

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Epidemiologia da Mancha Graxa dos Citros
(*Mycosphaerella citri*) no Recôncavo Baiano**

SUELY XAVIER DE BRITO SILVA

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
FEVEREIRO - 2008**

**Epidemiologia da Mancha Graxa dos Citros
(*Mycosphaerella citri*) no Recôncavo Baiano**

SUELY XAVIER DE BRITO SILVA

Engenheira Agrônoma
Universidade Federal da Bahia, 1989.

Dissertação submetida à Câmara de Pesquisa e Ensino de Pós-Graduação da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Co-orientadora: Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2008

FICHA CATALOGRÁFICA

S586 Silva, Suely Xavier de Brito

Epidemiologia da mancha graxa dos citros (mycosphaerella citri) no Recôncavo Baiano / Suely Xavier de Brito Silva. - Cruz das Almas, BA, 2008.

73--f. : il. tab. graf.

Orientador: Francisco Ferraz Laranjeira.
Co-Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2008.

1.Citros - epidemiologia 2. Citros – doença – mancha graxa. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título

CDD 20.ed. 634.3

CDD 20ed. 633.34

CDD 20.ed. 664

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DA
ALUNA SUELY XAVIER DE BRITO SILVA**

Dr. Francisco Ferraz Laranjeira
EMBRAPA – Mandioca e Fruticultura Tropical
(Orientador)

Dr. Jorge Teodoro de Souza
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

Dr. Miguel Angel Dita Rodríguez
EMBRAPA – Mandioca e Fruticultura Tropical

Dissertação homologada pelo Colegiado de Curso de Mestrado em Ciências Agrárias em

Conferindo o Grau de Mestre em Ciências Agrárias em

Aos meus pais, José Brito e Linete,
às minhas filhas, Luisa e Julianna,
ao meu esposo, José Mauro.
Pela confiança, incentivo, amor – pilares desta conquista.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca ter me desamparado nos processos de conquista pessoal, familiar e profissional; pela centelha de fé que me faz acreditar na transformação de sonhos em realidade;

Ao Dr. Francisco Ferraz Laranjeira, pela competência profissional, rigor científico e paciência no processo de orientação;

Aos professores, Dr^a. Ana Cristina Vello Loyola Dantas, Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares e Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho, pela valiosa contribuição na construção do saber científico;

Ao Dr. Antônio Souza do Nascimento, pelo convívio e incentivo;

Aos colegas da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), representados por Dr. Cássio Ramos Peixoto, Diretor de Defesa Sanitária Vegetal; Dr. Cleômenes Torres, Gerente do Escritório de Cruz das Almas e Dr. Raul Magno Pinto, Coordenador de Projetos Especiais - Citros, pelo apoio logístico na realização das pesquisas de campo e pela criação de um ambiente de trabalho propício à prática acadêmica;

Ao incansável e dedicado Décio de Oliveira Almeida, bolsista da FAPESB / EMBRAPA - CNPMF, presente em todas as fases dos experimentos de campo;

Aos profissionais e colegas do Laboratório de Fitopatologia da UFRB e da EMBRAPA - CNPMF, pelas orientações durante a execução dos trabalhos;

Aos colegas do curso de mestrado pelo grande espírito de colaboração, aqui representados por Lorena Nunes, Roselete Marques e Antônio Queiroz Barreto;

Aos ex-colegas e ex-professores da graduação que entusiasticamente me acolheram durante a pós-graduação;

Aos docentes e alunos da UFRB, da UFRPE e estagiários da EMBRAPA - CNPMF pela colaboração no processo de elaboração da escala diagramática;

Aos produtores rurais das localidades de Pumba, Lisboa e Boca da Mata (Cruz das Almas - BA) pela concessão de seus pomares que serviram como de unidades experimentais.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	01
Capítulo 1	
AMOSTRAGEM, CARACTERIZAÇÃO DE SINTOMAS E ESCALA DIAGRAMÁTICA DA MANCHA GRAXA DOS CITROS (<i>Mycosphaerella citri</i> WHITESIDE) NO RECÔNCAVO BAIANO	14
Capítulo 2	
CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA ESPAÇO-TEMPORAL DA MANCHA GRAXA DOS CITROS (<i>Mycosphaerella citri</i> WHITESIDE) NO RECÔNCAVO BAIANO	29
Capítulo 3	
CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA DESFOLHA INDUZIDA PELA MANCHA GRAXA DOS CITROS (<i>Mycosphaerella citri</i> WHITESIDE) NAS VARIEDADES 'BAHIA' E 'PÉRA', NO RECÔNCAVO BAIANO.....	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

EPIDEMIOLOGIA DA MANCHA GRAXA DOS CITROS (*Mycosphaerella citri*) NO RECÔNCAVO BAIANO, BRASIL.

Autora: Suely Xavier de Brito Silva

Orientador: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Resumo: A citricultura, atividade de relevância sócio-econômica no âmbito da agricultura familiar, confere ao Estado da Bahia o segundo lugar no *ranking* nacional de produção, sendo o Recôncavo e Litoral Norte as principais áreas de cultivo. Dentre as ocorrências fitossanitárias, pode-se destacar a mancha graxa dos citros, doença fúngica causada por *Mycosphaerella citri*. Os sintomas foliares manifestam-se como manchas oleosas, em alto relevo, de tamanho variável, coloração variando do marrom brilhante ao preto, com margens difusas, envolvidas por halo amarelo-esverdeado. Em áreas com umidade relativa próxima de 100% e elevadas temperaturas por períodos prolongados, a doença causa desfolha prematura, perda do vigor da árvore e diminuição no rendimento e tamanho dos frutos, podendo ocasionar dano econômico em torno de 5t/ha. Este trabalho teve como objetivos: caracterizar a sintomatologia da mancha graxa dos citros, elaborar uma escala diagramática para estimar a severidade em folhas, compreender sua dinâmica espaço-temporal e determinar as variações sazonais da desfolha em duas variedades de laranja doce, 'Pêra' e 'Bahia'. Em 19 municípios do Recôncavo da Bahia, constatou-se prevalência de 100% nos pomares, com incidência de 100% nas plantas. De agosto de 2006 a outubro de 2007, caracterizou-se a dinâmica espaço-temporal da doença em dez pomares no município de Cruz das Almas, registrando-se valores de incidência da ordem de 100% em plantas e seus quadrantes e, de 87% em folhas, com tendência a incremento. A análise de densidade espectral revelou ciclos de três meses na incidência. O índice de dispersão na maioria das vezes foi estatisticamente similar ou menor que 1. Registrou-se padrão de desfolha semelhante entre as variedades analisadas. Esses resultados indicam que no Recôncavo Baiano a mancha graxa caracteriza-se como uma endemia de alta prevalência e intensidade, com padrão espacial tendendo à uniformidade.

Palavras-chave: *Mycosphaerella citri*, citros, epidemiologia.

**EPIDEMIOLOGY OF CITRUS GREASY SPOT
(*Mycosphaerella citri* Whiteside) IN RECÔNCAVO OF BAHIA, BRAZIL.**

Author: Suely Xavier de Brito Silva

Adviser: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Abstract: The citrus industry, activity of socio-economic relevance in the context of family farming, gives the State of Bahia the second place in the national production ranking. The Recôncavo and Litoral Norte regions are the main cultivation areas. Among the phytosanitary problems, the citrus greasy spot, a fungal disease caused by *Mycosphaerella citri* can be highlighted. It causes leaf symptoms described as raised, light-brown to black, oily lesions with diffuse margins, surrounded by a yellowish-green border. In areas with relative humidity close to 100% and high temperatures for prolonged periods, the disease correlates with premature defoliation that reduce tree vigor, yield and fruit size, and may cause damage around 5t/ha. This study aimed to characterize citrus greasy spot symptoms, to develop and validate a diagrammatic scale to estimate the severity on leaves, to understand its spatial-temporal dynamics and to determine seasonal defoliation patterns for 'Pêra' and 'Bahia' sweet orange varieties. In 19 municipalities of the Recôncavo region of Bahia, prevalence of 100% was found in orchards with incidence of 100% in plants. Over 15 months, within the period from august 2006 to october 2007 the disease spatiotemporal dynamics was characterized in ten orchards of Cruz das Almas, registering incidence values of 100% in plants and their quadrants and 87% in leaves, with an increasing tendency. The analysis of spectral density showed that incidence varies according to a main three months cycle. The index of dispersion for most of evaluations was statistically similar to or lower than 1. The defoliation pattern was similar among varieties. These results indicate that citrus greasy spot can be characterized in the Recôncavo region of Bahia, as an endemic disease of high prevalence and intensity, with a spatial pattern tending to uniformity.

Key words: *Mycosphaerella citri*, citrus, epidemiology.

Importância Sócio-Econômica da Citricultura

Considerando-se o volume de produção e divisas geradas, a citricultura brasileira destaca-se como relevante atividade sócio-econômica. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2008), em 2006 o Brasil produziu 20.333.713 t. de cítricos (laranja, lima ácida tahiti e tangerina), numa área plantada correspondente a 913.582 hectares. Nesse cenário, a região Nordeste contribuiu com uma produção de 1.861.125 t e a Bahia, segundo produtor nacional, participou com o montante de 966.974 toneladas. Esta atividade agrícola representa importante meio de arrecadação de impostos e forte papel social, pois, cerca de 130 mil pessoas estão a ela diretamente ligadas e um número igual, são indiretamente dependentes dos recursos e oportunidades por ela gerados (CNPMF-EMBRAPA, 2005).

A produção nacional tem como sua principal diretriz a exportação de suco concentrado cujos mercados mais importantes são a União Européia; Canadá, México e Estados Unidos (integrantes do *North American Free Trade Agreement - NAFTA*) e Ásia, tendo acumulado nos primeiros oito meses de 2007, o volume de exportação da ordem de 950.615 t de suco concentrado e congelado (FCOJ), conferindo ao Brasil o *status* de maior exportador mundial (ABECITRUS, 2007). Esse setor fatura, aproximadamente, US\$1,5 bilhões/ano. Outro viés importante de escoamento da produção de cítricos é o mercado interno que absorve praticamente toda a laranja comercializada na forma "*in natura*" (CNPMF-EMBRAPA, 2005).

A Bahia produz pouco suco concentrado. Entretanto, envia uma quantidade relevante de frutos para a produção de FCOJ em outros Estados, a exemplo de Sergipe. O Estado também se destaca pelo abastecimento do mercado de frutas "*in natura*" do Nordeste, mantendo relações comerciais com Alagoas, Pernambuco,

Paraíba, Rio Grande do Norte e Piauí e, eventualmente, com as regiões Sul e Sudeste do país.

Embora os frutos cítricos sejam produzidos em quase todas as regiões fisiográficas do Estado, mais de 80% da produção concentra-se no Recôncavo Baiano (Figura 1) e no Litoral Norte (PASSOS, 2004). A citricultura desenvolvida nessas regiões ocupa cerca de 50 mil hectares (IBGE, 2008), sendo constituído por 19,2 milhões de plantas cítricas, com predominância de minifúndios, dos quais 80% possuem menos de 10 hectares (CNPMP/EMBRAPA, 2005).

É crescente a inserção de agricultores familiares em programas que exigem a certificação da produção agrícola, pautada em princípios de sustentabilidade econômica e ambiental, rastreabilidade e relações de trabalho socialmente justas. Nesse contexto, destaca-se a Produção Integrada de Frutas (PIF) e o Comércio Justo (“fair trade”), disponibilizando matérias-primas para o setor agro-alimentar, através de associações ou cooperativas de pequenos e médios agricultores. Representando essa tendência, na Bahia destaca-se a Central de Associações do Litoral Norte (CEALNOR) que congrega 830 famílias e possui o selo de certificação para laranja e maracujá (NORBERTO, 2006).

Panorama Fitossanitário da Citricultura Baiana

Comparando-se com a citricultura paulista, a qual é marcada pela elevação do custo de produção, pela pressão do uso intensivo de agrotóxicos e adoção de medidas de exclusão para conter o avanço das pragas (FUNDECITRUS, 2007), a citricultura baiana ainda possui um *status* fitossanitário que permite a expansão das fronteiras da citricultura, possibilitando a potencial exploração de um importante nicho de mercado: a exportação de frutos “*in natura*”.

Reconhecida pela União Européia como área livre de Cancro Cítrico, Mancha Preta dos Citros (MPC), “Greening” e Morte Súbita dos Citros (BAHIA, 2005), a Bahia, todavia, alberga importantes pragas, tais como: Leprose dos Citros e Clorose Variegada dos Citros (CVC). Apesar disso, essas pragas ainda não foram relatadas em outros locais que não as regiões produtoras do Oeste e Litoral Norte.

Apesar da mancha graxa dos citros ocorrer freqüentemente nos pomares brasileiros, esta doença nunca foi estudada em nosso país. Os danos associados à desfolha, fazem com que esta fitomoléstia seja considerada uma ameaça ao parque citrícola da Flórida (USA), nosso principal concorrente no agronegócio dos citros. Entretanto, na concepção dos citricultores, este patossistema parece ser de pouca importância dada a pouca atenção a ele dispensada. Em contraste, levantamentos preliminares indicaram uma prevalência de 100%, associada com altas incidências da mancha graxa dos citros em pomares baianos (LARANJEIRA et al., 2003).



Figura 1 - Mapa do Estado da Bahia. A região citrícola do Recôncavo está indicada pelo círculo.

Mancha Graxa dos Citros

Causada por *Mycosphaerella citri* Whiteside, a mancha graxa dos citros (“*citrus greasy spot*”) promove severa desfolha e perdas de produção de até 5 t/ha (DIAZ e BROWN, 1985). Sua ocorrência é ampla, afetando diversos parques citrícolas situados nos Estados Unidos, Caribe, Américas Central e do Sul e na Ásia (TIMMER e GOTTWALD, 2000).

Ao promover lesões em folhas e frutos, a mancha graxa torna-se relevante para as regiões citrícolas nas quais a umidade relativa do ar alcança índices próximos de 100%, associada a prolongados períodos de elevadas temperaturas (WHITESIDE, 1988). Essa doença provoca queda prematura de folhas, acompanhada de redução no vigor da planta, na produção e no tamanho de frutos (TIMMER et al., 2000).

Até 1930, a mancha graxa dos citros era considerada como uma injúria decorrente da ferrugem dos citros. Passou a ser reputada como doença fúngica apenas depois da constatação do crescente controle em pomares do Japão, a partir da utilização de fungicidas cúpricos (WHITESIDE, 1988).

Etiologia

O agente etiológico dessa doença é o fungo *Mycosphaerella citri*, cuja forma imperfeita é *Stenella citri-grisea* Fisher (sinonímia *Cercospora citri-grisea* Fisher), e que produz corpos de frutificação apenas nas folhas em processo de decomposição (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000).

Após a queda das folhas e iniciada sua decomposição, os pseudotécios são produzidos em abundância. Eles são gregários, com ostíolo papilado, medindo até cerca de 90 μm de diâmetro. Os ascósporos são hialinos, fusiformes, monoseptados, retos ou ligeiramente curvos, cujas dimensões variam de 6 a 12 μm x 2 a 3 μm (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000).

Na fase assexual, o fungo é capaz de produzir dois tipos de conidióforos, sendo que um é mais raro e caracteriza-se por ser fasciculado, surgindo apenas quando já existem áreas necróticas na folha infectada. O outro tipo de conidióforo, mais comum, é simples, ereto, mais escuro que a hifa e de parede celular lisa. Estes

são produzidos isoladamente e de maneira esparsa, procedentes de hifas oriundas de ascósporos ou conídios que germinaram na superfície foliar (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000). Ao contrário dos ascósporos, os conídios não são observados em folhas em decomposição. Estes são septados, de coloração verde-oliva pálido, cilíndricos, podendo ser retos, ligeiramente curvos, ou, por vezes, catenulados; suas dimensões variam de 10 a 70 x 2 a 3,5 μm (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000).

Comparando-se com os ascósporos, os conídios são produzidos em pequenas quantidades e apenas no momento em que surgem os primeiros sintomas, condições que reduzem sua importância epidemiológica (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000).

Hospedeiros

Essa é uma doença típica da família Rutaceae. Observados em folhas de todas as cultivares comerciais de citros, os sintomas são mais severos em pomelos, limões e laranjas doces de maturação precoce, enquanto que as tangerinas e laranjas do tipo Valência são menos suscetíveis. Além do gênero *Citrus*, lesões também se manifestam em gêneros associados, tais como *Poncirus*, *Fortunella*, *Aeglopsis* e *Murraya* (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000).

É crescente o interesse científico na diversidade do gênero *Mycosphaerella*, pois, ao redor do mundo, esse patógeno associa-se a importantes cultivos, a exemplo de eucaliptos no sudeste da Ásia (BURGESS et al., 2007). Esses autores descreveram três novas espécies do fungo (*M. vietnamiensis*, *M. obscuris* e *M. yunnanensis*), além de registrarem *M. citri* infectando eucaliptos. Também nos gêneros *Musa* (Musaceae) e *Acacia* (Leguminosae) há relatos de ocorrência de *M. citri* (CROUS et al., 2004).

Sintomatologia

Os sintomas são caracterizados pela formação de lesões foliares de aspecto oleoso, variando do marrom brilhante ao preto, com margens difusas, envoltas em halo amarelo-esverdeado de tamanho irregular (Figura 2) o qual é mais evidente

durante os primeiros estágios de desenvolvimento da enfermidade (HIDALGO et al, 1997). As manchas escuras aparecem na face inferior das folhas, em correspondência às áreas cloróticas na face superior que diminuem à medida que as outras evoluem (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000). *M. citri* também infecta frutos e produz manchas de aspecto oleoso na sua casca, afetando a qualidade externa e sua comercialização (TIMMER e GOTTWALD, 2000).

Todas as infecções ocorrem através dos estômatos que se localizam, principalmente, na face abaxial das folhas dos citros (WHITESIDE, 1972). O lento crescimento de *M. citri* no mesófilo não permite a manifestação macroscópica dos sintomas antes de 3 a 4 meses depois da infecção, além de depender da suscetibilidade da espécie hospedeira (TIMMER e GOTTWALD, 2000; MONDAL e TIMMER, 2002). A infecção foliar causa hipertrofia das células do mesófilo esponjoso. Essa hipertrofia cria uma pressão que elimina o espaço intercelular e eleva a superfície inferior da folha. Posteriormente, as células morrem, são impregnadas por uma goma, a camada paliçádica entra em colapso e a necrose atinge a face superior da folha.

Considerando-se que o crescimento lateral das hifas penetrantes é pouco, o formato e tamanho das lesões estão diretamente relacionados ao crescimento epifítico e ao número de estômatos que foram utilizados para invadir o hospedeiro (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000).



Figura 2 - Sintomas típicos da mancha graxa dos citros em laranjeira Pêra no Recôncavo da Bahia. Folhas com sintomas (A). Folhas sintomáticas mostrando halo amarelado (B). Detalhe de sintomas na face superior de uma folha (C). Detalhe de sintomas na face inferior de uma folha (D).

