

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

VALIDAÇÃO DE ESCALA DE NOTAS PARA AVALIAÇÃO DE
SEVERIDADE DA LEPROSE DOS CITROS

MARCELO EDUARDO MECI

Orientadores:

Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade

Prof. Dr. Glauco de Souza Rolim

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de
Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA
AGRONÔMICA.

Jaboticabal – SP

2º Semestre de 2021

M486v	Mechi, Marcelo Eduardo Validação de escala de notas para avaliação de severidade da leprose dos citros / Marcelo Eduardo Mechi. -- Jaboticabal, 2021 30 p. : tabs., fotos Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Daniel Júnior de Andrade Coorientador: Glauco de Souza Rolim 1. Laranja Doenças e pragas. 2. Ácaro de plantas como transmissor de doenças. 3. Fitopatologia. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO: Departamento de Ciências da Produção Agrícola

CERTIFICADO

TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

TÍTULO : Validação de escala de notas para avaliação de severidade da leprose dos citros

ACADÊMICO: Marcelo Eduardo Mechi

CURSO: Engenharia agrônoma

ORIENTADOR : Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade

PERÍODO : 12/2019 À 11/2020

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. ☒ Sim ☐ Não

BANCA EXAMINADORA:

(Nomes)

(Assinaturas)

Presidente Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade

Membro Dr. Renato Beozzo Bassanezi

Membro Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes

Jaboticabal 29 / 07 / 2021

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 24 / 08 / 2021

Chefe do Departamento

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Kátia Maria Buosi Mechi e Sérgio Eduardo Mechi pelo eterno apoio, me acompanhando nos momentos bons e nos momentos difíceis. Amo vocês e sei que sempre estaremos juntos.

Agradecimentos

Agradeço, mais uma vez, aos meus pais por serem meus eternos guias e companheiros em todos os momentos.

À Deus, por me mostrar e iluminar meu caminho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade, por toda orientação e companheirismo durante todo este trabalho, sem sua ajuda e conselhos não seria capaz de ter chegado tão longe.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Glauco de Souza Rolim, por toda sua orientação e imenso conhecimento matemático, o qual foi essencial para a execução deste trabalho.

Ao pesquisador científico do Fundo de Defesa da Citricultura – Fundecitrus, Dr. Renato Beozzo Bassanezi, por ter reservado parte de seu tempo para participar da minha banca como membro titular, sua participação foi indispensável.

Ao Grupo Yamane por ceder os talhões de laranja-doce onde foram conduzidos os experimentos.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – Universidade Estadual Paulista, (Unesp), Câmpus de Jaboticabal, por proporcionar toda a estrutura para execução deste trabalho e para minha formação acadêmica.

Aos colegas do Departamento de Ciências da Produção Agrícola, Sidnéia Terezinha Soares de Matos, Juliana Cardoso Feltrin, que me auxiliaram e me deram apoio durante as avaliações a campo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pela bolsa concedida para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Muito obrigado!

ÍNDICE

RESUMO.....	VI
SUMMARY	VII
1. Introdução	8
2. Material e métodos	10
2.1 Confirmação da leprose nas áreas experimentais	10
2.2 Caracterização das áreas de estudo.....	11
2.3 Capacitação dos avaliadores.....	13
2.4 Atribuição de notas para severidade da leprose dos citros por diferentes avaliadores	14
2.5 Atribuição do volume de copa.....	15
2.6 Avaliação das porcentagens dos órgãos afetados pela leprose dos citros.....	17
2.7 Análise dos dados	17
3. Resultados e discussão.....	18
3.1 Estimativa do volume de copa e relação entre volume e notas de severidade da doença.....	18
3.2 Análise das atribuições de notas dos avaliadores	23
3.3 Coleta de porcentagens de sintomas	25
4. Conclusões	27
5. Referências.....	28

Validação de escala de notas para avaliação de severidade da leprose dos citros

(*Formatado conforme normas do periódico *Crop Protection*)

