade de infecção aumenta o coeficiente de variação, tanto diretamente, quanto no cálculo da AACPD, contudo os valores de R^2 e do Fc mostram que o uso do III diminui erro experimental e com isso, gera avaliações com maior gradiente entre a variação de variedades e variação do erro experimental (Tabela 3).

Table 3 - Experimental quality parameters using the DBCC fixed model for the evaluation of phytopathometric variables for CABMV infection severity in passionfruit varieties

Tabela 3 - Parâmetros de qualidade experimental utilizando o modelo fixo DBCC para avaliação das variáveis fitopatômicas de severidade do CABMV em variedades de Maracujazeiro 'amarelo'

	AUDPC-III	AUDPC-GS	III	GS
CV	19.09	7.89	18.50	7.84
R^2	58.47	41.16	63.38	47.04
Fc	2.408 ^{NS}	1.69 ^{NS}	2.73 ^{NS}	1.88 ^{NS}

When evaluating quantitative characters in beans and soya, Cargnelutti-Filho *et al.* (2009) reached the apparently paradoxical conclusion that CV has a positive correlation with experimental error variation and with R^2 and Fc, which are statistically related, have positive amplitude with within-variety variation and negative amplitude with the error variance. In consequence they are independent of the average values for the varieties and, therefore, are more appropriate for evaluating experimental precision than CV. Using different isolates of commercial varieties of yellow passion fruit grown under greenhouse conditions, Cerqueira-Silva *et al.* (2012) found a coefficient of variation of 26.3% for III, which is close to the value found in the current study. Studies by Viana *et al.* (2014), Pinto *et al.* (2008) and Leão *et al.* (2006) all compare of CABMV infestation severity, but use different GS evaluation times for variety and progeny. Additionally, these studies did not report CV and Fc values.

Abreu (2006), testing six plant progenies varieties of yellow passion fruit, found GS coefficient of variation of 11.15%, a value CV higher than that found in the current study (7.84%). As can be seen, the CV of the direct PVs (GS and III) followed the magnitude of the PVs obtained by the respective AUDPCs, as well as the R^2 and Fc values.

Using PVs III and AUDPC-III results in higher experimental quality, both for the analysis of variance assumptions and for the experimental quality parameters, with higher Fc and R^2 values. As a result, the quality of PVs information generated by the calculation of AUDPC must be taken into account when choosing whether to use the direct measures of infection intensity or the construction of an AUDPC.

The AUDPC allows inference about the temporal dynamics of the disease, with data being more robust in terms of the actual resistance condition over time, of the vírus-challenged genotype since, the great majority of plant diseases growth dynamics are not linear, and consequently the mean of III or GS or even a point evaluation would not accurately represent the pathogen-host interaction across the infection process. This has been demonstrated by Silva *et al.* (2015) in the fava bean-BGMV, by Abreu (2006) for passionfruit -CABMV, and Yuen and Forbes (2009) in the potato-*Phytophthora infestans* pathosystems,

When Spearman test correlations were compared, all PVs showed a significant correlation, with the highest correlation between GS and III (0.99) and lower correlation between GS and AUDPC-III (0.94) (Figure 1).

Embora pareça paradoxal, Cargnelutti-Filho *et al.* (2009), concluíram, avaliando caracteres quantitativos em soja e feijão, que o CV tem correlação positiva com a variação do erro experimental e o R^2 e Fc, que por sua vez são relacionados estatisticamente, tem amplitude positiva com a variação de variedades e negativa com a variância do erro, sendo independentes da média das variedades e, com isso, são mais adequados para avaliar a precisão experimental do que CV. Em condições de casa de vegetação, Cerqueira-Silva *et al.* (2012) encontraram coeficiente de variação de 26,3% para o III, utilizando diferentes isolados em variedades comerciais de maracujazeiro ‘amarelo’, o que se aproxima do valor encontrado nesse trabalho. Trabalhos como os de Viana *et al.* (2014), Pinto *et al.* (2008) e Leão *et al.* (2006) utilizam o GS em diferentes épocas de avaliação para competição de variedade e progênes quanto a severidade do CABMV, contudo, esses trabalhos não informam os valores de CV e Fc.