Epidemiologia

Os ascósporos, produzidos nas folhas caídas e em estado de decomposição, são o inóculo principal envolvido na disseminação de *Mycosphaerella citri* (WHITESIDE, 1970). Eles são liberados quando as folhas são umedecidas, sendo lançados ao ar, de onde atingem novas folhas. Porém, este processo depende da época de queda das folhas infectadas, da velocidade de sua decomposição e da taxa de desenvolvimento dos ascocarpos.

Os processos de pré-penetração (germinação e crescimento epifítico das hifas) e penetração requerem altas temperaturas, entre 25°C e 30°C, e umidade

relativa do ar próxima a 100%, a exemplo de estudos que verificaram o fato das hifas crescerem seis vezes mais rápido a 25°C que a 15°C. Além disso, ascósporos podem sobreviver até 142 horas, em períodos sem chuvas. A germinação de ascósporos transcorre em 7h a 20°C, 6h a 25°C e 4h a 30°C não sendo a luz fator limitante para esse processo ou para o crescimento hifal (WHITESIDE, 1974). Além disso, Mondal et al. (2003) verificaram que a irradiação com infra-vermelho e vibrações (simulando ação do vento sobre as folhas) não produziram efeitos no padrão de liberação de esporos. De acordo com Whiteside (1974), as taxas de germinação dos ascósporos e de crescimento micelial são mais intensamente influenciadas por prolongados períodos de elevada umidade relativa do que por chuvas, ao passo que estas têm maior efeito na determinação do tempo de liberação dos ascósporos.

Além da chuva, o orvalho pode ter importância comparável no desencadeamento da liberação dos ascósporos, fato que pode ser relevante para a epidemiologia da mancha graxa dos citros nos trópicos úmidos. Neste caso, poderia acontecer a liberação, deposição e germinação dos ascósporos durante um evento de orvalho, reiniciando-se o crescimento durante o próximo evento, na noite seguinte (HIDALGO et al., 1997).

Muitos ascomicetos que infectam culturas temperadas adaptam-se a fenologia do hospedeiro, pois, apesar do desenvolvimento pseudotecial ocorrer nas temperaturas frias do inverno, os ascósporos estão aptos para infecção quando as temperaturas se elevam na primavera e seus hospedeiros estão suscetíveis (MONDAL et al., 2004). Diferente é o processo com *M. citri*, pois a temperatura influencia a taxa de desenvolvimento pseudotecial (MONDAL et al., 2002), mas a produção de ascósporos não se relaciona com a fenologia dos citros, uma cultura subtropical (MONDAL et al., 2004). Além disso, há duas outras diferenças: as condições ambientais podem ser favoráveis ao desenvolvimento da doença durante quase todo o ano e as folhas dos citros parecem ser suscetíveis mesmo depois de maduras (MONDAL et al., 2003), havendo quem afirme que a maioria das infecções ocorre nas folhas maduras (TIMMER e GOTTWALD, 2000).

A totalidade de estudos sobre a mancha graxa dos citros foi conduzida em outros países. Na Costa Rica, Hidalgo et al. (1997) classificaram a mancha graxa

dos citros como uma doença monocíclica. Entretanto, outro estudo indicou que infecções podem ocorrer várias vezes ao ano (BRENES, 1999).

No Brasil, embora se reconheça a presença da doença, ela é considerada de menor importância, não havendo estudos a seu respeito (LARANJEIRA et al., 2005). Mesmo na literatura estrangeira, uma ênfase é dada aos aspectos temporais da enfermidade e nada é encontrado sobre seus padrões espaciais.

Dinâmica Espaço-Temporal

Para o planejamento de experimentos, elaboração de planos de amostragem e adoção de estratégias que visem o manejo racional de doenças, a análise espaço-temporal de doenças se constitui numa ferramenta indispensável. Da mesma forma, suas ferramentas podem ser usadas para a quantificação de danos econômicos e predição dos impactos sócio-ambientais interrelacionados (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

Em condições de campo, habitualmente, três tipos de arranjo espacial são observados: uniforme, aleatório e agregado. Como em fitopatologia a distribuição uniforme é rara, os dois últimos padrões é que são normalmente objeto das análises (CAMPBELL e MADDEN, 1990). No entanto, uma epidemia é um evento dinâmico, os padrões espaciais podem apresentar variações ao longo do tempo.

Segundo Madden (1989) os padrões espaciais podem ser definidos da seguinte maneira: o arranjo aleatório ocorre quando o conhecimento da localização de um indivíduo (entidade sintomática) não fornece nenhuma informação sobre a localização de qualquer outro indivíduo; ou os valores para cada par de locais ou áreas não são correlacionados. O arranjo agregado ocorre quando a localização de um indivíduo, em um ponto determinado, aumenta a probabilidade de que outros pontos próximos a ele estejam ocupados por outros indivíduos semelhantes; ou os valores para cada par de locais ou áreas são correlacionados. No padrão uniforme, os indivíduos possuem a mesma probabilidade de apresentar-se com sintomas.

Existem três classes básicas de métodos de análise de arranjos espaciais (CAMPBELL e MADDEN, 1990):

- i) estudo da seqüência de plantas doentes e sadias na área avaliada;
- ii) análise por meio de *quadrats* (unidade de amostragem, usualmente retângulos ou quadrados) dispostos em malhas, transects (faixa ou linha de amostragem na qual os *quadrats* são definidos) ou aleatoriamente ao longo da área experimental (ODUM, 1988);
- iii) análise de medidas de distância.

A escolha do método de análise e das ferramentas estatísticas associadas tem relação direta com as características do patossistema e das limitações logísticas associadas ao estudo. Quando o interesse é avaliar o arranjo espacial com base na incidência de sintomas dentro de uma unidade amostral (plantas, por exemplo), a análise por meio de *quadrats* apresenta grande potencial informativo e boa flexibilidade. Dentre as ferramentas disponíveis destacam-se os índices de dispersão e o ajuste à lei de Taylor (UPTON e FINGLETON, 1985; MADDEN e HUGHES, 1995)

Objetivos

Considerando as aparentes altas incidência e prevalência, e o desconhecimento em torno da epidemiologia da mancha graxa dos citros, objetivou-se caracterizar sua sintomatologia em pomares citrícolas do Recôncavo Baiano; elaborar uma escala diagramática para a avaliação da severidade da doença; compreender sua dinâmica espaço-temporal e determinar as variações sazonais da desfolha em duas variedades de laranja doce 'Pêra' e 'Bahia'.

Referências Bibliográficas

ABECITRUS. **Exportação de suco concentrado de laranja**. 2007. Disponível em:< <http://www.abecitrus.com.br> > Acesso em: 25 set. 2007.

BAHIA. Secretaria do Planejamento (SEPLAN). **Bahia que faz**: densificação da base econômica e geração de emprego e renda. 2005. Disponível em: < http://www.seplan.ba.gov.br/arquivos/rel_atividades2005 > Acesso em: 03 jun. 2006.

BRENES, I. L. **Manejo fitosanitario de la naranja**: Bases para un uso racional de plaguicidas con especial énfasis en el control de la mancha grasienta. M.S. thesis. University of Costa Rica, San Jose, 1999.

BURGESS, T. I., et al. *Mycosphaerella spp.* on eucalyptus in Asia; new species; new hosts and new records. **Fungal – Diversity**, v. 24, p. 135-157, 2007.

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

CROUS, P. W., et. al. Cryptic speciation and host specificity among *Mycosphaerella spp.* occurring on Australian Acacia species grown as exotics in the tropics. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 457-469, 2004.

DIAZ, J.A.; BROWN, O. Influence of greasy spot (*Mycosphaerella citri*) Whiteside on Valencia orange yields. **Centro Agrícola**, Havana, Cuba, v.12, p.127-137, 1985.

EMBRAPA-CNPMPF. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais das tecnologias geradas pela EMBRAPA/CNPMPF**, Cruz das Almas /BA.2005. Disponível em: <http://www.cnpmpf.embrapa.br/index.php?p=publicacoes-on_line_tipo.php#boletim > Acesso em: 20 set. 2007.

FUNDECITRUS. **Principais doenças e pragas**. Disponível em: < www.fundecitrus.com.br/doencas/dpragas_br.html > Acesso em 26 abr.2007.

HIDALGO, H.; SUTTON, T.B.; ARAUZ, F. Epidemiology and control of citrus greasy spot on Valencia orange in the humid tropics of Costa Rica. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v. 81, n.9, p.1015-1022, 1997.

IBGE. **Produção agrícola municipal (PAM)**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/> > Acesso em: 08 jan. 2008.

LARANJEIRA, F.F. et al. Fungos, procaríotos e doenças abióticas. In: MATTOS JÚNIOR, D. et al. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico; Fundag, 2005. cap.18, p.511-558.

_____ et al. Prevalência e incidência de doenças fúngicas em citros no Recôncavo Baiano e Litoral Norte da Bahia. In:XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2003, Gramado / RS. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras /MG, v. 28 (suplemento), p. 213, 2003.

MADDEN, L.V. Dynamic nature of within-field disease and pathogens distributions. In: JEGER, M. J. (Ed.). **Spatial components of plant disease epidemics**. New Jersey: Prentice-Hall, 1989. cap. 5, p. 159-176.

_____.; HUGHES, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity and temporal analysis. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, p.529-564, 1995.

MONDAL, S. N.; TIMMER, L. W. Environmental factors affecting pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*, the cause of citrus greasy spot. **Phytopathology**, v. 92, p.1267-1275, 2002.

_____. The effect of urea, CaCO₃ and dolomite on pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v.87, p.478-483, 2003.

_____ et al. Mating and pseudothecial development in *Mycosphaerella citri*, the cause of citrus greasy spot. **Phytopathology**, v.94, n. 9, p.978-982, 2004.

NORBERTO, E. Negócios de oportunidade: comércio justo: viabilidade cada vez maior. **Revista Bahia Investe**, Salvador, BA, v.04, n.6, mar. 2006. Disponível em: <<http://www.seplan.ba.gov.br/bahiainvest/port/depoimentos2.php?find=versao006>>. Acesso em: 26 set. 2007.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 343 p.

PASSOS, O.S.; SANTANA, M.A. **Citricultura no estado da Bahia**. 2004. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br>>. Acesso em: 07 mai. 2006.

TIMMER, L. W., et al. Epidemiology and control of citrus greasy spot in different citrus-growing areas in Florida. **Plant Disease**. St. Paul, MN / USA. v.84, p.1294-1298, 2000.

_____.; GOTTWALD, J. H. Greasy spot and similar diseases. In: TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. (Eds.). **Compendium of citrus disease**. 2.ed. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 2000, p. 25-29.

UPTON, G.; FINGLETON, B. **Spatial data analysis by example**: point pattern and quantitative data. New York: John Wiley & Sons, 1985. v.1.

WHITESIDE, J. O. Environmental factors affecting infection of citrus leaves by *Mycosphaerella citri*. **Phytopathology** , v.64, p.115-120, 1974.

_____. Etiology and epidemiology of citrus greasy spot. **Phytopatology**, St. Paul, v. 60, p.1409-1414, 1970.

_____. Greasy spot and greasy spot rind blotch. **Compendium of citrus disease**. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 1988, p.15-17.

_____. Histopatology of citrus greasy spot and identification of the causal fungus. **Phytopathology** , v.62, p.260 - 263, 1972.

CAPÍTULO 1

AMOSTRAGEM, CARACTERIZAÇÃO DE SINTOMAS E ESCALA DIAGRAMÁTICA DA MANCHA GRAXA DOS CITROS (*Mycosphaerella citri* WHITESIDE) NO RECÔNCAVO BAIANO ¹

¹Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Ciência Rural

**AMOSTRAGEM, CARACTERIZAÇÃO DE SINTOMAS E ESCALA
DIAGRAMÁTICA DA MANCHA GRAXA DOS CITROS
(*Mycosphaerella citri* WHITESIDE) NO RECÔNCAVO BAIANO.**

Autora: Suely Xavier de Brito Silva

Orientador: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

RESUMO: Umidade relativa do ar variando entre 80 e 90%, chuvas bem distribuídas ao longo do ano e temperaturas entre 26 e 33 °C são condições climáticas que fazem do Recôncavo da Bahia uma região propícia à mancha graxa dos citros (*Mycosphaerella citri*). Assim, este trabalho teve como objetivos definir o tamanho mínimo de amostra para quantificação da incidência; caracterizar a sintomatologia da doença no Recôncavo Baiano e elaborar uma escala diagramática para a avaliação da severidade da doença. A partir de uma amostragem piloto realizada por avaliação de cinco folhas por quadrante, quatro quadrantes por planta e 30 plantas em cada um dos dez pomares visitados no município de Cruz das Almas, determinou-se que o tamanho mínimo da amostra para estimativa da incidência em quadrantes e folhas seria de quatro e 16 plantas, respectivamente. De uma amostra de 320 folhas coletadas de diferentes plantas em 11 pomares, constatou-se uma grande quantidade de lesões (média de 131) por folha sintomática, diminutas em sua maioria (média de 0,014 cm²). A mancha graxa apresentou severidade variando de 0,15% a 35,85%, com média de 7,3%. Considerando-se os valores de severidade real da doença em campo, foi elaborada uma escala diagramática com seis níveis: 1%, 2%, 5%, 9%, 18% e 36% de área foliar lesionada. No processo de validação, 50 imagens de folhas foram submetidas a avaliadores por duas vezes, os quais estimaram a severidade com e sem a utilização da escala. Com a utilização da escala diagramática, constatou-se um aumento discreto na precisão das estimativas.

Palavras – chave: *Mycosphaerella citri*, severidade, escala diagramática.

SAMPLING, CHARACTERIZATION OF CITRUS GREASY SPOT (*Mycosphaerella citri*) SYMPTOMS IN RECÔNCAVO BAIANO AND DEVELOPMENT OF A DIAGRAMMATIC SCALE FOR ASSESSMENT OF SEVERITY.

Author: Suely Xavier de Brito Silva

Adviser: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

ABSTRACT: Air relative humidity ranging from 80 to 90%, well distributed rainfall throughout the year and temperature between 26 and 33 °C are weather conditions that make the Recôncavo Region in the State of Bahia, Brazil, a favorable region for the occurrence of citrus greasy spot (*Mycosphaerella citri*). Thus, this study aimed to develop a sampling method to quantify its incidence, to characterize its symptoms in the Recôncavo region, and to develop and validate a diagrammatic scale for severity assessment. The minimum sample size to estimate greasy spot incidence (four plants for quadrants and 16 for leaves) was calculated based on data obtained after a prospective sampling of five leaves per quadrant, four quadrants per tree, and 30 trees per grove, in ten groves. From 320 leaves collected in different plants of 11 groves, it was observed a high number of lesions per symptomatic leaf (mean of 131 ± 102), most of them tiny (mean of $0,014 \pm 0,011\text{cm}^2$). Greasy spot severity varied from 0,15% to 35,85%, with a mean of 7,3%. Based on severity values found in the field, a six level (1%, 2%, 5%, 9%, 18% e 36% of lesioned leaf area) diagrammatic scale was developed. In order to validate the scale, 50 images of symptomatic leaves were shown to evaluators, which estimated the severity with and without the use of the scale. With the use of the diagrammatic scale, it was observed a slight increase in the degree of accuracy of the estimates.

Key Words: *Mycosphaerella citri*, severity, diagrammatic scale.

Introdução

De ocorrência em diversas regiões citrícolas, tais como Estados Unidos, Caribe, Américas Central e do Sul e Ásia (TIMMER e GOTTWALD, 2000), a mancha graxa dos citros (*Mycosphaerella citri*) é uma doença que acomete frutos e folhas. Pode ocasionar depreciação do produto final e promover severa desfolha, levando a danos à produção de até 5 t/ha (DIAZ e BROWN, 1985).

A doença está relacionada a condições climáticas com umidade relativa do ar próxima de 100%, associada a prolongados períodos de elevadas temperaturas (WHITESIDE, 1988). Na Bahia, a região do Recôncavo possui características climáticas propícias à interação patógeno-hospedeiro-ambiente, resultando assim na manifestação da doença, visualmente perceptível através de sintomas foliares típicos: lesões de aspecto oleoso, variando do marrom brilhante ao preto, com margens difusas, envoltas em halo amarelo-esverdeado de tamanho irregular (HIDALGO et al., 1997).

Reconhece-se a existência da doença no Brasil, no entanto essa sempre foi considerada uma doença de importância menor (LARANJEIRA et al., 2005) e, talvez por isso, não existam estudos a seu respeito neste país. Em trabalho preliminar, Laranjeira et al. (2003) constataram que a mancha graxa dos citros tem 100% de prevalência associada a elevada incidência em pomares baianos. No entanto esses autores não avançaram em questões sobre sua epidemiologia, danos ou métodos de controle. Mesmo apresentando condições ecológicas favoráveis, no Recôncavo Baiano nunca foi feita a caracterização deste patossistema.

Para a aplicação de métodos de quantificação de doenças em cultivos comerciais, a população de plantas deve ser amostrada criteriosamente, a fim de que seja representativa da população original (AMORIM, 1995). Em qualquer sistema amostral, a etapa da amostragem piloto ou preliminar é fundamental, pois é nela que dados são coletados em uma amostra prévia para, em função dela, obter-se a variabilidade da característica estudada, possibilitando calcular-se a suficiência amostral (tamanho da amostra). O objetivo do levantamento, o modelo de dispersão da doença, a disponibilidade de tempo e recursos e níveis de precisão e acurácia são variáveis que influenciam o tamanho da amostra (AMORIM, 1995).

Segundo Horsfall e Cowling (1978), somente quando uma doença é mensurada corretamente é que se pode demonstrar o quanto de danos ela ocasiona. No caso de doenças foliares como manchas, a percentagem de área de tecido coberto por sintomas (severidade) geralmente retrata melhor a quantidade de doença que a incidência, parâmetro mais adequado para aquelas doenças que acometem a planta toda (viroses, murchas vasculares), ou para aquelas em que uma única infecção seja suficiente para impedir a comercialização do produto (AMORIM, 1995).

A precisa quantificação da severidade de doenças recorre a várias estratégias, dentre elas, destacam-se as escalas diagramáticas que são representações ilustradas de uma série de plantas, folhas ou partes de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996). As escalas diagramáticas devem ser de fácil uso, aplicáveis a uma grande faixa de diferentes condições, ter resultados reproduzíveis, possuir intervalo suficiente para representar todos os estágios de desenvolvimento da doença, e permitir uma avaliação imediata (BERGER, 1980).

Na sua elaboração, importantes aspectos devem ser considerados tais como, os limites inferiores e superiores que devem corresponder, respectivamente, à mínima e máxima quantidade de doença encontrada no campo; a plotagem dos sintomas, devendo estar o mais próximo possível daqueles observados na planta; e os níveis intermediários da severidade da doença, atentando para as limitações de acuidade da visão humana, como definidas pela “Lei do estímulo de Weber-Fechner” (HORSFALL e BARRATT, 1945; NUTTER JR. e SCHULTZ, 1995).