RESUMO – A leprose dos citros é uma das doenças mais graves da citricultura. No Brasil, a leprose ocorre em todas as regiões produtoras de citros e tem como principal vetor o ácaro *Brevipalpus yotheri*. Para avaliar a severidade da leprose dos citros nos pomares, uma escala de notas proposta há mais de 20 anos tem sido utilizada pelos pesquisadores e citricultores. No entanto, a subjetividade do método pode gerar erros amostrais, prejudicando o monitoramento e consequentemente o manejo da doença. Diante disto, o objetivo do presente trabalho foi realizar a validação da escala a campo, bem como propor um novo método para o monitoramento da doença. O experimento foi conduzido em um pomar comercial de laranja-doce localizado no município de Taquaral, São Paulo, Brasil. Neste pomar, foram selecionados três talhões com diferentes níveis de severidade da leprose dos citros. Foi testado um novo método para estimar o volume (m^3) com o auxílio do programa computacional *ImageJ*. A avaliação da presença, ausência e severidade da leprose nas plantas foi realizada por cinco avaliadores. Em cada talhão foram amostradas 100 plantas. Após serem feitas as análises estatísticas, foram levantadas as frequências de observação das notas em cada um dos talhões, sendo analisadas por AUC (*Area Under the Curve*). Confirmou-se a ocorrência de notas significativamente diferentes ao nível de erro de 5% entre os avaliadores, demonstrando que a escala proposta por Rodrigues (2000) proporciona erros de subjetividade. Adicionalmente, o programa *ImageJ* se mostrou adequado para a estimativa do volume de copa das árvores, e foi aberta a possibilidade futura da criação de um novo método avaliativo da leprose dos citros baseado na porcentagem de ocorrência de sintomas nos ramos da planta.

Palavras-chave: Ácaro da leprose, *Brevipalpus yotheri*, citricultura, volume de copa, *ImageJ*.

Validation of a diagrammatic scale for citrus leprosis disease severity

(*Formatted according to the norms of *Crop Protection* journal)

SUMMARY – Citrus leprosis disease is one of the most serious diseases of citriculture. In Brazil, citrus leprosis has been reported in all citrus-producing regions and its main vector is the mite *Brevipalpus yothersi*. To assess the severity of leprosis in orchards, a grading scale proposed over 20 years ago has been used by researchers and citrus growers. However, the subjectivity of the method can generate sampling errors, impairing the monitoring and consequently the management of the disease. The objective of the present work was to carry out the validation of the scale in the field, as well as to propose a new method for monitoring the disease. The experiment was carried out in a commercial sweet orange orchard located in the municipality of Taquaral, São Paulo, Brazil. In this orchard, three plots with different levels of severity of citrus leprosis were selected. A new method of estimating the volume (m³) was tested with the help of the computer program ImageJ. The evaluation of the presence, absence and severity of leprosis in the plants was carried out by five evaluators. In each plot, 100 plants were sampled. After the statistical analyses, the observation frequencies of the notes in each of the plots were raised, being analyzed by AUC (Area Under the Curve). The occurrence of significantly different grades at the 5% error level among the evaluators was confirmed, demonstrating that the scale proposed by Rodrigues (2000) provides subjectivity errors. Additionally, the ImageJ program proved to be adequate for estimating the canopy volume of trees, and it has been confirmed the possibility of creating a new evaluation method for citrus leprosis based on the occurrence percentage of symptoms in the branches of the plant.

Keywords: Leprosis mite, *Brevipalpus yothersi*, citriculture, tree crown volume, ImageJ.

1. INTRODUÇÃO

A citricultura é atualmente um dos principais segmentos do agronegócio brasileiro. O Brasil é o maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo, sendo responsável por 50% da produção mundial. A safra de laranja 2020/21 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro foi finalizada em 268,63 milhões de caixas de 40,8 kg (Fundecitrus, 2021). Entretanto, o custo com o tratamento fitossanitário representa um dos principais entraves para o crescimento e sustentabilidade da citricultura. Estima-se que 30% a 45% do custo total da produção de laranja sejam destinados ao controle fitossanitário, incluindo gastos com insumos e operações (FNP Consultoria & Comércio, 2017).

Entre as principais doenças que resultam em danos econômicos para a citricultura, destaca-se a leprose dos citros. As lesões causadas por essa doença levam à depreciação e a queda prematura dos frutos, seca de ramos e a queda de folhas, reduzindo a produtividade e a vida útil das plantas (Bitancourt, 1955). É uma doença causada pelo vírus *Citrus leprosis virus* (CiLV-C) transmitido por ácaros do gênero *Brevipalpus* (Sanchez-Velázquez et al., 2015). Entretanto, a espécie *Brevipalpus yothersi* Baker (Acari: Tenuipalpidae) é o vetor predominante nos cultivos comerciais de citros no estado de São Paulo (Mineiro et al., 2015).

No Brasil, a leprose dos citros é encontrada em todas as regiões produtoras de citros (Bastianel et al., 2010). Em São Paulo, principal estado produtor de citros, a leprose ocorre mais severamente nas regiões Norte e Noroeste, pois essas regiões apresentam temperaturas mais elevadas e chuvas mais escassas, condições que favorecem a disseminação do vetor e a multiplicação do vírus (Bassanezi et al., 2002).