Abreu (2006), testando seis progênes e variedades de maracujazeiro ‘amarelo’, encontrou coeficiente de variação de 11,15 % para GS, dado menor do que magnitude do CV encontrado no presente trabalho (7,84%). Como se pode observar, o CV das VFs diretas (GS e III) acompanharam a magnitude das VFs obtidas pelas AACPDs respectivas, assim como os valores de R^2 e Fc.

Nota-se que o uso das VFs III e AACPD-III gera ganhos com maior qualidade experimental tanto na análise dos pressupostos da análise de variância quanto nos parâmetros da qualidade experimental, com Fc e R^2 maiores. Algo que deve ser levado em consideração quanto à escolha do uso direto do índice de intensidade de infecção ou a construção da AACPD do índice supracitado é a qualidade da informação das VFs gerada pelo cálculo da AACPD. A AACPD faz inferência sobre a dinâmica temporal da doença, sendo um dado mais robusto sobre a real condição de resistência do genótipo desafiado ao longo do tempo, já que a dinâmica do crescimento das doenças de plantas, em sua grande maioria não ocorre de forma linear, dessa forma, a média do III ou GS ou mesmo uma avaliação pontual não representaria bem a interação patógeno-hospedeiro ao longo do processo de infecção, como pode ser observado nos trabalhos de Silva *et al.* (2015) no patossistema fava - BGMV; Abreu (2006) no patossistema maracujazeiro ‘amarelo’ - CABMV; e Yuen e Forbes (2009) no patossistema batata - *Phytophthora infestans*.

Quando comparadas as correlações pelo teste de Spearman, todas as VFs apresentaram correlação significativa entre si, com maior correlação entre as variáveis GS e III (0,986) e menor correlação entre GS e III (0,943) (Figura 1).

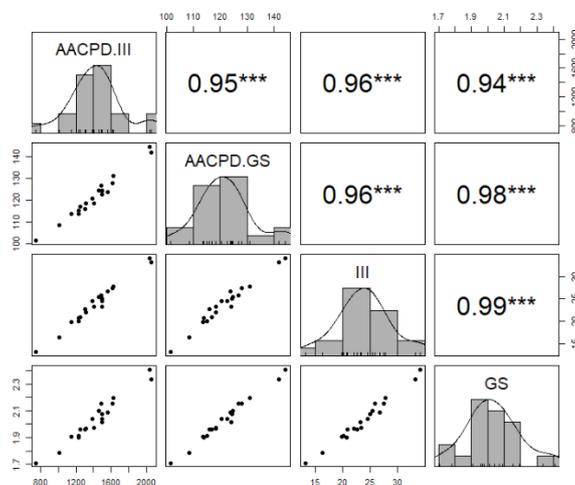


Figure 1 - Spearman test correlations between phytopathometric variables.

Figura 1 - Correlações entre as variáveis fitopatométricas pelo teste de Spearman.

These results demonstrate the association between the generated variables. Jeger and Viljanen-Rollinson (2001) described mathematically how the use of the AUDPC estimation process to test the quantitative resistance of genotypes generally has a high correlations with the quantification procedures used for the studied pathosystem (<0.951). The authors further recommended the use of AUDPC in subsequent statistical data collection assessments of infection severity, as this estimate provided assessment data from more than time period of the disease.

CONCLUSIONS

All PVs showed performed well in relation to the assumptions for analysis of variance within the proposed model;

PVs III and AUDPC-III gave better measures than experimental quality. Consequently, whenever possible, AUDPC-III should be used in evaluations because it has the advantage of providing better modeling of the interaction between host and pathogen over infection time, as it has a high correlation with the other tested phytopathometric variables.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the State University of Southwest of Bahia for the provided infrastructure, CNPq for project financing (Process # 119116 / 2014-6), and granting a scientific scholarship to Antonio Carlos Mota Porto (first author). To Embrapa Cerrados Researcher Fábio Faleiro for providing seeds of the passion fruit cultivars used in the experiment and Adrian Barnett helped with the English.