Embora a determinação de esquemas de amostragem seja comum (BOLFARINE e BUSSAB, 2000; COCHRAN, 1965), não foram encontrados trabalhos referentes à mancha graxa, seja no que se refere à amostragem para estimativa de incidência ou de severidade. Em estudo realizado na Costa Rica, quantificou-se a proporção de folhas sintomáticas e, a severidade, por meio de uma adaptação da escala de Horsfall-Barratt. Nesse caso, cada folha foi avaliada obtendo-se assim a estimativa da área com sintomas de mancha graxa (HIDALGO et al., 1997). Apesar do rigor das avaliações, esses autores não informam da realização de estudos prévios de amostragem para definição do tamanho de amostras.

Considerando que o desenvolvimento de procedimentos de campo relacionados a métodos de levantamento e amostragem são indispensáveis para a correta quantificação das doenças, este trabalho teve como objetivos: determinar o tamanho mínimo de amostras para quantificar a incidência da doença, caracterizar a sintomatologia da mancha graxa dos citros no Recôncavo Baiano e elaborar uma escala diagramática para a avaliação da severidade da doença.

Material e Métodos

Determinação de número mínimo de amostras

A amostragem piloto foi feita em maio de 2006, quando 10 pomares no município de Cruz das Almas foram avaliados por duas pessoas previamente treinadas no reconhecimento de sintomas foliares típicos da doença. Para tanto, as avaliações foram estratificadas em plantas, quadrantes (quatro por planta) e folhas (cinco por quadrante); o caminhamento dentro de cada pomar seguiu padrão em "W", avaliando-se 30 plantas em cada um deles. A partir desses dados foi determinado o número mínimo de plantas por pomar para estimar a incidência de mancha graxa em pomares, quadrantes e folhas, usando a seguinte equação:

$$e = t_{(\alpha/2; n-1)} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

e = erro admitido para a amostragem (5%);

t = valor tabelado da distribuição de t com nível de significância α de 1% e n-1 graus de liberdade;

S = desvio padrão amostral;

n = tamanho da amostra.

Caracterização de sintomas

Em 11 pomares comerciais do município de Cruz das Almas, Bahia, foram coletadas 320 folhas de laranja-doce 'Pêra', uma folha por árvore, com sintomas típicos e diferentes níveis de severidade de mancha graxa dos citros. As folhas foram digitalizadas em scanner de mesa e, em seguida, com auxílio do programa

APS Assess 2002, foi determinada a área foliar total, número de lesões, área total lesionada e severidade da doença em cada folha, valores mínimos e máximos de severidade.

Escala diagramática

Para a elaboração da escala diagramática foram utilizados os dados e imagens obtidos na caracterização dos sintomas. No processo de validação da escala, das 320 folhas digitalizadas, foram selecionadas 50 imagens contendo os sintomas de mancha graxa dos citros nos diferentes níveis de severidade e inseridas em slides individuais para visualização no Microsoft® Power Point 2000.

Na primeira etapa, 32 avaliadores com experiência variada na quantificação de doenças, foram submetidos à visualização das 50 imagens e estimaram a severidade de cada uma delas. Um mês após a primeira avaliação, os mesmos avaliadores fizeram outra avaliação das mesmas 50 imagens com o auxílio da escala diagramática.

Através de regressão linear simples, cuja variável independente foi a severidade real obtida eletronicamente e, como variável dependente, a severidade estimada pelos avaliadores, determinou-se a acurácia e a precisão de cada um deles. A acurácia das estimativas foi determinada pelo teste t aplicado ao intercepto da regressão linear (a), para verificar se foi significativamente diferente de 0, e ao coeficiente angular da reta (b), para testar se foi significativamente diferente de 1, ao nível 5% de probabilidade de erro. Valores de intercepto diferentes de 0 indicam a ocorrência de constantes desvios, enquanto valores de coeficiente angular da reta diferentes de 1, indicam a presença de desvios sistemáticos (NUTTER et al., 1993). A precisão das estimativas foi obtida pelos coeficientes (R^2) e erro padrão da regressão (KRANZ, 1988; NUTTER et al., 1993).

Resultados e Discussão

Determinação de número mínimo de amostras. Para esse procedimento trabalhou-se apenas com dados obtidos em um município, pois conforme dados de Laranjeira et al. (2003), a mancha graxa ocorreria na totalidade dos pomares e plantas do Recôncavo Baiano. De fato, a amostragem piloto revelou que 100% dos pomares e 100% das plantas apresentavam sintomas da doença. Assim sendo, para estudos de prevalência em pomares ou incidência de plantas afetadas, o número de amostras poderá ser o mínimo possível, ou seja, um pomar e uma planta, respectivamente. Por outro lado, 97,1% dos quadrantes e 44,2% das folhas apresentaram sintomas. Em consequência, estimou-se em quatro e 16 plantas o número mínimo para estimativa da incidência da mancha graxa em quadrantes e em folhas, respectivamente, amostrando-se os quatro quadrantes de cada planta e cinco folhas por quadrante.

O baixo número de amostras requeridas é uma implicação direta da alta incidência da doença, mas também da baixa variação observada entre unidades amostrais, sejam pomares, plantas ou quadrantes. Essa constatação sustenta a hipótese de que a mancha graxa esteja mais disseminada do que se poderia prever, contrastando com o fato dela ser considerada uma doença secundária na citricultura. Estudos futuros devem considerar aspectos espaço-temporais de sua epidemiologia, incluindo a verificação da existência de áreas indenes, sejam na Bahia ou em outras regiões do Brasil.

Caracterização de sintomas. Na amostra analisada, os sintomas observados foram idênticos aos qualitativamente descritos na literatura (HIDALGO et al., 1997; WHITESIDE, 1988), isto é, lesões foliares de aspecto oleoso, variando do marrom brilhante ao preto, com margens difusas, envoltas em halo amarelo-esverdeado de tamanho irregular. Notou-se que nem sempre o halo podia ser identificado e que na face inferior das folhas ele não ocorria. As lesões foram observadas tanto na face superior quanto na inferior das folhas, mas na superior apenas as maiores lesões eram percebidas. Na face inferior, ao contrário, lesões de distintos tamanhos eram notadas.

Nas condições do Recôncavo Baiano, o valor máximo de severidade de mancha graxa observado nas folhas de laranja 'Pêra', coletadas em plantios comerciais, foi de 35,85%, enquanto que o valor mínimo foi de 0,15% (Figura 1). A

severidade média foi de 7,3% e a mediana de 10%. Além da severidade média não ser muito alta, mais de 50% das amostras apresentaram menos de 5% de área foliar lesionada (Figura 1). Situação similar foi encontrada por Hidalgo et al. (1997) na Costa Rica, que relataram severidade média de até 5%.

O número de lesões por folha teve como valores máximo e mínimo 1078 e 11, respectivamente, com média de 131 e mediana de 114. Do total de folhas, 78,7% apresentaram entre 11 e 200 lesões, 15,8% apresentaram entre 200 e 300 lesões, 4,3% apresentaram entre 300 e 500 lesões e apenas 1,2% estavam no patamar acima de 500 lesões por folha.

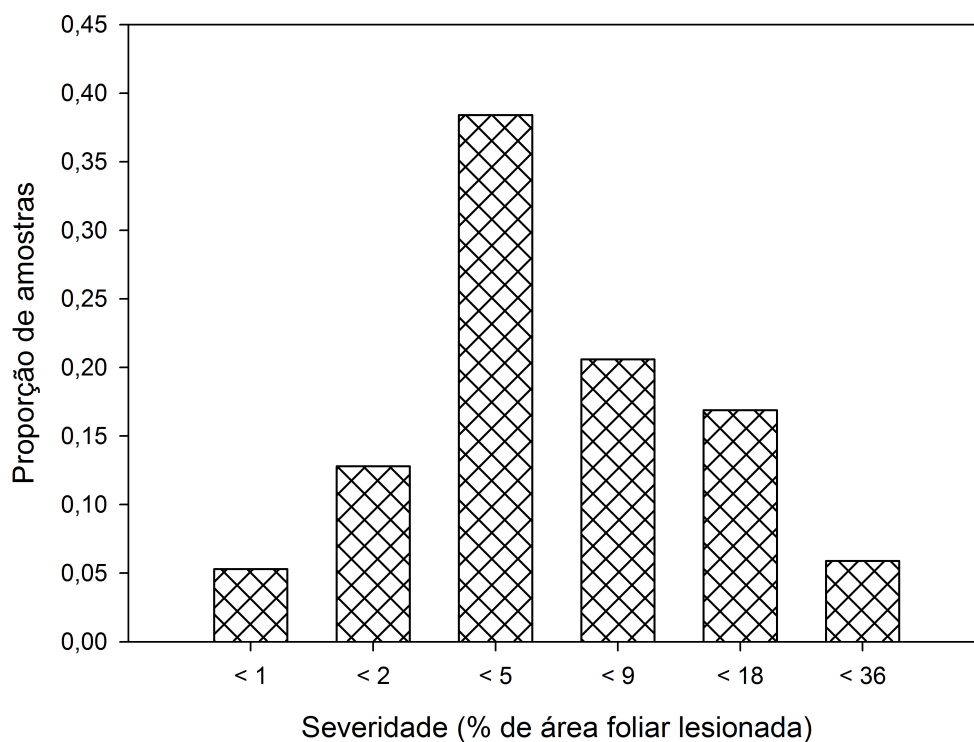


Figura 1. Distribuição, em termos percentuais, da severidade real de mancha graxa dos citros nas amostras analisadas de folhas de laranja 'Pêra', Cruz das Almas / BA.

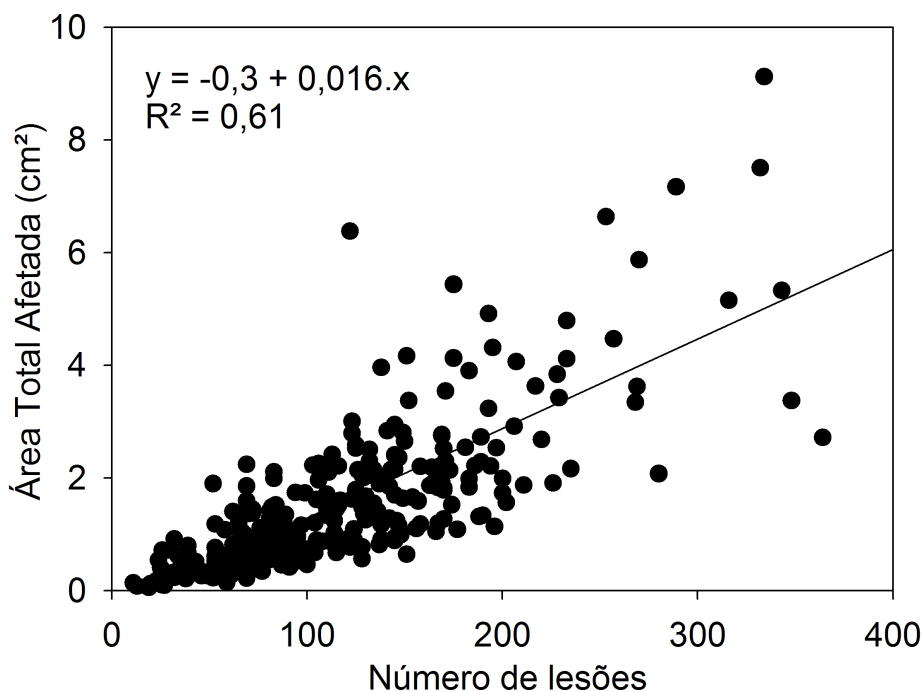


Figura 2. Distribuição do número de lesões por área foliar total afetada (cm²), em amostras de laranja 'Pêra' do município de Cruz das Almas / BA.

Constatou-se uma variação entre 0,0025 e 0,084 cm² para tamanho médio das lesões, com média de 0,014 cm² e mediana de 0,012 cm². Das folhas amostradas, a área média de lesão foi inferior a 0,01 cm² para 38% das folhas, variou entre 0,01 e 0,02 cm² para 43% das folhas, entre 0,02 e 0,03 cm² para 14% das folhas e entre 0,03 e 0,04 cm² em 3% das folhas.

De maneira geral, pode-se considerar como alto o número de lesões por folha, mas baixa a área ocupada por cada lesão. Isso explica a boa relação entre número de lesões e a área foliar total afetada (Figura 2). De acordo com os relatos de Whiteside (1988); e Timmer e Gottwald (2000), a extensão da área lesionada é função do crescimento epifítico do fungo. Tomando-se essa afirmação como base, pode-se inferir então que o padrão observado para a doença neste trabalho denota uma grande densidade de inóculo depositada nas folhas, mas de crescimento epifítico limitado. A hipótese da densidade de inóculo alta é corroborada pelos resultados da amostragem piloto. No entanto, a hipótese de limitação no crescimento epifítico deverá ser testada, pois, de acordo com a literatura especializada, o Recôncavo Baiano apresentaria boas condições climáticas para a ocorrência da mancha graxa (WHITESIDE, 1988; HIDALGO et al., 1997).

Escala Diagramática. No processo de digitalização das folhas, usou-se sua face inferior com o propósito de desconsiderar o halo amarelado das lesões, comum na superfície superior, e que em testes preliminares interferiu de maneira aleatória na determinação eletrônica da severidade.

Considerando a lei de Weber-Fechner de acuidade visual (HORSFALL e BARRAT, 1945; NUTTER JR. e SCHULTZ, 1995), bem como a forma, distribuição e frequência das lesões, foi confeccionada uma escala diagramática com seis níveis de severidade: 1%, 2%, 5%, 9%, 18% e 36% (Figura 3).

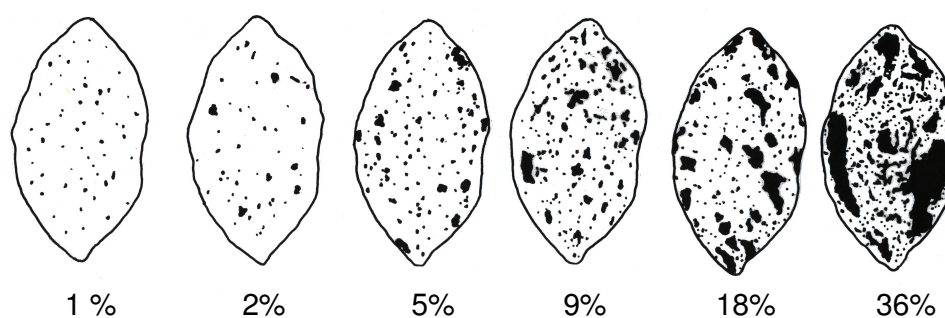


Figura 3. Escala diagramática da mancha graxa dos citros indicando os níveis de severidade observados em campo.

Dos 32 avaliadores, menos da metade apresentou, na segunda avaliação, performance superior à obtida na primeira que foi realizada sem o uso da escala. Este resultado indica que, em estudos futuros, será necessária uma seleção e treinamento prévio dos avaliadores quanto a quantificação de sintomas e uso específico da escala. A diferença observada entre os avaliadores na estimativa da severidade para mancha graxa dos citros corrobora as observações de Nutter e Schultz (1995) quanto à variação na capacidade entre indivíduos para distinguir níveis de doença. A qualidade da estimativa da severidade da doença, além de sofrer influência de estímulos e respostas psicológicas, pode ser influenciada por fatores como complexidade da unidade amostral, tamanho e forma das lesões, cor e número de lesões na unidade avaliada (KRANZ, 1988), fadiga e dificuldade de concentração na realização da tarefa (SHOKES, 1987).

Dos 15 avaliadores que tiveram performance melhorada (Tabela 1), a maioria nunca havia realizado qualquer tipo de quantificação de sintomas, resultando em regressões não significativas e coeficientes de regressão (R^2) muito baixos na

primeira avaliação. Comparando-se os resultados da primeira com os da segunda etapa da avaliação da escala diagramática, observou-se um incremento na precisão das estimativas, pois os R^2 variaram de 0,00 a 0,43 e 0,34 a 0,58, nas respectivas etapas. Além disso, observou-se uma sensível diminuição nos valores de erro padrão das regressões.

Nas duas etapas, utilizaram-se 32 avaliadores e apenas 15 apresentaram melhoria nas estimativas. Para a maioria dos avaliadores houve uma tendência em subestimar a doença, fato que é comprovado pelos valores do coeficiente angular da reta (b) significativamente menores que a unidade para 10 avaliadores na primeira avaliação e para oito, na segunda (Tabela 1).

O uso da escala permitiu uma diminuição nos valores médios da interseção (a) para todos os avaliadores, sendo que 40% deles apresentaram valores de (a) indistintos de zero na segunda avaliação (Tabela 1). Isso revela que o uso da escala proporcionou menos desvios constantes, além de incremento na acurácia dos avaliadores.

Tabela 1. Análise de regressão linear simples para estimativas da severidade de mancha graxa realizada por 15 avaliadores, em duas etapas, sendo a primeira sem e a segunda, com o uso a escala diagramática. Intercepto (a), coeficiente angular da reta (b), coeficiente de determinação (R^2) e erro padrão.

Avaliador	1ª Avaliação				2ª Avaliação			
	A	b	R^2	Erro Padrão	a	b	R^2	Erro Padrão
A	21.08	0.18	0.01	14.03	5.04	0.77*	0.56	6.02
B	12.67	0.16	0.01	11.51	1.70*	0.75*	0.55	5.87
C	20.56	0.28	0.04	10.17	3.45*	1.05*	0.56	8.16
D	23.19	0.36	0.03	15.30	3.08	0.64*	0.44	6.18
E	16.51	0.13	0.01	12.00	5.51	0.64*	0.48	5.85
F	24.23	0.09	0.00	12.58	7.36	1.00*	0.51	8.60
G	10.40	0.87*	0.33	10.72	2.90*	0.75*	0.42	7.72
H	12.35	0.87*	0.41	9.08	4.50	0.74	0.54	6.00
I	6.19	1.16*	0.35	13.78	1.30*	0.55	0.51	4.63
J	6.33	0.65	0.43	6.48	2.06*	0.63	0.47	5.81
K	12.10	0.59	0.19	10.66	5.14	0.61	0.34	7.36
L	8.06	0.74	0.42	7.67	4.87	0.51	0.53	4.21
M	8.03	0.79*	0.42	8.11	2.24	0.38	0.58	2.84
N	6.57	0.51	0.39	5.53	1.82*	0.50	0.46	4.73
O	12.09	0.84*	0.33	10.37	4.48	0.54	0.42	5.57

Valores de a e b marcados com asterisco não diferem de 0 e 1, respectivamente pelo teste t ($P < 0,05$).