Cerca de 60% dos acaricidas na citricultura são empregados para o controle do ácaro da leprose dos citros (Jorge, 2019). Em um pomar, cerca de 5% do custo com o tratamento fitossanitário é para controle do ácaro da leprose dos citros, principalmente com aplicações de acaricidas (Bassanezi et al., 2019). O setor citrícola brasileiro gasta aproximadamente mais de 80 milhões de dólares por ano em acaricidas para o controle do ácaro vetor da leprose dos citros (Andrade et al., 2016).

Muitos citricultores têm relatado dificuldades no manejo do ácaro da leprose dos citros em seus pomares, sendo observados menores períodos de controle da população do ácaro após a aplicação de acaricidas, sendo muitas vezes necessário aplicações adicionais durante o ano (Bassanezi, 2018). Portanto há necessidade de uma escala de notas para severidade da doença validada estatisticamente para auxiliar em seu manejo.

Escala diagramáticas são empregadas no meio acadêmico devido à sua praticidade e baixo custo. São baseadas em ilustrações de plantas ou em partes específicas de plantas, nas quais são atribuídas notas para diferentes níveis de severidade de doenças ou pragas. Em escalas descritivas, os sintomas são caracterizados e, em seguida, atribuídas notas para cada planta com base na descrição dos sintomas. No entanto, a mensuração dos danos através de uma escala deve ser fácil, clara e aplicável a diferentes condições, com o objetivo de gerar resultados acurados e reprodutíveis (Campbell et al., 1990).

Uma escala descritiva para atribuição de notas de severidade da leprose dos citros foi proposta por Rodrigues (2000), sendo utilizada frequentemente em trabalhos de pesquisas e até mesmo por produtores para determinação do nível de severidade em talhões afetados pela doença. Essa escala de notas varia de zero (0) a cinco (5), onde zero (0) corresponde à ausência de lesões; um (1) poucas lesões em qualquer órgão, restritas a

um setor da planta; dois (2) lesões em mais de um órgão e/ou distribuídas em mais de um setor da planta; três (3) lesões abundantes em todos os órgãos e bem distribuídas pela planta; quatro (4) lesões abundantes (toda a planta) e queda de folhas e/ou frutos; e cinco (5), mesmos sintomas da nota quatro (4) além de seca e morte de ramos (Rodrigues, 2000).

Apesar de amplamente utilizada, a escala proposta por Rodrigues (2000) ainda não havia sido submetida a testes com enfoque nos avaliadores, para verificar se diferentes avaliadores são capazes de atribuir a mesma nota de severidade para a mesma planta. É indispensável que uma escalada de notas para severidade seja capaz de reproduzir os mesmos resultados indiferentemente do avaliador que a está utilizando, minimizando os erros decorrentes de subjetividade. Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi a validação estatística da escala proposta por Rodrigues (2000) para avaliação da severidade da leprose dos citros em condições de campo, e estudar um novo método para agregar ao monitoramento da doença. Os resultados gerados neste trabalho auxiliarão no planejamento de estratégias de controle da leprose dos citros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Confirmação da leprose nas áreas experimentais

Os trabalhos iniciaram após a confirmação visual da presença da leprose dos citros nos três talhões estudados, sendo observadas lesões em diferentes órgãos da planta (frutos, folhas e ramos) (Figura 1). Nos ramos, foram constatadas lesões necróticas de coloração marrom avermelhadas de aspecto corticoso (Figura 1A). Nos frutos, foram

observadas lesões deprimidas e necróticas distribuídas ao longo de toda sua superfície. Em caso de frutos verdes, foram observados halos amarelos ao redor das lesões, sendo que, à medida que o fruto amadurece, as lesões se tornam escuras, levemente deprimidas (Figura 1B). Nas folhas, foram observadas lesões arredondadas e lisas, tanto na face abaxial quanto na adaxial, de coloração amarela para marrom claro, algumas com halos cloróticos (Figura 1C).