Esses resultados demonstram a identidade entre as variáveis geradas. Jeger e Viljanen-Rollinson (2001) descreveram, através de procedimentos matemáticos que o processo de estimação da AACPD para verificação da resistência quantitativa de genótipos tiveram correlações altas com os procedimentos de quantificação usualmente utilizados para o patossistema estudado (< 0,951). Os autores ainda recomendaram o uso da AACPD nas avaliações estatísticas posteriores coleta de dados de severidade, por conta dessa estimativa oferecer dados de mais de uma avaliação temporal da doença.

CONCLUSÕES

Todas as VFs apresentaram boas avaliações no que diz respeito aos pressupostos para análise de variância quanto ao modelo proposto;

As VFs III e AACPD-III ocasionaram melhores medidas que qualidade experimental. Sempre que possível, a AACPD-III deve ser utilizada por obter a vantagem de melhor modelar a interação do patógeno-hospedeiro ao longo do tempo de infecção, tendo alta correlação com as outras variáveis fitopatométricas testadas.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia pela infraestrutura cedida. À Agência CNPq pelo financiamento do projeto (Processo nº 119116/2014-6), concedendo bolsa de iniciação científica ao primeiro autor. Ao Pesquisador da Embrapa Cerrados Fábio Faleiro pela disponibilização das sementes das cultivares de maracujazeiro utilizadas no experimento e ao Adrian Barnett pela ajuda na tradução.

SCIENTIFIC LITERATURE QUOTED

- ABREU, S. P. M. Desempenho agrônômico, características físico-químicas e reação a doenças em genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Distrito Federal. 2006.144 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de Brasília, Brasília.
- ANSCOMBE, FRED, J.; TUKEY, JOHN, W. The examination and analysis of residuals. **Technometrics**. 1963;5:2:141-160. doi:10.2307/1266059
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN L, V. Introduction to plant disease epidemiology. 1ª.Ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1990, 532 p.
- CARGNELUTTI-FILHO, A.; STORCK, L.; RIBEIRO, N. D. Medidas da precisão experimental em ensaios com genótipos de feijão e de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 2009;44:10:12251231. doi:10.1590/S0100-204X2009001000003
- CAVICHIOLO, J. C.; KASAI, F. S.; NASSER, M. D. Productivity and physical characteristics of fruits of *Passiflora edulis* grafted *Passiflora gibertii* in different planting densities. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 2014;36:1:243-247. doi:10.1590/0100-2945-238/13
- CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; MELO, J. R. F.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Selection of pathometric variables to assess resistance and infectivity in the passion fruit woodiness pathosystem. **European Journal of Plant Pathology**. 2012;134:3:489-495. doi:10.1007/s10658-012-0030-5
- CZERMAINSKI, A. B. C. Generalização de um índice de intensidade de infecção em experimentos de avaliação de doenças de plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 1999;34:9:1545-1555. doi:10.1590/S0100-204X1999000900004
- SILVA, da M. A.; de ANDRADE LIMA, G. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LARANJEIRA, F. F.; & MICHEREFF, S. J. Progresso e arranjo espacial do mosaico dourado em fava. **Revista Caatinga**. 2015;28:1:19-27 < https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/2844/pdf_212>
- DE MENDIBURU, FELIPE. Agricolae: statistical procedures for agricultural research. **R package version**. 2014;1:1-6. < https://www.researchgate.net/publication/303256192_Agricolae_Statistical_Procedures_for_Agricultural_Research>
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, A. M. Ações de pesquisa e desenvolvimento para o uso diversificado de espécies comerciais e silvestres de Maracujá. Planaltina DF: Embrapa Cerrados, 2015.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: demandas para a pesquisa. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006, 54 p.
- GOMEZ, K. A.; GOMEZ, A. A. Statistical procedures for agricultural research. John Wiley & Sons, 1984, 630 p.
- IBGE. Séries históricas e estatísticas: lavoura-permanente-total produzido. Disponível em: <<http://seriesestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?t=lavoura-permanente-area-plantada&vcodigo=PA7>> Acesso em: 06 Dez. 2016.
- JEGER, M. J.; VILJANEN-ROLLINSON, S. L. H. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**. 2001;102:1:32-40. doi:10.1007/s001220051
- JÚNIOR, O. G. M.; RAMALHO, MAP, FERREIRA, D. F., & dos SANTOS, J. B. Viabilidade do emprego de notas na avaliação de alguns caracteres do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ceres**. 1997;44:254:411-420. < <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/2434/435>>
- LEÃO, R. M. K.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RESENDE, R. de O.; MATTOS, J. K. de A.; MELO, B. Reação de progênies de maracujazeiro-azedo ao vírus do endurecimento do fruto (*Cowpea aphidborne mosaic virus* - CABMV) em casa de vegetação. **Bioscience Journal**. 2006;22:3:87-92. < <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6720/4431>>
- MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**. 1923;26:5:195-218. < <https://www.scienceopen.com/document?vid=1e2f3726-92f3-4c2a-8f1f-c9c69ff967d5>>
- MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 2011;33:1:83-91. doi:10.1590/S0100-29452011000500012
- NOVAES, Q. S. de. Seleção de estirpes fracas do *Passion Fruit Woodiness Virus* e tentativas de premunização para o controle do endurecimento dos frutos do maracujazeiro. 2002. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP.

- NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Possível aplicação do DAS-ELISA indireto na seleção de maracujazeiro tolerante ao “Passionfruit WoodinessVirus”. **Fitopatologia Brasileira**. 1999;24:1:76-79. < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000065&pid=S0100-2945200600010002700009&lng=pt>
- OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; BARBOSA, C. J.; SANTOS FILHO, H. P.; & JESUS, O. N. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 2013;35:485-492. doi:10.1590/S0100-29452013000200018
- PINTO, P. H. D.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RESENDE, R. O.; MATTOS, J. K. A.; MELO, B. Reação de genótipos de maracujazeiro-azedo ao vírus do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV). **Bioscience jornal**. 2008;24:2:19-26. < <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewFile/6736/4445>>
- QUIRINO, T. R. Agricultura e meio ambiente: tendências. In: Silveira, MA da; Vilela, SL de O. (Ed.). Globalização e sustentabilidade da agricultura. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 109-138. (Documentos, 15).
- SANTOS, E. A., VIANA, A. P., de OLIVEIRA FREITAS, J. C., de LIMA, F. H., RODRIGUES, R., & EIRAS, M. Resistance to Cowpea aphid-borne mosaic virus in species and hybrids of Passiflora: advances for the control of the passion fruit woodiness disease in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**. 2015;143(1):85-98. doi:10.1007/s1065
- SOUSA, J. S. I. de; MELETTI, L. M. M. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. ed. Piracicaba: Fealq, 1997. 179 p.
- TEMPESTA JÚNIOR, R.; PEIXOTO, J. R.; MEDEIROS, F. B.; SOUSA, M. A. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; QUADROS, M. Desenvolvimento vegetativo e severidade do vírus do endurecimento do fruto (Passionfruit Woodiness Virus - PWV) em 17 genótipos de maracujazeiro azedo, cultivados no Distrito Federal. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2004, Florianópolis-SC. **Anais...** 2004.
- TUKEY, JOHN W. Comparing individual means in the analysis of variance. **Biometrics**. 1949;5:2:99-114. doi:10.2307/3001913
- VIANA DOS SANTOS, C. A.; de CARVALHO PIRES, M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; & BLUM, LEB. Partial resistance of passionfruit genotypes to the virose of the woodiness of the fruit. **Bioscience Journal**. 2014;30:3:338-345. < <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/18155/14545>>
- VIEIRA, R. A.; SCAPIM, C. A.; TESSMANN, D. J.; FERREIRA, F. R. A.; VIVAS, M.; & do AMARAL JÚNIOR, A. T. A nonparametric approach to selection popcorn hybrids to resistance to foliar diseases. **Científica**. 2016;44:2:165-169. doi:10.15361/1984-5529.2016v44n2p165-169
- YUEN, J. E.; FORBES, G. A. Estimating the level of susceptibility to *Phytophthora infestans* in potato genotypes. **Phytopathology**. 2009;99:6:782-786. doi:10.1094/phyto-99-6-0782