Tendo em vista o discreto benefício observado na utilização dessa escala diagramática como ferramenta de avaliação da severidade da mancha graxa dos citros, fica claro que para a sua utilização, o sistema de avaliação precisa ser melhorado. Neste trabalho, não foi possível identificar causas únicas para o sucesso apenas modesto da escala. Uma das possibilidades seria a falta de treinamento dos avaliadores. No entanto, alguns avaliadores experientes não obtiveram sucesso ao estimar a severidade, seja com ou sem o auxílio da escala. Esse fato põe em dúvida a capacidade humana em distinguir algumas lesões causadas pela mancha graxa. Conforme demonstrado neste trabalho, as lesões em geral são muito pequenas, ao contrário de lesões causadas por outras doenças de citros, para as quais foram criadas escalas diagramáticas (AMORIM et al., 1993; RODRIGUES et al., 2002). Como além de pequenas são numerosas, ficaria difícil para o avaliador, mesmo com o uso da escala, condensar todo esse estímulo visual numa estimativa numérica. Isso contrasta com a precisão do programa utilizado para quantificação da severidade real (APS ASSESS 2002) que, possivelmente, consegue identificar tecido lesionado que seja ilegível ao alcance da visão humana.

Para que uma escala diagramática possa ser usada na estimativa da severidade da mancha graxa, talvez sejam necessários ajustes na escala e, portanto, a apresentada neste trabalho deve ser considerada preliminar. Além disso, para elevar o grau de confiabilidade e de repetibilidade dos resultados, será necessária a seleção prévia de avaliadores.

Até onde se pôde levantar, este é o primeiro trabalho com mancha graxa dos citros no Brasil. Por seu caráter pioneiro, os resultados obtidos são necessariamente referentes a aspectos básicos, que poderão servir como fundamento para trabalhos mais específicos. Como resultado da amostragem piloto, e conseqüência da alta prevalência e incidência encontradas, sustenta-se a hipótese da mancha graxa ser mais importante do que os citricultores normalmente consideram.

Referências Bibliográficas

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**, 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995, p.647-671.

_____ et al. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, n.2, p.174-180, 1993.

BERGAMIN FILHO, A. e AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais**: epidemiologia e controle econômico. Piracicaba/SP: Agronômica Ceres, 1996, 299p.

BERGER, R.D. Measuring disease intensity. In: TENG, P.S.; KRUPA, S.V. (Eds.) **Crop loss assessment**. St. Paul. University of Minnesota, 1980, p.28-31.

BOLFARINE, H.; BUSSAB, W.O. **Elementos de amostragem**. IME/USP: São Paulo, 2000. 280p.

COCHRAN, W.G. **Técnicas de amostragem**. Fundo de Cultura: Rio de Janeiro, 1965. 555p.

DIAZ, J.A.; BROWN, O. Influence of greasy spot (*Mycosphaerella citri*) Whiteside on Valence orange yields. **Centro Agricola**, Havana, Cuba, v.12, p.127-137, 1985.

HIDALGO, H.; SUTTON, T.B.; ARAUZ, F. Epidemiology and control of citrus greasy spot on Valencia orange in the humid tropics of Costa Rica. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v. 81, n.9, p.1015-1022, 1997.

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

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

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Eds.) **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p.35-50.

LARANJEIRA, F.F. et al. Fungos, procarotos e doenças abióticas. In: MATTOS JÚNIOR, D. et al. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico ; Fundag, 2005, cap.18, p.511-558.

_____ et al. Prevalência e incidência de doenças fúngicas em citros no Recôncavo Baiano e Litoral Norte da Bahia. In:XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2003, Gramado / RS. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza / CE, v. 28 (suplemento), p. 213, 2003.

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

_____.; SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.17, p.174-184, 1995.

RODRIGUES, J.C.V.; NOGUEIRA, N.L.; MACHADO, M.A. Elaboração e validação de escala diagramática para leprose dos citros. **Summa Phytopatologica**, v.28, p. 192-196, 2002.

SHOKES, F.M.; et al. Reliability of disease assessment procedures: a case study with late leafspot of peanut. **Oléagineux**, Paris, v.42, n.4, p.245-251, 1987.

TIMMER, L. W.; GOTTWALD, J. H. Greasy spot and similar diseases. In: TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. (Eds.). **Compendium of citrus disease**. 2.ed. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 2000, p. 25-29.

WHITESIDE, J.O. Greasy Spot and Greasy Spot Rind Blotch. In: **Compendium of citrus diseases**. MN / USA: The American Phytopathological Society, 1988. p. 15-17.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA ESPAÇO-TEMPORAL DA MANCHA GRAXA DOS CITROS (*Mycosphaerella citri* Whiteside) NO RECÔNCAVO BAIANO. ²

² Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Plant Pathology

CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA ESPAÇO-TEMPORAL DA MANCHA GRAXA DOS CITROS (*Mycosphaerella citri* Whiteside) NO RECÔNCAVO BAIANO.

Autora: Suely Xavier de Brito Silva

Orientador: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Resumo: A caracterização de um patossistema alicerçada em estudos do progresso espaço-temporal da doença, possibilita a compreensão da etiologia, dos mecanismos e eficiência de dispersão do patógeno, assim como a interferência de fatores abióticos. Assim, este trabalho objetivou a caracterização da dinâmica espaço-temporal da mancha graxa dos citros (*Mycosphaerella citri* Whiteside) no Recôncavo da Bahia. No estudo de incidência e prevalência foram estabelecidos quatro níveis hierárquicos: quadrante, planta, pomar e região. Ademais, foi testada a variabilidade espacial entre diferentes alturas de plantas (0,7m, 1,3m e 2,0m), para as quais não houve diferença estatística na incidência da doença. Levantamento realizado em 19 municípios do Recôncavo Baiano mostrou que a doença encontra-se em toda a região com prevalência de 100% dos pomares, com incidência em 100% das plantas e nunca inferior a 75% em folhas. A incidência apresentou sazonalidade com ciclos de três meses determinados pela análise de densidade espectral. Os valores de índice de dispersão (ID) sugeriram tendência de padrão espacial entre o aleatório e o uniforme para as unidades sintomáticas, confirmado pela regressão da Lei de Taylor Modificada para plantas e quadrantes, quando os parâmetros $\log(A)$ e b foram significativamente menores que 0 e 1, respectivamente. Esses resultados permitem caracterizar a mancha graxa dos citros no Recôncavo Baiano como uma endemia.

Palavras – chave: *Mycosphaerella citri*, dinâmica espaço-temporal, Recôncavo Baiano.

CITRUS GREASY SPOT (*Mycosphaerella citri* WHITESIDE) SPATIOTEMPORAL DYNAMICS CHARACTERIZATION IN THE RECÔNCAVO OF BAHIA.

Author: Suely Xavier de Brito Silva

Adviser: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Abstract: The characterization of a pathosystem based in its spatio temporal dynamics, enables the understanding of its etiology, mechanisms and efficiency of pathogen spread, as well as the interference of abiotic factors. Therefore, this study aimed to characterize the spatiotemporal dynamics of citrus greasy spot (*Mycosphaerella citri* Whiteside) in the Recôncavo of Bahia, Brazil. For incidence and prevalence studies four hierarchical levels (quadrant, plant, orchard and region) were established. Moreover, the spatial variability of incidence on leaves among different plants heights was tested (0.7 m, 1.3 m and 2.0 m) and no statistical difference was observed. A survey conducted in 19 municipalities in the Recôncavo Baiano showed that the disease is found throughout the region with prevalence of 100% in groves, 100% incidence in plants and never lower than 75% on leaves. It was found that incidence of greasy spot symptomatic leaves is seasonal following a three-month cycle. The values of dispersion index (ID) suggested a spatial pattern between random and uniform for symptomatic units, confirmed with the parameters of the binary Taylor law for plants or their quadrants, when $\log(A)$ and b were statistically lower than 0 and 1, respectively. These results allows the conclusion that citrus greasy spot is an endemic disease in the Recôncavo Baiano region.

Key - Words: *Mycosphaerella citri*, spatiotemporal dynamics, Recôncavo Baiano.

Introdução

A mancha graxa dos citros (*Mycosphaerella citri* Whiteside) é citada como importante enfermidade (TIMMER et al., 2000) em áreas cujas condições ambientais registram índices de umidade relativa do ar próximos de 100% sob prolongados períodos de elevadas temperaturas (WHITESIDE, 1988). Seus sintomas caracterizam-se como lesões foliares de aspecto oleoso, variando do marrom brilhante ao preto, com margens difusas, envoltas em halo amarelo-esverdeado de tamanho irregular o qual é mais evidente durante os primeiros estágios de desenvolvimento da enfermidade (HIDALGO et al, 1997). As manchas escuras aparecem na face inferior das folhas, em correspondência às áreas cloróticas na face superior que diminuem à medida que as outras evoluem (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000). *M. citri* também infecta frutos e produz manchas de aspecto oleoso na casca destes, afetando a qualidade externa e sua comercialização (TIMMER e GOTTWALD, 2000). A mancha graxa provoca queda prematura de folhas, acompanhada de redução no vigor e no tamanho de frutos (TIMMER et al., 2000). As perdas na produção podem chegar a 5 t/ha (DIAZ e BROWN, 1985).

Apesar de pesquisas revelarem a importância dessa enfermidade em diversas áreas de ocorrência, a exemplo das Américas do Sul e Central, Estados Unidos, Caribe e Ásia (TIMMER et al., 2000), no Brasil a mancha graxa dos citros não tem sido alvo de estudos. Na Bahia, segundo pólo citrícola do Brasil com mais de 50.00 ha, a doença foi observada a nível de 100% de prevalência e alta incidência (LARANJEIRA, et al., 2003). Apesar disso, não é considerada pelos agricultores como um fator limitante para a sanidade e produtividade da citricultura local.

Considerando as alterações anormais na forma, fisiologia, integridade ou comportamento dos vegetais causados pelas doenças (AGRIOS, 1997), a epidemiologia busca a compreensão dos desdobramentos resultantes das interações das populações de patógenos em populações de hospedeiros e as populações de lesões resultantes, sob a influência ambiental e antrópica (KRANZ, 1974). A caracterização de um patossistema alicerçada em estudos do progresso espaço-temporal da doença, possibilita a compreensão da etiologia, dos

mecanismos e eficiência de dispersão do patógeno, assim como a interferência dos fatores abióticos. Nesse contexto, é notável a ausência de estudos básicos sobre a mancha graxa no Brasil. Essa situação cria um paradoxo: a mancha graxa não é considerada relevante, mas sequer se conhecem suas épocas de ocorrência e sua distribuição espacial. Em outros países, embora sejam conhecidas as relações entre clima e épocas de liberação de ascósporos e infecção (GARCIA et al., 1980; MONDAL e TIMMER, 2002), são inexistentes os trabalhos com abordagem espacial de epidemias dessa doença.

No que se refere às variações estacionais da mancha graxa, em Cuba, tanto chuva, quanto umidade relativa do ar correlacionaram-se positivamente com a incidência da mancha graxa, haja vista o incremento da doença registrado nos meses de junho a outubro, cuja variação da umidade relativa esteve entre 84 e 90%, reflexo das chuvas caídas no período (GARCIA et al., 1980). Estudo realizado na Costa Rica (HIDALGO et al., 1997) relata que o padrão de liberação de esporos está intimamente associado com a distribuição sazonal de chuvas. Aqueles autores verificaram que o número de esporos capturados em armadilhas aumentou rapidamente em maio, atingindo o pico no início de junho, e declinando consideravelmente em julho, permanecendo baixo ao longo do resto do ano. Na Flórida, os pseudotécios desenvolvem-se lentamente nas folhas em decomposição durante o tempo seco da primavera, assim, a liberação dos ascósporos é retardada até que se iniciem as chuvas de verão e como resultado das infecções ocorridas, os sintomas surgem no inverno (TIMMER et al., 2000).

Considerando-se a importância da citricultura na Bahia e a ausência de estudos epidemiológicos básicos com a mancha graxa no Brasil, este trabalho objetivou a caracterização da dinâmica espaço-temporal da doença no Recôncavo da Bahia, na perspectiva de gerar informações importantes ao seu manejo e permitir a qualificação e quantificação da real importância dessa enfermidade.

Material e Métodos

Níveis Hierárquicos. Para melhor caracterização do patossistema, optou-se por trabalhar em diferentes níveis de hierarquia espacial, considerando-se o universo a ser avaliado: quadrantes das plantas, plantas, pomares e região (Recôncavo Baiano). Eles foram denominados de primeiro, segundo, terceiro e quarto nível, respectivamente. Além destes níveis hierárquicos, também foi testada a variabilidade espacial entre diferentes alturas de plantas.

Para orientar as decisões sobre logística e métodos aplicáveis aos demais níveis espaciais, optou-se por caracterizar inicialmente a incidência e prevalência da doença em pomares do Recôncavo da Bahia (nível hierárquico 4). Para tanto, adotou-se como critério a realização de avaliações apenas em municípios com área plantada acima de 100 ha (IBGE, 2007): Cachoeira, Cabaceiras do Paraguaçu, Castro Alves, Conceição da Feira, Conceição do Almeida, Cruz das Almas, Dom Macedo Costa, Governador Mangabeira, Jaguaripe, Maragogipe, Muniz Ferreira, Muritiba, Sapeaçu, São Félix, Santo Amaro da Purificação, São Felipe, Santo Antônio de Jesus, São Miguel das Matas e Varzedo. Dessa forma, 19 pomares foram georeferenciados e inspecionados, um por município. A escolha de apenas um pomar por município foi baseada nos resultados dos trabalhos de Laranjeira et al. (2003) e do capítulo anterior (amostragens-piloto).

Em cada unidade amostral, registrou-se a presença ou ausência dos sintomas da mancha graxa em 20 plantas, aleatoriamente inspecionadas, percorrido o pomar sob caminhamento em 'W'. A prevalência foi calculada como proporção de pomares com plantas sintomáticas e a incidência como a proporção de plantas sintomáticas em cada pomar.

Para as inferências relacionadas à dinâmica espaço-temporal nos níveis hierárquicos 1, 2 e 3, foram avaliadas mensalmente 30 plantas por pomar, em dez pomares situados nas localidades Pumba, Lisboa e Boca da Mata, no município de Cruz das Almas. Seguindo o caminhamento em 'W' em toda a extensão do pomar, as plantas foram escolhidas ao acaso, iniciando pelo quadrante leste, seguindo o sentido horário até completar a inspeção. Avaliou-se a presença de sintomas em

cinco folhas maduras originárias de distintos ramos de cada um dos quatro quadrantes das plantas. A partir desses dados foram calculadas as incidências para plantas, quadrantes e folhas. As observações foram realizadas no período de agosto de 2006 a outubro de 2007.

O último parâmetro avaliado foi a variabilidade espacial da incidência em diferentes alturas das plantas: 0,7m; 1,3m e 2,0m. Para esta avaliação, utilizou-se um pomar por localidade (Lisboa, Pumba e Boca da Mata). Nos pomares Lisboa e Pumba foram registrados dados para altura de 1,3m e 2,0m, enquanto que na Boca da Mata foram utilizadas as alturas de 0,7m, 1,3m e 2,0m. Adotou-se procedimento similar ao descrito anteriormente para a determinação da incidência em folhas, obtendo-se um total de 30 repetições para 0,7m e 90 repetições para as demais alturas. As médias foram transformadas por arco seno da raiz quadrada do valor, submetidas a ANOVA e comparadas por teste Tukey ($P < 0,05$). A altura de 0,7m foi comparada com as demais alturas considerando-se apenas as amostras do pomar Boca da Mata.

Análise do Progresso Temporal. Os dados mensais de incidência, referentes às médias das proporções de plantas, quadrantes ou folhas sintomáticas nos dez pomares foram utilizados para plotar as curvas de progresso temporal da doença. Para o estudo das curvas obtidas e de seus padrões cíclicos, aplicou-se a Análise da Densidade Espectral, ferramenta que avalia a interação entre funções seno e cosseno e que revela a duração dos ciclos do fenômeno, ou seja, qual o período de tempo em que eventos similares ocorrem (CHATFIELD, 1985). A análise foi realizada através do programa STATISTICA 5.0 e os dados passaram previamente pelo procedimento *Trend Subtract*, ajuste que permite eliminar tendências de aumento ou diminuição nos valores e restar apenas a tendência cíclica. Na análise de densidade espectral propriamente dita, as estimativas foram suavizadas pela janela Hamming de largura 3, para evitar os picos não representativos das variações temporais (LARANJEIRA, 2002).

Análise da Dinâmica Espacial. Os padrões espaciais da doença para o primeiro (quadrantes), segundo (plantas) e terceiro (pomares) níveis hierárquicos foram estudados a partir da determinação do Índice de Dispersão e do ajuste da Lei

de Taylor Modificada. Para tanto a incidência p em cada nível hierárquico foi calculada através da equação (MADDEN e HUGHES, 1995):

$$p = \sum X_i / nN$$

onde: $\sum X_i$ é o somatório do número de amostras sintomáticas em cada unidade amostral i , n é o número de amostras por unidade amostral e N é o número total de unidades amostrais em cada nível hierárquico.

Índice de Dispersão (ID). Baseado na relação entre a variância observada e a variância teórica binomial do processo em estudo, foi calculado o Índice de Dispersão (ID), através da equação (GOTTWALD et al., 1996):

$$ID = V_{obs} / V_{bin} , \text{ sendo:}$$

$$V_{obs} = \sum (X_i - np)^2 / n^2 (N-1) \text{ e } V_{bin} = p(1-p) / n$$

A hipótese de nulidade foi a de que o padrão observado era aleatório. Valores de ID estatisticamente iguais a 1 foram considerados indicativos de padrão aleatório (Teste χ^2 , $P < 0,05$), enquanto que valores estatisticamente superiores a 1 se constituíram como indicativos de agregação dos dados e valores inferiores a 1, indicativos de uniformidade.

Lei de Taylor Modificada. Para cada nível hierárquico submeteram-se os dados de V_{obs} e V_{bin} à lei de Taylor modificada (MADDEN e HUGHES, 1995) que, por meio de regressão linear relaciona a variância observada e a variância esperada, através da equação:

$$\log(V_{obs}) = \log(A) + b \log(V_{bin}) , \text{ em que } \log(A) \text{ e } b \text{ são parâmetros.}$$

As regressões foram feitas por meio do método dos quadrados mínimos, utilizando-se o programa STATISTICA 5.0, tendo sido considerado como variável independente o logaritmo das variâncias binomiais estimadas para cada avaliação e como variável dependente, o logaritmo das variâncias observadas. Da mesma forma, foi aplicada a regressão para os dados de todas as áreas e avaliações, em conjunto. A significância das relações entre $\log(V_{bin})$ e $\log(V_{obs})$ foi obtida pelo teste t e a adequação do ajuste do modelo aos dados foi determinada por meio dos valores dos coeficientes de determinação R^2 e dos padrões de distribuição dos resíduos, em

gráficos de resíduos *versus* valores previstos de $\log(v_{bin})$ (MADDEN e HUGHES, 1995). A normalidade dos resíduos foi testada de acordo com a técnica de Looney e Gullledge Jr. (1985).

A igualdade do parâmetro **b** a 1 foi testada através do teste *t* (MADDEN e HUGHES, 1995), usando a estimativa do parâmetro e seu desvio padrão (BANZATTO e KRONKA, 1995). A hipótese alternativa foi a de **b** > 1. Valores de **b** significativamente superiores a 1 ao nível de 5% de probabilidade foram considerados indicativos de agregação, valores estatisticamente iguais a 1, indicaram aleatoriedade (hipótese nula) e valores inferiores a 1 indicaram uniformidade.

Resultados e Discussão

Variabilidade Espacial em Diferentes Alturas de Plantas. Em qualquer das alturas constataram-se altas incidências de mancha graxa nas folhas, com percentagens de 93%, 90% e 91%, respectivamente para 0,7m, 1,3m e 2,0m, não havendo diferença estatística entre as alturas ($P < 0,05$). Resultado semelhante foi relatado por Mondal et al. (2003) quando verificaram que a intensidade da doença independe da altura das plantas. Esses autores afirmam que possivelmente isso acontece pelo fato dos ascósporos serem eficientemente dispersos pelo vento e por uma pequena quantidade destes ser suficiente para causar consideráveis infecções.

Prevalência e Incidência no Recôncavo da Bahia. Sintomas foliares da mancha graxa foram encontrados em todos os pomares avaliados. Mais que isso, 100% das plantas de todos os pomares apresentaram-se sintomáticas. Esses resultados permitem afirmar que a doença encontra-se dispersa em todos os municípios do Recôncavo da Bahia, em grau máximo de prevalência, independente de localização geográfica, de altitude, de idade dos pomares, ou das variedades plantadas. Como os resultados indicaram máximas prevalência e incidência, não foi possível e seria incoerente o cálculo de índices de dispersão ou qualquer outra medida associada a padrões espaciais. Ao não apresentar variação, pode-se considerar o padrão como altamente uniforme nesse nível da hierarquia espacial.

Esses dados, obtidos em áreas diferentes daquelas trabalhadas por Laranjeira et al. (2003), ratificam as conclusões desses autores e também estão de

acordo com os resultados da amostragem-piloto realizada no capítulo anterior, em dez pomares do município de Cruz das Almas, no Recôncavo Sul da Bahia.

Progresso Temporal. Em todas as avaliações a mancha graxa apresentou incidência de 100% na totalidade dos pomares, plantas e quadrantes das dez áreas monitoradas mensalmente no município de Cruz das Almas. Por outro lado, a incidência em folhas apresentou tendência ao incremento, com uma proporção de folhas sintomáticas variando de 0,77 a 0,96, ao longo de 15 meses de observações (Figura 1). Resultados similares foram obtidos na Costa Rica pois, naquele país, também houve progresso da incidência, a qual variou de 46 a quase 100% no período de 14 meses, compreendido de dezembro de 1994 a fevereiro de 1996 (HIDALGO et al., 1997).

A curva da incidência em folhas (Figura 1) não apresentou formato de uma curva de progresso típica e, portanto, não se procedeu o ajuste de modelos como o logístico ou o monomolecular. Embora tenha sido possível verificar a tendência linear dos dados ($y = 0,78 + 0,011 \cdot x$; $R^2=0,75$, sem padrão de resíduos), reflexo do incremento temporal na incidência, foi evidente a existência de ciclos, ratificando o caráter policíclico da doença. Esse fato foi observado em todas as áreas avaliadas, com pouca variação entre elas, como denota o baixo erro padrão observado em todas as avaliações (Figura 1).

A incidência apresentou três períodos mais evidentes de incremento, entre agosto e setembro de 2006, entre novembro de 2006 e março de 2007 e entre abril e outubro de 2007. Entre setembro e novembro de 2006 e entre março e abril de 2007 foram registrados decrementos na variável (Figura 1). Os valores mínimos nunca foram inferiores a 0,79 e os decrementos giraram ao redor de sete pontos percentuais para os dois períodos. Na Costa Rica, os menores valores de incidência em folhas estavam em torno de 46% (HIDALGO et al., 1997). As épocas de incremento ou diminuição da incidência não puderam ser associadas a uma estação específica do ano. No Hemisfério Norte - Costa Rica, Cuba e Flórida, EUA - ao contrário, registra-se que as menores incidências são sempre associadas a meados da primavera e o aumento ocorre durante o verão, período de mais alta umidade (HIDALGO et al., 1997; GARCIA et al., 1980, TIMMER et al., 2000).

A sazonalidade na curva de progresso era esperada, haja vista as flutuações registradas para os fatores pluviosidade, temperatura e umidade relativa

do ar (dados não apresentados), componentes climáticos que influenciam os processos de liberação e germinação de esporos e infecção pelo patógeno (WHITESIDE, 1970). Além disso, como essa doença é reportada como causadora de desfolha (DIAZ e BROWN, 1985; WHITESIDE, 1970), é natural que ocorra flutuação nos níveis de incidência em folhas.

Na Flórida, também foram observadas variações na incidência de mancha graxa, já que podem haver sucessivos ciclos da mancha graxa em qualquer período do ano. Assim, foi verificado que menor crescimento epifítico aconteceu nos meses mais secos, de outubro a maio, tornando-se ainda mais lento sob temperaturas frias, de novembro a fevereiro, sofrendo incremento no período de junho a setembro (MONDAL e TIMMER, 2003). Em Cuba, Garcia et al. (1980) registraram incremento na incidência e severidade da doença nos meses de junho e julho, período de chuvas e de elevados índices de umidade relativa do ar (84 a 90%), situação mantida até início do mês de novembro, o que permitiu relevante concentração de esporos no ar, conseqüentemente, maior probabilidade de infecção das brotações jovens. Infelizmente, a periodicidade da incidência foi apenas descrita na Flórida e no Caribe, sem haver uma quantificação dessa periodicidade, talvez porque lá, ao contrário do relatado aqui para o Recôncavo, existam períodos de diminuição drástica da incidência.

A análise de densidade espectral já foi utilizada para estudar padrões espaciais de amostras cíclicas de uma mancha foliar do feijoeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (HUDELSON et al., 1997). Para doenças de citros, Laranjeira (2002) lançou mão dessa técnica para estudar padrões temporais de variáveis associadas à clorose variegada. No presente estudo, a decomposição dos ciclos indicou que a curva de progresso apresentou periodicidade de três meses (Figura 2). Fatores ambientais, aspectos fisiológicos do hospedeiro e biologia do patógeno podem estar associados à periodicidade destes ciclos. No entanto, o mais provável é que esses ciclos estejam relacionados com o período de incubação requerido pelo patógeno, em torno de três a quatro meses, para laranja e pomelos (Mc GOVERN et al., 2003), assim como o período de liberação de ascósporos – parâmetro relevante para a epidemiologia da doença. Na Flórida, os ascósporos foram liberados por um período de 1,5 até quatro meses (WHITESIDE, 1970), enquanto que na Costa Rica, esta fase ocorreu entre quatro e seis semanas, haja

vista a acelerada decomposição da serrapilheira sob condições de excessiva umidade (HIDALGO et al., 1997). Entretanto, no presente estudo não foi monitorada a quantidade e periodicidade de ascósporos dispersos no ar.

A periodicidade de três meses na incidência implica que no Recôncavo da Bahia, assim como admitido para a Flórida (MONDAL e TIMMER, 2003) e Costa Rica (HIDALGO et al., 1997), a mancha graxa apresenta diversos ciclos de infecção ao longo de um ano. Com índices anuais de temperatura e precipitação variando de 20° a 38° C e de 700 até 1300 mm, respectivamente e umidade relativa do ar, próxima de 80% (ALVES e MELO., 2007) e inexistência de longos períodos sem chuva, o Recôncavo Baiano é uma região propícia à interação patógeno-hospedeiro nesse patossistema. Sob essas condições climáticas, os citros não apresentam período de repouso, já que em uma mesma planta podem-se encontrar sucessivas brotações (folhas em diferentes estádios fenológicos) (ALVES e MELO, 2007), situação que favorece sobremaneira as infecções por *M. citri* durante todo o ano.

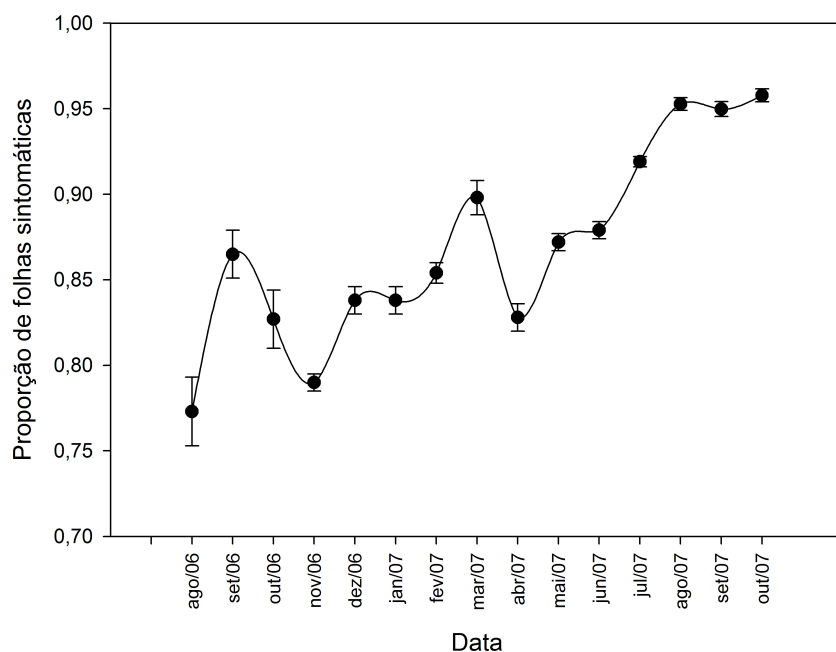
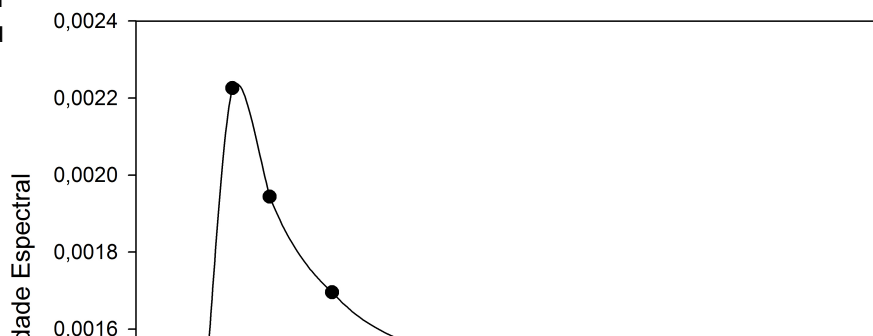


Fig
em
ou



dos citros
de 2006 e

Dinâmica Espacial. No primeiro nível da hierarquia espacial (quadrantes), 58% dos valores de ID foram estatisticamente similares à unidade, indicativos de aleatoriedade, enquanto 2% foram indicativos de agregação ($ID > 1$), e 40% indicaram padrão espacial uniforme, com $ID < 1$ (Figura 3A). No segundo nível de hierárquico (plantas), para 76%, 12% e 12% das observações o ID foram estatisticamente iguais, maiores e menores que 1, respectivamente (Figura 3B). Não foi observada relação entre valores do índice de dispersão ID e a incidência da mancha graxa em folhas, quer seja em quadrantes (Figura 3A), como nas plantas (Figura 3B).

A predominância da aleatoriedade da doença dentro das plantas e padrão aleatório tendendo para o uniforme no nível hierárquico quadrantes é confirmada pela evolução temporal da média dos valores de ID (Figura 4). Isso é reforçado pelos valores de erro padrão, muito baixos no caso dos quadrantes e um pouco maiores para as plantas. Embora tenha sido observada alguma sazonalidade para o ID em ambos níveis espaciais, a análise de densidade espectral não revelou uma periodicidade típica (dados não apresentados).

Para epidemias cuja incidência é dado primordial, a lei de Taylor modificada fornece parâmetros que resumem como a epidemia se comportou espacialmente.

Essa técnica e o índice de dispersão, foram usadas para analisar o padrão espacial no primeiro e segundo nível da hierarquia espacial definida neste trabalho. A regressão entre $\log(V_{bin})$ e $\log(V_{obs})$ foi altamente significativa em todos os casos ($P < 0,005$), porém com baixos coeficientes de determinação. Valores baixos de R^2 já eram esperados porque em cada avaliação diferentes plantas eram amostradas em cada área. Para ambos níveis espaciais os parâmetros resultantes da regressão, a e b , foram significativamente distintos e menores que 0 e 1, respectivamente (Figura 5).

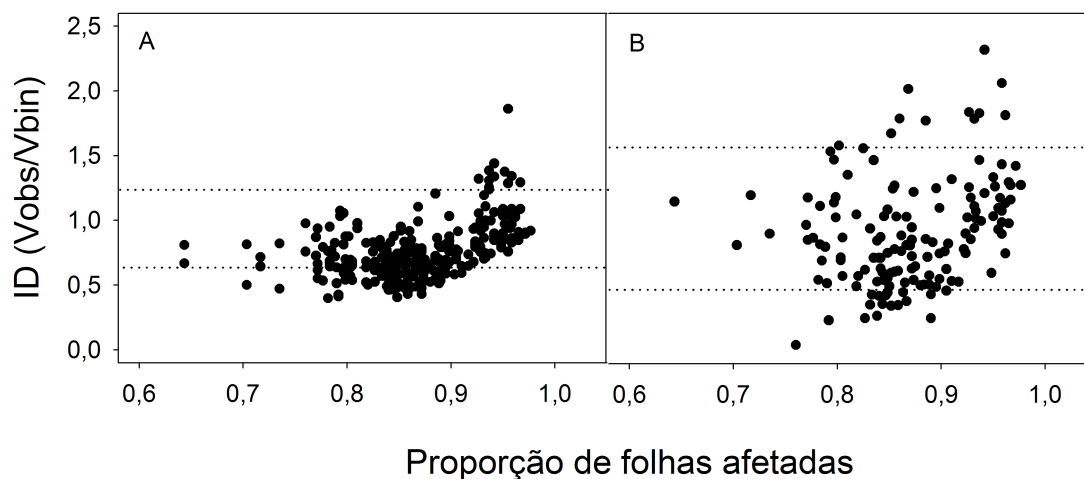


Figura 3. Realção entre a incidência em folhas e o índice de dispersão (ID) para mancha graxa dos citros, em quadrantes (A) e plantas (B), em dez pomares de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano. As linhas pontilhadas horizontais indicam os limites superior e inferior da aleatoriedade para cada nível espacial. IDs acima das linhas superiores indicam agregação e abaixo das linhas inferiores, uniformidade.

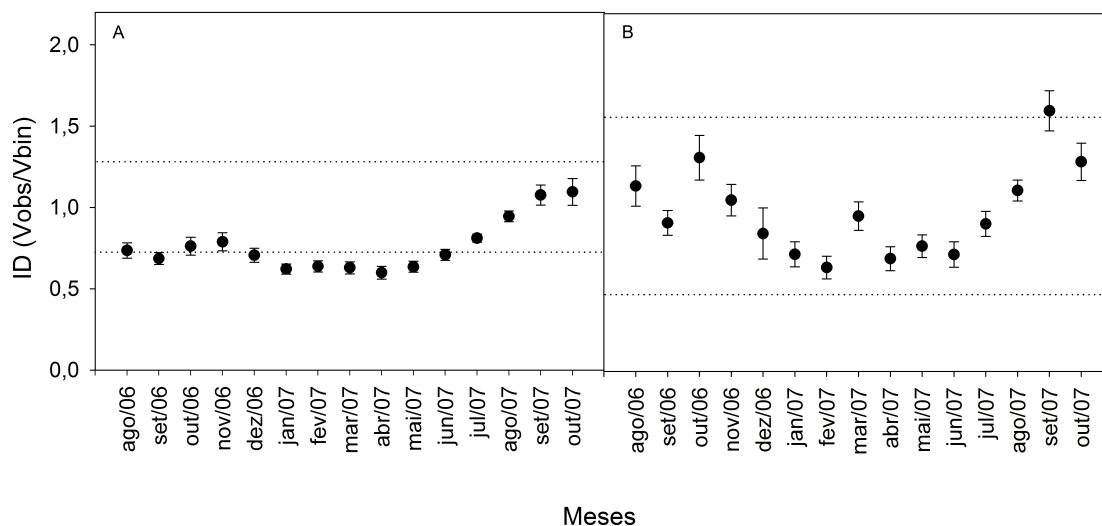


Figura 4. Evolução mensal do índice de dispersão (ID) para mancha graxa dos citros, em quadrantes (A) e plantas (B), em dez pomares de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano. Valores de ID indistintos de 1 indicam aleatoriedade; ID estatisticamente superior ou inferior a 1 indica agregação ou uniformidade, respectivamente (barras horizontais). As barras verticais em cada observação indicam o erro padrão.

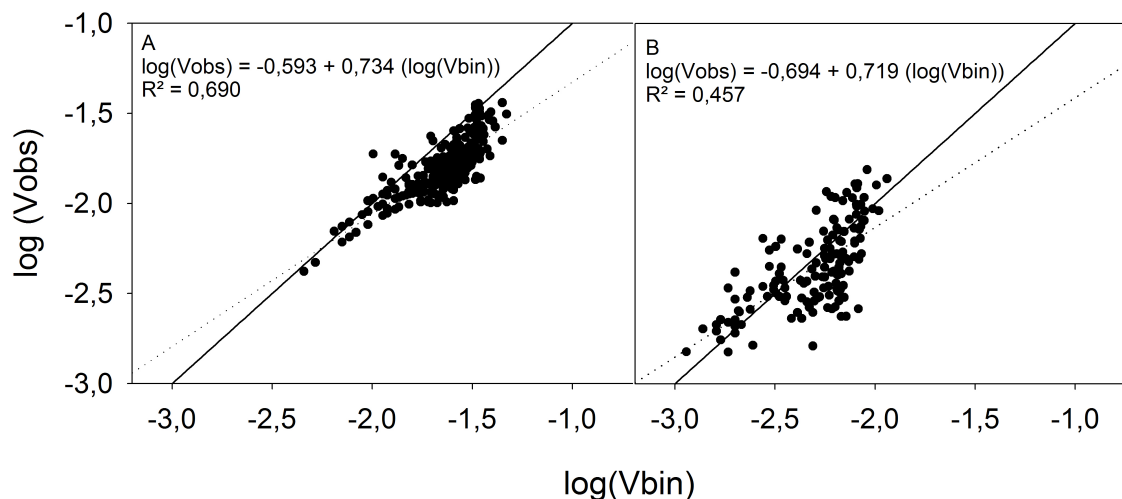


Figura 5. Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada e o logaritmo da variância binomial para a mancha graxa dos citros em quadrantes (A) e plantas (B), em dez pomares de Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia. A linha contínua representa a relação esperada numa situação de aleatoriedade e a linha pontilhada, a regressão obtida. Os parâmetros $\log(A)$ e b foram significativamente menores que 0 e 1, respectivamente, nos dois

O ajuste à Lei de Taylor pode ser considerada mais sensível que o cálculo do ID. Enquanto os valores de ID são interpretados isoladamente, ou seja, "fotos" do padrão espacial num dado momento, local e nível hierárquico, a regressão de Vobs por Vbin pode ser vista como um "filme" no qual o resultado é uma síntese das tendências do padrão espacial (MADDEN e HUGHES, 1995). Nesse contexto, os resultados aqui apresentados indicam uma tendência de uniformidade ($\log(A) < 0$ e $b < 1$) para os dois níveis espaciais. Essa tendência está de acordo com os resultados obtidos para o terceiro e quarto nível espacial, em que 100% das plantas e áreas apresentaram sintomas. A aparente contradição com os resultados do ID explica-se pelo fato dos valores de ID, apesar de estatisticamente indistintos de 1, foram, em sua maioria, numericamente menores que a unidade.

Os resultados deste trabalho mostraram que a mancha graxa dos citros encontra-se dispersa em todo o Recôncavo Baiano, com prevalência máxima nos pomares e máxima incidência em plantas e em seus quadrantes, independentemente da localização geográfica ou idade dos pomares. Esse fato, associado às altas incidências da doença nas folhas, ainda que cíclicas, parece

refletir a maneira como a mancha graxa tem sido tratada no Recôncavo da Bahia. Como nunca foi considerada importante, nunca foi controlada.

Mesmo que tenha sido notado um incremento na incidência foliar, a alta dispersão denotada pela tendência de uniformidade espacial confere à mancha graxa o *status* de endemia na região foco deste estudo. Nesse contexto, a mancha graxa não pode continuar sendo considerada como irrelevante para citricultura. No entanto, em função de seu caráter endêmico, é discutível se poderia passar para o rol das ocorrências fitossanitárias passíveis de manejo, haja vista a existência de continuidade temporal do hospedeiro (citros, uma cultura perene) e do patógeno (abundância de inóculo durante todo o ano face às favoráveis condições climáticas) e continuidade espacial do hospedeiro, representada pela existência de mais de 5000ha de citros na região.

Nas condições agroecológicas do Recôncavo Baiano, a citricultura vislumbra níveis tecnológicos distintos: um, caracterizado pelo modelo quase que extrativista, sem aprofundamento do conhecimento técnico-científico no entorno das questões ligadas ao manejo do pomar, fitossanidade, comercialização; outro, buscando ser um segmento importante do agronegócio estadual, adotando as tecnologias geradas pela pesquisa, observando as oportunidades mercadológicas, fortalecendo suas entidades representativas. Entretanto, interferir ou não num patossistema objetivando minimizar as perdas correlacionadas a este, depende do grau tecnológico adotado nos campos de cultivo, da avaliação custo-benefício das operações de controle, do nível organizacional do setor, das pesquisas disponíveis, da valorização do setor produtivo. Apesar disso, não há evidências de variação da incidência da doença entre os pomares em diferentes níveis tecnológicos.

Do ponto de vista teórico, o controle da mancha graxa no Recôncavo da Bahia seria uma tarefa que demandaria uma frequência de práticas e um custo que hoje não seria compatível com o nível tecnológico da sua citricultura. As altas prevalência e incidência são garantia de inóculo abundante; as condições climáticas são favoráveis à doença durante todo o ano, e a dispersão anemófila dos ascósporos de *M. citri* não permitem que se vislumbre um controle eficiente em pequenas áreas, situação típica dessa região.

Referências Bibliográficas

AGRIOS, G.N. Introduction. In: AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4. ed., San Diego: Academic Press, 1997. p.3-41.

ALVES, P.R.B; MELO, B. **Cultura dos citros**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/citros2.htm#CARACTERÍSTICAS%20BOTÂNICAS>>. Acesso: 04 out. 2007.

BANZATTO, D.A. e KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. 3.ed. Jaboticabal : FUNEP, 1995. 247 p.

CHATFIELD, C. **The analysis of time series: an introduction**. 3. ed. New York: Chapman e Hall, 1985, 286p.

DIAZ, J.A.; BROWN, O. Influence of greasy spot (*Mycosphaerella citri*) Whiteside on Valencia orange yields. **Centro Agrícola**, Havana, Cuba, v.12, p.127-137,1985.

GARCIA, R. et al. Variaciones estacionales de la enfermedad mancha grasienta (*Mycosphaerella citri*) en la region de Jaguey Grande, Matanzas. Citricos y otros frutales. **Centro Agrícola**, Havana, Cuba, suplemento, p.107-119, 1980.

GOTTWALD, T.R., et al. Spatial and temporal analyses of citrus tristeza virus in eastern Spain. **Phytopathology**, v. 86, p. 45-55,1996.

HIDALGO, H.; SUTTON, T.B.; ARAUZ, F. Epidemiology and control of citrus greasy spot on Valencia orange in the humid tropics of Costa Rica. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v. 81, n.9, p.1015-1022, 1997.

HUDELSON, B. D.; et al. Detection and description of spatial patterns of bacterial brown spot of snap beans using cyclic samples. **Phytopathology** , v.87, p.33-41, 1997.

IBGE. **Produção agrícola municipal (PAM)**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>> Acesso em: 08 jan. 2008.

KRANZ, J. Epidemiology concepts and scope. In: Raychauduri, S.P. & Verma, F.P. (Eds.). *Current trends in plant pathology*. Lucknow: University Botany Department, 1974. pp.26-32.

LARANJEIRA, F.F. **Epidemiologia da clorose variegada dos citros no Estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” /USP, Piracicaba/SP, 2002, 158p.

_____ et al. Prevalência e incidência de doenças fúngicas em citros no Recôncavo Baiano e Litoral Norte da Bahia. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2003, Gramado / RS. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras /MG, v. 28 (suplemento), p. 213, 2003.

LOONEY, S.W. e GULLEDGE Jr., T.R. Use of the correlation coefficient with normal probability plots. **The American Statistician**, v.39, n.1, p.75-79, 1985.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity and temporal analysis. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 529-564, 1995.

Mc GOVERN, R. J.; et al. Reduction of defoliation in citrus caused by *Mycosphaerella citri* with a novel biocompatible fungicide. **Plant Disease**, v. 87, p.143-138, 2003.

MONDAL, S. N.; TIMMER, L. W. The effect of urea, CaCO₃ and dolomite on pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v.87, p.478-483, 2003.

_____. Environmental factors affecting pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*, the cause of citrus greasy spot. **Phytopathology**, v. 92, p.1267-1275, 2002.

_____ et al. Environmental factors affecting the release and dispersal of ascospores of *Mycosphaerella citri*. **Phytopathology**, v. 93, p.1031-1036, 2003.

TIMMER, L. W., et al. Epidemiology and control of citrus greasy spot in different citrus-growing areas in Florida. **Plant Disease**. St. Paul, MN / USA. v.84, p.1294-1298, 2000.

_____.; GOTTWALD, T. R. Greasy spot and similar diseases. In: TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. (Eds.). **Compendium of citrus disease**. 2.ed. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 2000, p. 25-29

WHITESIDE, J. O., Etiology and epidemiology of citrus greasy spot. **Phytopatology**, St. Paul, v. 60, p.1409-1414, 1970.

_____. Greasy spot and greasy spot rind blotch. **Compendium of citrus disease**. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 1988, p.15-17.

CAPÍTULO 3

**CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA DESFOLHA
INDUZIDA PELA MANCHA GRAXA DOS CITROS (*Mycosphaerella citri*
Whiteside) NAS VARIEDADES 'BAHIA' E 'PÊRA', NO RECÔNCAVO BAIANO.³**

³Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico
Tropical Plant Pathology

CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA DESFOLHA INDUZIDA PELA MANCHA GRAXA DOS CITROS (*Mycosphaerella citri* WHITESIDE) NAS VARIEDADES 'BAHIA' E 'PÊRA', NO RECÔNCAVO BAIANO.

Autora: Suely Xavier de Brito Silva

Orientador: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Resumo: Considerando os relatos científicos das importantes áreas produtoras de citros da América do Norte (Flórida, USA) e Caribe (Cuba e Costa Rica) sobre a desfolha induzida por mancha graxa dos citros (*Mycosphaerella citri*); as condições ecológicas do Recôncavo da Bahia e o desconhecimento a respeito do complexo patógeno-hospedeiro-doença nessa região, este trabalho teve como objetivo caracterizar o padrão espaço temporal da desfolha nas variedades de laranja doce 'Bahia' e 'Pêra'. Desse modo, foram registradas as variações climáticas referentes à temperatura, pluviosidade e umidade relativa do ar, assim como a desfolha semanal. O experimento também contemplou a comparação entre plantas tratadas mensalmente com fungicidas, cuja serrapilheira foi removida, e testemunhas. Não foram encontradas diferenças significativas entre variedades ou tratamentos. Considerando-se a média de folhas caídas por m² e área média das copas, estimou-se o total de desfolha anual na ordem de 32000 folhas para laranja 'Bahia' e 18500 para a 'Pêra'. Por meio da análise de densidade espectral verificou-se sazonalidade para a desfolha, com ciclo principal de cinco semanas para ambas variedades. O padrão espacial agregado de desfolha, determinado pelo índice de Morisita padronizado foi similar para as duas variedades estudadas. A desfolha mensal por área de copa, para as duas variedades, foi correlacionada positivamente com a incidência média da doença e, negativamente, com a umidade relativa do ar. A desfolha pode ser considerada intensa, resultando em baixa densidade foliar ao longo do ano.

Palavras – Chave: *Mycosphaerella citri*, citros, desfolha.

CHARACTERIZATION OF SPATIOTEMPORAL PATTERNS OF CITRUS GREASY SPOT (*Mycosphaerella citri* WHITESIDE) INDUCED DEFOLIATION OF 'BAHIA' AND 'PÊRA' SWEET ORANGE VARIETIES IN THE RECÔNCAVO OF BAHIA, BRAZIL

Author: Suely Xavier de Brito Silva

Adviser: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira

Abstract: Considering the scientific reports of major citrus producing areas of North America (Florida, USA) and the Caribbean (Cuba and Costa Rica) about citrus greasy spot (*Mycosphaerella citri* Whiteside) induced defoliation, the ecological conditions of Recôncavo of Bahia and the lack of knowledge about pathogen-host-environment interactions in that region, this study aimed at characterizing the spatio-temporal patterns of defoliation in sweet orange varieties 'Bahia' (Washington Navel) and 'Pêra'. Temperature, rainfall and air relative humidity were recorded, as well as weekly defoliation (fallen leaves/canopy m² or m³). The experiment also included a comparison between plants monthly treated with fungicides, from which litter was removed, and controls. There were no significant differences between varieties or treatments. Considering the mean of fallen leaves per canopy m², and mean canopy area, the total annual defoliation was estimated around 32000 leaves for 'Bahia' and 18500 for 'Pêra' sweet orange. Spectral density analysis showed that defoliation has a five weeks long main cycle for both varieties. Standardized Morisita index revealed aggregated spatial patterns at all evaluations for both varieties. Monthly number of fallen leaves per canopy area was positively correlated to mean greasy spot incidence on leaves, and negatively correlated to air relative humidity. Defoliation can be considered significant in Recôncavo Baiano region, resulting in a low leaf density throughout the year.

Key Words: *Mycosphaerella citri*, citrus, defoliation.

Introdução

A mancha graxa dos citros, causada pelo fungo *Mycosphaerella citri* Whiteside, produz lesões foliares de aspecto oleoso, variando do marrom brilhante ao preto, com margens difusas, envoltas em halo amarelo-esverdeado de tamanho irregular, o qual é mais evidente durante os primeiros estágios de desenvolvimento da enfermidade (HIDALGO et al, 1997). As manchas escuras aparecem na face inferior das folhas, em correspondência às áreas cloróticas na face superior que diminuem à medida que as outras evoluem (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000). *M. citri* também infecta frutos e produz manchas de aspecto oleoso na casca destes, afetando a qualidade externa e sua comercialização (TIMMER e GOTTWALD, 2000).

De maneira geral relaciona-se essa doença à prematura queda de folhas, acompanhada de redução do vigor das plantas e do tamanho dos frutos (TIMMER e GOTTWALD, 2000). Por esse motivo, é citada como uma doença importante para regiões que apresentam umidade relativa do ar próxima de 100% e elevadas temperaturas por períodos prolongados (WHITESIDE, 1988), a exemplo das Américas do Sul e Central, Flórida (EUA) e Caribe (TIMMER et al., 2000). Estudos realizados por Timmer e Graham (2000) relatam que, na Flórida, os danos foram de 25 e 45% na produção de laranja doce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) e pomelo (*C. paradisi* Macfad), respectivamente, conseqüência atribuída à desfolha. A conclusão semelhante chegou Diaz e Brown (1985), que relataram nas condições da província de Matanzas, Cuba, danos de 23% à produção de frutos de laranja doce 'Valência'.

Os ascósporos do fungo são produzidos nos pseudotécios localizados nas folhas em estado de decomposição no solo dos pomares (serrapilheira). Sob condições de prolongados períodos de elevadas temperaturas, entre 25 e 30°C, e umidade relativa do ar próximo de 100%, os esporos são liberados e lançados ao ar, reiniciando o ciclo infeccioso ao atingem folhas jovens (WHITESIDE, 1970). Após dispersão anemófila e deposição na superfície das folhas, os ascósporos germinam num período de 7h a 20°C, 6h a 25°C e 4h a 30°C e, em condições de seca, podem sobreviver por até 142 horas (WHITESIDE, 1974). A penetração se dá através dos

estômatos localizados na parte abaxial das folhas, após crescimento epifítico (MONDAL et al., 2003).

A desfolha, além do dano que causa às plantas por redução da sua área foliar, produz serrapilheira que torna-se um substrato adequado para o desenvolvimento dos pseudotécios e, conseqüentemente, à liberação dos ascósporos (HIDALGO et al., 1997), possibilitando assim a manutenção do ciclo do patógeno. Na Flórida, a maioria das infecções ocorre durante o verão chuvoso, os sintomas aparecem de novembro a janeiro e, a maior desfolha, de fevereiro à março (MONDAL e TIMMER, 2003). Na Costa Rica, a estação seca está compreendida de janeiro a abril (<100mm de chuva ao mês), seguindo-se a estação chuvosa, de maio a setembro (100mm < chuva ao mês < 500mm), sendo o período de desfolha em março (HIDALGO et al., 1997).

Nas condições climáticas da Flórida (USA) a infecção das folhas por *M. citri* se dá após o início da estação chuvosa (Julho e Agosto). O patógeno cresce lentamente no mesófilo foliar, por aproximadamente quatro meses, até que os sintomas de clorose e necrose sejam visíveis (MONDAL et al., 2003; Mc GOVERN et al., 2003).

Em culturas de clima temperado, patógenos tendem a ciclos de vida estritamente adaptados à fenologia do hospedeiro (MONDAL et al., 2003). Contudo, não há evidências de que isto ocorra com *Mycosphaerella citri*. Primeiro, pelo fato de que as folhas de citros são susceptíveis mesmo depois de maduras (TIMMER e GOTTWALD, 2000), depois, as condições climáticas são favoráveis para infecção e desenvolvimento durante a maior parte do ano. Então, ascomicetos patógenos de cultivos tropicais e subtropicais, tais quais citros, tendem a produzir sucessivos ciclos ao longo do ano (TIMMER et al., 2000). Estudando a mancha graxa dos citros, Timmer et al. (2000) afirmaram que na Flórida (USA), o único fator ambiental que parece retardar o aparecimento dos sintomas, reduzir a infecção e desfolha é a baixa temperatura (inferior a 20° C). Já no Texas (USA), além dos benefícios mencionados acima, conseqüentes das baixas temperaturas, a mancha graxa não consegue afetar os rendimentos (TIMMER et al., 1980).

Valores próximos de 100% de UR são essenciais para germinação dos esporos e crescimento epifítico de *M. citri*. Aparentemente, água líqüida não produz nenhuma vantagem adicional ao fungo, entretanto, as chuvas influenciam na

determinação do período de liberação dos ascósporos (WHITESIDE, 1974). Em períodos de escassez de chuvas, são os eventos de orvalho os responsáveis pelo fornecimento de umidade ao processo de germinação dos esporos (HIDALGO et al., 1997).

As espécies e variedades cítricas reagem de maneiras distintas à mancha graxa. Sintomas foliares são encontrados em todos os citros, mas é mais severa em limão (*Citrus limon*), em pomelo (*C. paradisi* Macf.) e seus híbridos (TIMMER et al., 2000; MONDAL e TIMMER, 2003). Dentre as laranjas doces, consideram-se as de maturação precoce como as mais suscetíveis, enquanto que laranjas do tipo Valência apresentam menor severidade (WHITESIDE, 1988; TIMMER e GOTTWALD, 2000). No Recôncavo Baiano, a quase totalidade dos plantios citrícolas são de laranjas doces, com predominância das laranjas Pêra e Bahia, consideradas quanto a maturação como de meia estação e precoce, respectivamente (CUNHA SOBRINHO et al., 2004).

No Brasil, a mancha graxa tem ocorrência relatada (LARANJEIRA et al., 2005), mas é considerada uma doença de menor importância. De fato, não há registros dos danos que causa. Apesar disso, Laranjeira et al. (2003) e o capítulo 1 mostraram que no Recôncavo da Bahia essa enfermidade encontra-se com 100% de prevalência e de incidência em plantas. Além disso, em 15 avaliações mensais em 300 plantas de diversos pomares, Silva et al. (2008) relataram proporções de folhas sintomáticas variando de 0,77 a 0,96. Embora nunca tenha sido feito um estudo sobre a ocorrência de desfolha em plantas afetadas pela mancha graxa no Brasil, as plantas cítricas do Recôncavo da Bahia apresentam-se com baixo enfolhamento (Figura 1).



Figura 1 - Plantas de laranja doce Pêra em pomar do Recôncavo da Bahia. Notar o baixo enfolhamento.

Embora em outras regiões a doença seja controlada pela aplicação de fungicidas (HIDALGO et al., 1997; Mc GOVERN et al., 2003), provavelmente, o controle químico da doença não se aplica ao Recôncavo Baiano - uma região com características ecológicas que favorecem, sobremaneira, aos ciclos da doença, além de potencializar a suscetibilidade do hospedeiro, pois, durante todo o ano, há sucessivas brotações passíveis de infecção por *M. citri* (ALVES e MELO, 2007). Ademais, a partir do estudo epidemiológico desenvolvido no capítulo 2, os resultados encontrados – doença com grau máximo de prevalência na região, 100% em pomares e plantas; incidência de 100% em plantas e quadrantes avaliados, com percentual para folhas sintomáticas variando de 77% a 96%; padrão espacial oscilando do aleatório ao uniforme caracterizam este como um complexo

patossistema. Assim, considerando os fatores ecológicos, epidemiológicos, técnicos e sócio-econômicos, o manejo da doença no Recôncavo Baiano se constitui num desafio, haja vista as inúmeras possibilidades de insucesso.

Para fungos do gênero *Mycosphaerella*, o inóculo presente nas folhas em acelerado estágio de decomposição, localizadas na sub-copa das árvores (serrapilheira), exerce relevante influência na epidemiologia da doença. Na Flórida (EUA), uma aplicação de óleo mineral mais fungicida cúprico em junho ou julho (início do verão), seguida de uma segunda pulverização no final agosto, ou início de setembro (início do outono), controla a doença, inclusive para variedades altamente suscetíveis, tal como pomelo (grapefruit); assim como em áreas com elevada densidade de inóculo - aqueles pomares minimamente manejados ou pomares velhos - (Mc GOVERN et al., 2003; ROBERTS e TIMMER, 2001).

Isoladamente ou associados a óleos minerais, a utilização de fungicidas cúpricos (hidróxido de cobre) e benzimidazole (Benomyl) é freqüente, entretanto, alguns inconvenientes são registrados. Embora eficiente, em combinação de fungicida cúprico mais óleo mineral, o cobre comporta-se como inibidor do crescimento dos citrus, resultado do acúmulo até níveis tóxicos, em solos ácidos e reduzindo a colonização das raízes dos citrus pelo benéfico fungo micorrízico *Glomus intraradices* (ALVA et al., 1999; GRAHAM et al., 1986). Na década de 70, Benomyl foi amplamente utilizado para o controle da mancha graxa, porém, deixou de ser recomendado por causa da resistência desenvolvida por *M.citri* ao seu princípio ativo (WHITESIDE, 1980).

Para as condições da Flórida (EUA), nas estações secas do ano (outono e inverno), acelerar a decomposição das folhas depositadas na sub-copa das árvores, pelo fornecimento de irrigação (microaspersão) , ou adição de fertilizantes nitrogenados; ou promover a cobertura da serrapilheira ('mulch'), reduz o inóculo na primavera e estreita o período de infecções (TIMMER et al., 2000). A prática de irrigação também pode favorecer o crescimento de microorganismos saprofíticos que competiriam com *M. citri* por nutrientes disponíveis, ou seriam antagonistas ao patógeno (MONDAL e TIMMER, 2002).

Desse modo, a presente pesquisa teve como objetivos: caracterizar e quantificar a desfolha induzida pela mancha graxa dos citros, descrevendo seu padrão espaço-temporal, comparar a reação de duas variedades de laranja doce e

testar a hipótese de que o controle da doença nas condições do Recôncavo da Bahia não é eficaz.

Material e Métodos

Área experimental. O experimento foi instalado no sítio Pumba, distando aproximadamente 8 km da sede do município de Cruz das Almas, cujo pomar era constituído de laranjas doces, variedades 'Pêra' e 'Bahia', de seis anos de idade, plantadas sob espaçamento de 6m x 4m. A área é circundada por pomares de laranja 'Pêra' e lima ácida 'Tahiti'. O pomar está implantado sobre solo do tipo latossolo amarelo, plano e com baixa fertilidade natural. De cada variedade foram selecionadas 65 plantas, dispostas na área de maneira que estivessem afastadas umas das outras o suficiente para garantir uma bordadura de quatro árvores ao redor de cada unidade avaliada (uma planta/quadrante). De cada planta mediu-se a altura (distância vertical do ponto mais elevado da copa até o solo) e raio (metade do diâmetro médio da copa, medido em dois sentidos perpendiculares), a partir dos quais determinou-se a área ($\pi * (\text{raio}^2)$) e volume de copa ($2/3 * \pi * (\text{raio}^2) * \text{altura}$) (MENDEL, 1956).

Tratamentos. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (duas variedades, com e sem controle da mancha graxa), cada um com 13 repetições. Cada repetição constou de cinco plantas, uma útil e quatro em bordadura. A bordadura foi estabelecida por duas plantas no sentido das linhas e duas no sentido das entre-linhas. As árvores foram numeradas e, na altura do tronco, foram marcadas com tinta vermelha e amarela, representando os tratamentos controle e testemunha, respectivamente. Nos controles, as parcelas tiveram recolhidas semanalmente as folhas caídas na sub-copa (serrapilheira) e, uma vez ao mês, foram pulverizadas com fungicidas registrados para a cultura. Procedendo o rodízio de grupo químico, as árvores foram pulverizadas com oxiclóreto de cobre a 60% (Agrinose, 70g/20L de água), tiofanato-metílico a 70% (Cercobin 700 WP, 14g/20L de água) e difenoconazol a 25% (Score, 4,5 ml/20L de água). As aplicações foram realizadas com pulverizador costal Jacto

(20L), equipado com bico cônico sendo as plantas pulverizadas até o ponto de escorrimento.

Avaliação da Desfolha. As avaliações iniciaram-se na primeira semana de janeiro de 2007 e continuaram até a última semana de outubro do mesmo ano. Em cada repetição, debaixo de cada árvore útil foram depositados quatro recipientes plásticos de 37cm de diâmetro, um por quadrante, distando 1,0m do tronco, num total de 0,43m² de área para coleta das folhas caídas na sub-copa. As avaliações para quantificação do índice de desfolha tiveram frequência semanal, quando eram recolhidas e contadas as folhas caídas por quadrante/repetição/variedade. A partir desses dados e das medidas de área e volume das plantas foram calculadas as variáveis número de folhas caídas por m² e por m³ de copa. Além dessas, quantificou-se também a proporção de folhas sintomáticas caídas. As médias de cada tratamento foram submetidas à análise de variância.

Dinâmica Espaço-Temporal da Desfolha. Para o estudo das curvas de desfolha de cada tratamento e de seus padrões cíclicos, aplicou-se a Análise da Densidade Espectral, ferramenta que avalia a interação entre funções seno e cosseno e que, ao computar a frequência de picos das curvas, revela a duração dos ciclos do fenômeno, ou seja, qual o período de tempo em que eventos similares ocorrem (CHATFIELD, 1985). A análise foi realizada através do programa STATISTICA 5.0 e os dados passaram previamente pelo procedimento *Trend Subtract*, ajuste que permite eliminar tendências de crescimento ou diminuição nos valores e restar apenas a tendência cíclica. Na análise de densidade espectral propriamente dita, as estimativas foram suavizadas pela janela *Hamming* de largura 5, para evitar picos não representativos das variações temporais (LARANJEIRA, 2002).

O padrão espacial da desfolha foi determinado semanalmente pelo cálculo do índice de Morisita padronizado (KREBS, 1998) a partir de dados de variância e média da desfolha por planta em cada tratamento. O índice foi calculado por meio da seção *Spatial Patterns* do programa *Ecological Methodology*. As séries temporais resultantes foram estudadas pela análise de densidade espectral, seguindo os mesmos critérios mencionados acima.

Dados Climatológicos. Mediante as informações da estação meteorológica da EMBRAPA/CNPMPF, foram registradas as variações ocorridas no período para as seguintes variáveis: pluviosidade total (mm); dias de chuva; temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$) máxima, média e mínima; umidade relativa do ar (%) e insolação ($\text{MJ.m}^2.\text{dia}$). Para que a correlação destes fatores com a desfolha fosse possível, foram registrados os valores correspondentes ao período entre coletas semanais de folhas.

Para a análise de correlação incluíram-se as variáveis associadas à desfolha, a proporção média mensal de folhas sintomáticas na região, obtidas no capítulo 2 e as variáveis associadas ao clima. Para essas últimas, além dos valores originais, utilizaram-se também os valores submetidos ao procedimento *Trend Subtract*. A análise de correlação foi feita com dados semanais e com os dados agrupados por mês.

Resultados e Discussão

As árvores de laranjeira 'Bahia' apresentaram valores médios de $11,4 \pm 2,6 \text{ m}^2$ e $22,2 \pm 6,3 \text{ m}^3$, para área e volume de copa, respectivamente. Para os mesmos parâmetros de avaliação, as plantas de laranjeira 'Pêra' registraram $8,2 \pm 2,2 \text{ m}^2$ e $14,8 \pm 4,6 \text{ m}^3$. As laranjeiras 'Pêra' apresentaram menor área e volume de copa (Teste t, $P < 0,05$) do que as laranjeiras 'Bahia', apesar de terem mesma idade de plantio, o que já era esperado, considerando-se as características relatadas para essas variedades em outras regiões (PIO et al., 2005).

Não foram constatadas diferenças estatísticas entre os tratamentos para as médias de folhas caídas/ m^2 ou por m^3 de copa (Tabela 1). Estimando-se o total de folhas caídas por ano, com base na média por m^2 e na área média das copas, são encontrados totais de 32000 folhas para a laranja Bahia e 18500 para a Pêra. Esses números são expressivos quando comparados aos do único trabalho que menciona quantidade de folhas de laranjeiras. Turrel (1961), citado por Medina et al. (2005) observou que, na Califórnia, o número de folhas por planta de laranja Valência aumentou de 16.000 aos três anos, para 93.000 aos nove anos. Mesmo tratando-se de variedades e locais distintos e considerando ainda que citros apresentam um superávit na produção foliar até atingir a idade adulta e que a vida média útil das

folhas é de dois anos (MEDINA et al., 2005), pode-se inferir que as laranjeiras ‘Bahia’ e ‘Pêra’ do presente estudo sofrem anualmente uma redução significativa de sua área foliar. Pode-se deduzir também que deve haver um comprometimento da produtividade citrícola na região do Recôncavo da Bahia, embora isso não tenha sido quantificado.

A proporção de folhas caídas com sintomas variou de 0,94 a 1,00, conforme a semana, não havendo diferença estatística entre tratamentos (Teste F, $P > 0,20$). Os dados agrupados por mês (Figura 2) indicam uma tendência de aumento da incidência, além de mostrarem uma discrepância entre a proporção de folhas sintomáticas que caem e a proporção média de folhas sintomáticas em plantas da região. Duas possíveis explicações para essa diferença seriam o tempo de incubação da doença e a senescência natural das folhas. Em função do lento crescimento de *M. citri* no mesófilo, a manifestação macroscópica dos sintomas não ocorre antes de três a quatro meses pós-infecção (TIMMER e GOTTWALD, 2000; MONDAL e TIMMER, 2002). Assim, nas observações em plantas, nem todas as folhas infectadas exibiram os sintomas. Entretanto, a maior proporção de folhas sintomáticas na serrapilheira pode ser evidência do papel da mancha graxa na desfolha das plantas.

Comparando-se laranjeira ‘Bahia’ e ‘Pêra’, considerando a área da copa (m^2), observa-se que, para ambas, os picos de desfolha ocorreram nas mesmas épocas, ou seja, verificou-se sazonalidade semelhante para as variedades estudadas (Figura 3). Esse padrão foi similar para todos os tratamentos, mesmo quando se utilizou a variável de desfolha/ m^3 (dados não apresentados). A análise de densidade espectral mostrou que a desfolha em ‘Pêra’ e ‘Bahia’ apresentou como ciclo mais importante um período de cinco semanas (Figura 4). Esse padrão se repetiu para todos os tratamentos e variáveis.

Tabela 1. Valores médios semanais de folhas caídas por área e volume de copa (\pm erro padrão) para plantas de laranjas doces Bahia e Pêra de seis anos de idade, com ou sem controle da mancha graxa em Cruz das Almas, Bahia.

Variedade	Folhas caídas / m^2	Folhas caídas / m^3
Bahia ^x	54,3 \pm 5,7 a	28,7 \pm 3,0 a
Pêra	43,1 \pm 4,3 a	23,6 \pm 2,4 a

Bahia com Controle	52,5 ± 5,9 a	26,8 ± 3,0 a
Pêra com Controle	43,0 ± 5,1 a	25,3 ± 3,0 a

x Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

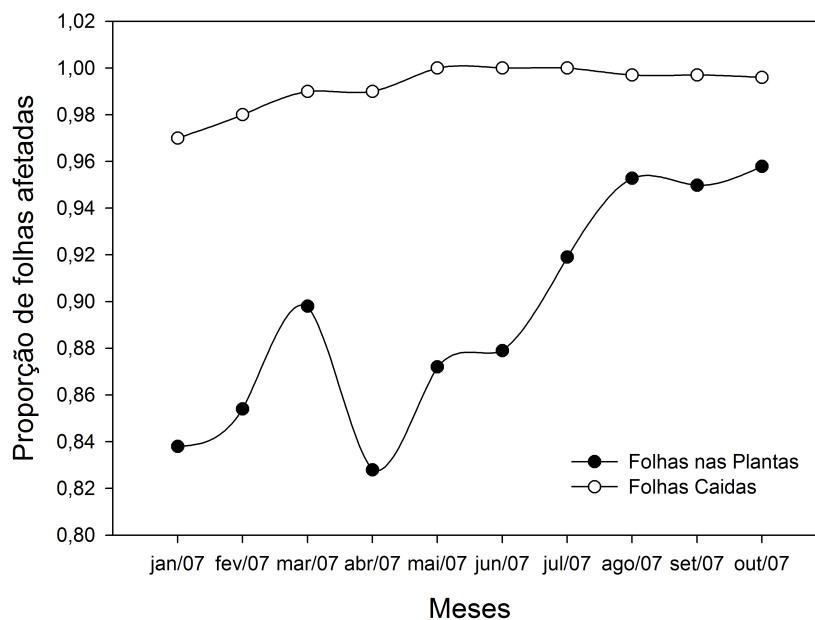


Figura 2. Evolução da incidência de mancha graxa em folhas caídas de laranjeiras doces e em folhas aderidas às plantas, município de Cruz das Almas/BA, no período de janeiro a outubro de 2007.

O índice de Morisita padronizado varia de -1 a 1. Valores entre -0,5 e 0,5 indicam padrão aleatório, enquanto os superiores a 0,5 indicam agregação. Esse foi o caso dos valores calculados para todos os tratamentos em todas as avaliações (Figura 5). Os valores médios foram significativos (P<0,001) e estiveram entre 0,507 e 0,512, sugerindo assim uma distribuição agregada no padrão de desfolha, independente da variedade estudada, ou dos tratamentos utilizados. Não foi detectado padrão específico de sazonalidade para o índice de Morisita. Estes resultados diferenciam-se dos encontrados no capítulo dois, pois, para a doença quantificada em folhas aderidas às plantas, o padrão variou conforme a avaliação, com tendência à uniformidade tanto dentro de quadrantes quanto dentro de plantas.

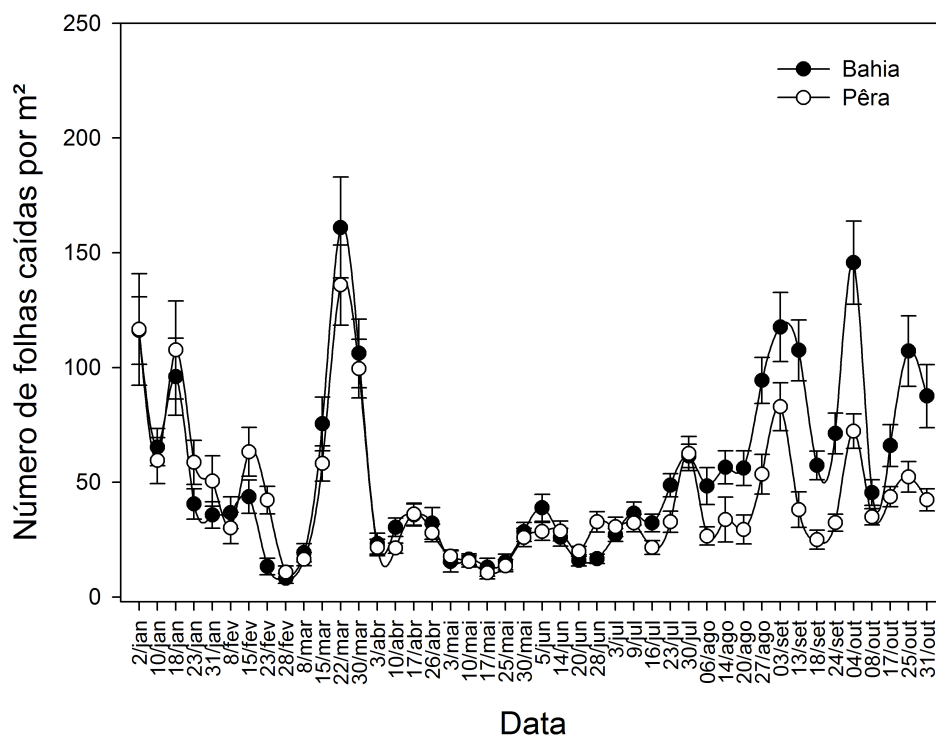


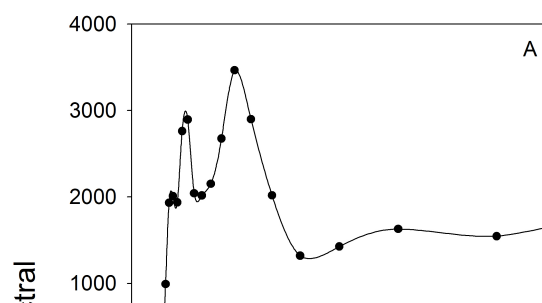
Figura 3. Sazonalidade da desfolha (número de folhas caídas/m²) de laranjeiras 'Bahia' e 'Pêra', sítio Pumba, município de Cruz das Almas/BA, no período de janeiro a outubro de 2007. Barras verticais em cada observação indicam o erro padrão.

A discrepância entre os padrões espaciais de desfolha e da doença indica que não apenas a doença deve ser responsabilizada pela queda das folhas considerando-se também que, nos citros, é comum a reposição contínua de folhas durante seu desenvolvimento (RODRIGUEZ, 1987). Quando a análise de correlação entre desfolha, incidência regional da doença em folhas e variáveis climáticas foi feita com os dados mensais (Figura 6), apenas a umidade relativa do ar e a proporção de folhas sintomáticas, ambas submetidas a procedimento de remoção de tendência, correlacionaram-se com o número de folhas caídas por m², para ambas

as variedades ($P < 0,10$). Outras variáveis, embora possam ter sido significativas, o foram para uma ou outra variedade apenas. No caso da umidade relativa do ar, URd, ($URa = UR - 3,769 - 0,947 * UR(mês+1)$; $URd = URa - 4,45 - 0,889 * mês$) a correlação foi negativa, com valores de R iguais a -0,69 e -0,66 para a 'Pêra' e 'Bahia', respectivamente. No caso da incidência em folhas, IFd, ($IFa = IF - 0,2730 - 0,682 * IF(mês+1)$; $IFd = IFa - 0,02 - 0,004 * mês$), a correlação foi positiva, com valores de R iguais a 0,55 e 0,57 para 'Pêra' e 'Bahia', respectivamente. Uma posterior regressão múltipla com a desfolha/m² como variável dependente e URd e IFd como independentes foi significativa ($P < 0,02$), com $R^2 = 0,69$ para Pêra e 0,67 para 'Bahia'. Esses resultados comprovam a influência da mancha graxa no processo de desfolha de plantas cítricas no Recôncavo da Bahia. Indicam ainda que fatores ambientais, umidade relativa do ar neste estudo, também podem estar implicados.

Os valores dos coeficientes de correlação, embora significativos, não podem ser considerados altos, para qualquer das variáveis. No entanto, deve-se ressaltar que foi possível testar apenas a correlação linear entre as variáveis. É possível que relações mais intensas e significativas fossem encontradas entre as variáveis se tivesse sido possível analisar correlações quadráticas ou cúbicas.

Da mesma forma que para a correlação linear, as regressões apresentaram coeficientes (R^2) apenas razoáveis. Esse resultado permite inferir que o processo de desfolha, embora influenciado pela doença e pela umidade relativa do ar, é muito mais complexo, pois, fatores como deficiências minerais, ventos fortes, temperaturas extremas, períodos de prolongados de seca, além de ciclos da fisiologia da planta podem estar envolvidos (RODRIGUEZ, 1987).



A despeito da desfolha, os dados climáticos indicam que a maior parte do período de estudo foi favorável a várias etapas do ciclo da doença. A temperatura média variou entre 21°C e 30,8° C (Figura 6), assim, levando-se em consideração o tempo para a germinação de ascósporos ser de 7h a 20°C, 6h a 25°C e 4h a 30°C (WHITESIDE, 1974), durante todo o período de observação, o fator temperatura foi favorável à mancha graxa. Durante oito meses, a umidade relativa do ar esteve acima de 80%, favorecendo também a manifestação da doença, a exemplo do verificado por Garcia et al. (1985) em Cuba, quando o período de incremento no número de lesões correspondeu a níveis de umidade relativa do ar entre 84 e 90%. Estudos de Mondal e Timmer (2002) mostraram que a quantidade total de umidade em diferentes períodos produziu significantes efeitos no desenvolvimento pseudotecial, produção de ascósporos e decomposição da serrapilheira, enquanto que a distribuição das chuvas deve ser considerada como preponderante, pois períodos de seca foram necessários para a formação do pseudotécio de *M. citri*. Os mesmos autores salientam que folhas mantidas sob umidade constante são

colonizadas por muitos organismos saprofíticos que podem competir com *M. citri* por nutrientes e serem antagonistas ao patógeno. Ademais, o padrão de distribuição das chuvas no Recôncavo permite sucessivas brotações das plantas cítricas (ALVES et al., 2007), ou seja, durante todo o ano é possível encontrar folhas passíveis de novas infecções (MONDAL e TIMMER, 2003). Desse modo, o fator pluviosidade também favoreceu a interação patógeno-hospedeiro no Recôncavo (Figura 6).

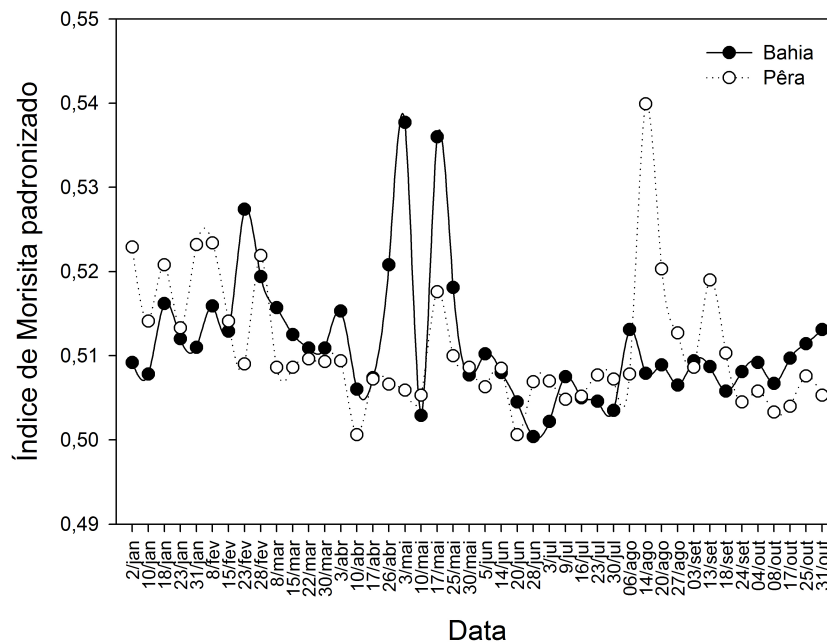
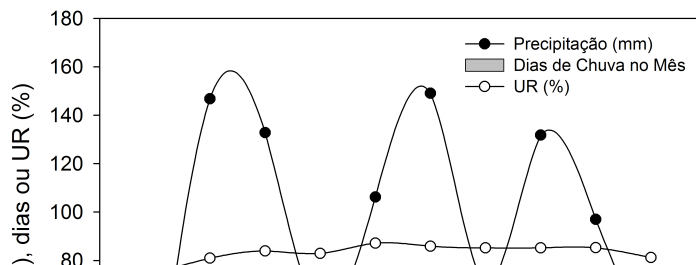


Figura 5. Evolução do índice de Morisita padronizado para a desfolha em pomares de duas variedades de laranjeiras no Recôncavo Baiano. Valores superiores a 0,5 indicam agregação.

Diversas pesquisas relatam a eficiência dos fungicidas no controle químico da mancha graxa dos citros (HIDALGO et al., 1997; TIMMER et al., 2000; McGOVERN et al., 2003). No entanto, o efeito do controle da intensidade da doença nem sempre se reflete em redução da desfolha, como pode ser visto na maioria dos casos relatados por Timmer et al. (2000) em três anos de experimentação na Flórida. Apesar disso, Hidalgo et al. (1997) reportam que as parcelas tratadas com fungicidas na Costa Rica apresentaram menor percentagem de desfolha.

Para o presente trabalho, um dos fatores que pode estar associado à ineficiência do controle é a possível utilização de doses inadequadas dos fungicidas, já que o parâmetro adotado baseou-se nas recomendações feitas pelos fabricantes para *Mycosphaerella musicola*, haja vista não haver no Brasil fungicidas registrados para *M. citri*. Além do que, é provável que o modelo experimental adotado tenha sido demasiado pequeno, considerando que a área testada encontrava-se inserida numa área contígua de muitos pequenos pomares citrícolas.

Outro fator a ser considerado diz respeito às condições climáticas - favoráveis às interações patógeno-hospedeiro durante pelo menos oito meses do ano. No clima tropical, a temperatura e umidade são propícias ao patógeno, mas também permitem que os citros estejam em contínuo crescimento vegetativo, produzindo assim sucessivas brotações, cujas folhas estão suscetíveis ao *M. citri* até sua maturidade (MONDAL et al., 2003). Essa situação possibilita a ocorrência de vários ciclos da doença durante o ano. Adicionalmente, há produção ininterrupta de serrapilheira (Figura 3), material que se constitui em poderosa fonte de inóculo. Timmer et al. (2000) afirmam que as flutuações na quantidade de inóculo produzidas nos diferentes períodos do ano não resultam em variações na severidade da doença, mas sim, na incidência, pois, mesmo quando os níveis de inóculo eram baixos, a quantidade de infecção ocorrida nas plantas-armadilhas foi elevada quando as condições ambientais eram favoráveis. Estes autores sugerem que mesmo com o tempo seco e condições climáticas menos favoráveis da primavera na Flórida, há crescimento epifítico das hifas produzidas pelos poucos ascósporos depositados na parte inferior das folhas, resultando em considerável infecção. Assim, medidas para a redução da fonte de inóculo só seriam eficientes nos períodos secos do ano.



Mesmo que haja eficiente remoção da fonte de inóculo (serrapilheira), a provável alta densidade de ascóporos viáveis e dispersos no ar, as condições ecológicas e o tamanho das propriedades rurais do Recôncavo Baiano permitem a instalação de novos sítios infecciosos, dificultando assim as estratégias de manejo da doença.

Referências Bibliográficas

ALVA, A. K., HUANG, B., PRAKASH, O., e PARAMASIVAM, S. Effects of copper rates and soil pH on growth and nutrient uptake by citrus seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, v.22, p.1687-1699, 1999.

ALVES, P.R.B; MELO, B. **Cultura dos citros**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/citros2.htm#CARACTERÍSTICAS%20BOTÂNICA> S >. Acesso: 04 out. 2007.

CHATFIELD, C. **The analysis of time series: an introduction**. 3. ed. New York: Chapman e Hall, 1985, 286p.

CUNHA SOBRINHO, A.P.; PASSOS, O.S. e SOARES FILHO, W.S. Cultivares. In: MAGALHÃES, A.F.J. (Ed.) **Cultivo dos citros**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2004, p.32-35.

DIAZ, J.A.; BROWN, O. Influence of greasy spot (*Mycosphaerella citri*) Whiteside on Valencia orange yields. **Centro Agrícola**, Havana, Cuba, v.12, p.127-137, 1985.

GARCIA, R. et al. Variaciones estacionales de la enfermedad mancha grasienta (*Mycosphaerella citri*) en la region de Jaguey Grande, Matanzas. Citricos y otros frutales. **Centro Agrícola**, Havana, Cuba, suplemento, p.107-119, 1980.

GRAHAM, J. H.; TIMMER, L. W. e FARDELMANN, D. Toxicity of fungicidal copper in soil to citrus seedlings and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Phytopathology**, v.76, p. 66-70, 1986.

HIDALGO, H.; SUTTON, T.B.; ARAUZ, F. Epidemiology and control of citrus greasy spot on Valencia orange in the humid tropics of Costa Rica. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v. 81, n.9, p.1015-1022, 1997.

KREBS, C. J. **Ecological methodology**. New York: Harper and Hall, 1998, 654p.

LARANJEIRA, F.F. **Epidemiologia da clorose variegada dos citros no Estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" /USP, Piracicaba/SP, 2002, 158p.

_____ et al. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: MATTOS JÚNIOR, D. et al. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico ; Fundag, 2005, cap.18, p.511-558.

_____ et al. Prevalência e incidência de doenças fúngicas em citros no Recôncavo Baiano e Litoral Norte da Bahia. In:XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE

FITOPATOLOGIA, 2003, Gramado / RS. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras /MG, v. 28 (suplemento), p. 213, 2003.

McGOVERN, R. J.; WINSTON, A. E.; ROUSE, R. E. e WELCH JR, A. W. Reduction of defoliation in citrus caused by *Mycosphaerella citri* with a novel biocompatible fungicide. **Plant Disease**, v. 87, p.143-138, 2003.

MEDINA, C.L.; RENA, A.B.; SIQUEIRA, D. L. e MACHADO, E.C. Fisiologia dos citros. In: MATTOS JÚNIOR, D. et al. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico ; Fundag, 2005, cap.7, p.149-184.

MENDEL, K. Rootstock-scion relationships in Shamouti trees on light soil. **Ktavim**, Rehovot, v. 6, p. 35-60, 1956.

MONDAL, S. N.; TIMMER, L. W. The effect of urea, CaCO₃ and dolomite on pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v.87, p.478-483, 2003.

MONDAL, S. N.; TIMMER, L. W. Environmental factors affecting pseudothecial development and ascospore production of *Mycosphaerella citri*, the cause of citrus greasy spot. **Phytopathology**, v. 92, p. 1267-1275, 2002.

PIO, R.M. et al. Variedades copas. In: MATTOS JÚNIOR, D. et al. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico ; Fundag, 2005, cap.3, p.39 - 57.

RODRIGUEZ, O. Ecofisiologia dos citros. In: CASTRO, P.R.C. (Ed.). **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Potafos, 1987, p. 151-164.

ROBERTS, P. D.; TIMMER, L. W. **Florida citrus pest management guide: greasy spot**. University of Florida-IFAS, Gainesville, 2001, 144p.

TIMMER, L. W.; REEVE, R. J. e DAVIS, R. M. Epidemiology and control of citrus greasy spot on grapefruit in Texas. **Phytopathology**, v.70, p.863-867, 1980.

TIMMER, L. W., ROBERTS, P. D., DARHOWER, H. M., BUSHONG, P. M., STOVER, E. W., PEEVER, T. L. e ÍBAÑEZ, A. M.. Epidemiology and control of citrus greasy spot in different citrus-growing areas in Florida. **Plant Disease**. St. Paul, MN / USA. v.84, p.1294-1298, 2000.

TIMMER, L. W. e GOTTWALD, J. H. Greasy spot and similar diseases. In: TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. (Eds.). **Compendium of citrus disease**. 2.ed. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 2000, p. 25-29.

TURREL, F.M. Growth of the photosynthetic area of citrus. **Botanical Gazette** v. 122, p.258-298, 1961.

WHITESIDE, J. O. Environmental factors affecting infection of citrus leaves by *Mycosphaerella citri*. **Phytopathology** , v.64, p.115-120, 1974

_____. Etiology and epidemiology of citrus greasy spot. **Phytopatology**, St. Paul, v. 60, p.1409-1414, 1970.

_____. Greasy spot and greasy spot rind blotch. **Compendium of citrus disease**. St. Paul, MN / USA: The American Phytopathological Society, 1988, p.15-17.

_____. Tolerance of *Mycosphaerella citri* to benomyl in Florida citrus groves. **Plant Disease**, St. Paul, MN / USA, v.64, p. 300-302, 1980.

Considerações Finais

No Recôncavo Baiano, a mancha graxa dos citros causada por *Mycosphaerella citri* produz abundantes sintomas foliares, com valores médios para número de lesões por folha, variação do tamanho de lesão por folha e severidade de 131, 0,014 cm² e 7,3%, respectivamente. Mesmo apresentando severidade relativamente baixa, o considerável número de diminutas lesões por folha reflete uma grande quantidade de inóculo depositado no hospedeiro, além de dificultar a quantificação da severidade através da visão humana.

O uso de uma escala diagramática possibilitou discreto benefício aos avaliadores no processo de quantificação da doença, apesar da necessidade de ajustes nesta ferramenta para ampliar o grau de confiabilidade e repetibilidade das estimativas para severidade.

O estudo epidemiológico constatou que a mancha graxa está dispersa uniformemente por toda a região, sendo prevalente em 100% dos pomares, independente de localização geográfica, de altitude, de idade dos pomares, ou das variedades plantadas. A incidência em pomares, plantas e quadrantes foi de 100%, havendo sazonalidade em folhas, cuja variação foi de 77 a 96%, dados que confirmam a forte interação patógeno-hospedeiro-ambiente. Através da análise de densidade espectral, verificou-se que a incidência possui sazonalidade com ciclos de três meses. Mediante o ajuste da Lei de Taylor aos dados, verificou-se que o padrão espacial da doença tende à uniformidade para os dois primeiros níveis hierárquicos (quadrantes e plantas), não divergindo do encontrado para os dois últimos níveis (pomar e região). A alta incidência cíclica, a ampla disseminação na região e a uniformidade do padrão espacial permitem caracterizar a mancha graxa como uma endemia no Recôncavo da Bahia.

O padrão espacial agregado de desfolha foi similar para as duas variedades estudadas, laranja 'Bahia' e 'Pêra', assim como a intensidade por área ou volume de copa. Verificou-se sazonalidade para a desfolha, com ciclo principal de cinco semanas para ambas as variedades. A desfolha mensal por área de copa, para as duas variedades, foi correlacionada positivamente com a incidência média da

doença em folhas da região e, negativamente, com a umidade relativa do ar. Considerando-se a média de folhas caídas por m² e área média das copas, estimou-se o total de desfolha anual na ordem de 32000 folhas para laranja 'Bahia' e 18500 para a 'Pêra'. A desfolha resultante das interações ocorridas no patossistema pode ser considerada intensa, haja vista a baixa densidade das copas dos citros cultivados no Recôncavo Baiano.

Diante das condições ecológicas; da epidemiologia da doença; do atual nível tecnológico da citricultura; do tamanho das propriedades rurais que, apesar de pequenas, estão em área contígua (continuidade espacial), e da perenidade do hospedeiro (continuidade temporal), um manejo eficiente da doença teria pouca probabilidade de sucesso. Hipoteticamente, no Recôncavo Baiano, a mancha graxa dos citros só poderia ser controlada se houvesse uma determinação legislativa na qual, conjuntamente, os citricultores adotassem as seguintes medidas de manejo: recolhimento quinzenal da serrapilheira na estação de estio e semanal, na estação chuvosa; aplicação de fungicidas registrados para *M. citri*, a fim de proteger as brotações primaveris.

Entretanto, essa constatação não faz da mancha graxa uma ocorrência fitossanitária insignificante para a citricultura baiana. Ao contrário, a alta incidência, a ampla distribuição regional e a redução da área fotossintética nas plantas sintomáticas, pelas lesões produzidas, bem como pela promoção de desfolha, indicam tratar-se de doença de grande importância no Recôncavo.

Essa conclusão gera um conflito entre os dados obtidos nesta investigação e a classificação da mancha graxa como doença de importância secundária. Em outras regiões do Brasil, como São Paulo, a menor relevância dessa doença é compreensível em face das diversas e sérias enfermidades (HLB, CVC, cancro cítrico, leprose, mancha preta) que afetam a citricultura daquele Estado.

No Recôncavo Baiano, por outro lado, nenhuma dessas doenças ocorre. Assim, podem-se admitir duas hipóteses complementares que expliquem o paradoxo. A primeira está relacionada à maneira tradicional com que a citricultura é praticada, nos moldes de uma atividade de subsistência, permeada de empirismo e, portanto, sem interesse imediato nas informações e tecnologias geradas pelos centros de ensino e pesquisa. A segunda hipótese, muito provável considerando-se os dados da dinâmica temporal da doença, é a mancha graxa ter evoluído nessa

região como epidemia poliética, ou seja, levando diversos anos para atingir a intensidade e abrangência verificadas neste trabalho. Isso, associado à inexistência de uma época típica de desfolha e outra de re-enfolhamento como acontece em outros países, fez com que a doença passasse despercebida e, em seguida, fosse vista como uma ocorrência corriqueira.

Para tanto deve ter contribuído o fato da mancha graxa não promover danos diretos à produção, tais como queda ou podridão de frutos. Como a citricultura sempre foi de subsistência, nunca alcançou bons níveis de produtividade e, portanto, a probabilidade de percepção dos danos pelo produtor é menor. Em complemento a esse quadro, e em função da ausência de queixas em relação à doença, a mancha graxa nunca foi tema de investigações mais rigorosas.

Este é o primeiro trabalho realizado no Brasil sobre a doença e, no âmbito da produção científica internacional, é o primeiro a considerar o tamanho de lesões e a adotar a abordagem espacial para o estudo epidemiológico.