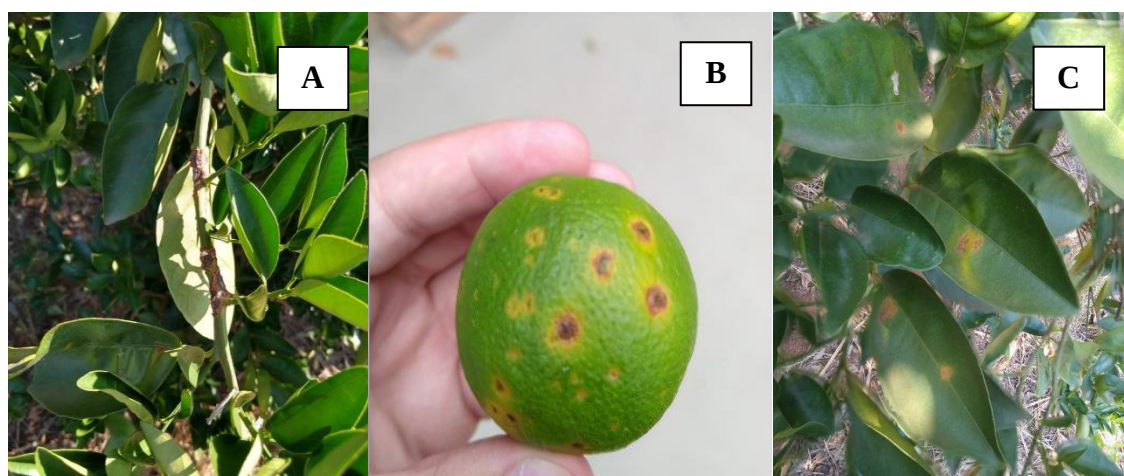


Figura 1. Sintomas de leprose dos citros observados nas áreas experimentais. Sintomas em ramos (A); frutos (B) e folhas (C).

2.2 Caracterização das áreas de estudo

O estudo foi conduzido no município de Taquaral, estado de São Paulo, Brasil. O clima da região é quente e úmido, com temperatura média superior a 18°C ao longo de todos os meses do ano (IBGE, 2002). Os experimentos foram realizados em 3 talhões de laranja-doce *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, nomeados: Talhão 1, Talhão 2 e Talhão 3. Nestes talhões, as árvores estavam dispostas no sentido Leste-Oeste (Figura 2).

As áreas foram selecionadas em função de apresentarem variedades e idades distintas (influenciando no tamanho da copa), além da ocorrência de sintomas contrastantes da leprose dos citros. Em cada talhão foram amostradas 100 plantas. Os talhões foram conduzidos em sistema de manejo convencional, com aplicações periódicas de agrotóxicos.



Figura 2. Vista geral das áreas experimentais com plantio de laranja doce *Citrus sinensis* localizadas no município de Taquaral, São Paulo.

O Talhão 1 continha a variedade Valência (*C. sinensis*) enxertada em citrumelo swingle [*Citrus paradisi* Macfad. Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] com 3 anos de idade. Esse talhão tinha um total de 889 plantas. O espaçamento adotado foi de 6,0 m por 2,5 m. O plantio foi realizado em fevereiro de 2016. A área corresponde a 13.060 m² e suas coordenadas são 21°2'40.50"S, 48°23'58.62"O.

O Talhão 2 continha plantas da variedade Valência (*C. sinensis*) enxertadas em limão cravo (*C. limonia*) com 10 anos de idade. O espaçamento empregado nesse talhão

foi de 6,5 m por 2,5 m. O plantio foi realizado em novembro de 2009 e apresentava um total de 4.220 plantas em uma área de 70.695 m². Suas coordenadas são 21°2'49.28"S, 48°23'52.00"O.

O Talhão 3 continha a variedade Hamlin, *C. sinensis* (L.) Osbeck, enxertadas em limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck) com 15 anos de idade. Esse talhão tinha um total de 1021 plantas. O espaçamento adotado foi o de 5,5 m por 6,0 m. O plantio foi realizado em fevereiro de 2004, com área total de 27.570 m² e coordenadas 21°2'48.39"S, 48°23'58.63"O.

2.3 Capacitação dos avaliadores

Antes de serem iniciadas as atividades a campo, um grupo de cinco avaliadores, composto pelo autor deste artigo e por alunos da pós-graduação, os quais já possuíam conhecimento na área de estudo, passaram por um treinamento realizado na própria área do experimento sobre o uso correto da escala de Rodrigues (2000) (Tabela 1). O orientador responsável pelo projeto apresentou e explicou sobre a sintomatologia da doença, dando exemplos de árvores que se enquadravam em cada uma das cinco possíveis notas para severidade da leprose dos citros (Tabela 1).

Tabela 1. Escala descritiva para atribuição de notas de severidade da leprose dos citros proposta por Rodrigues (2000).

Descrição dos sintomas	Nota
Ausência de lesões	0
Poucas lesões em qualquer órgão, restritas a um setor da planta;	1
Lesões em mais de um órgão e/ou distribuídas em mais de um setor da planta;	2
Lesões abundantes em todos os órgãos e bem distribuídas pela planta;	3
Lesões abundantes (toda a planta) e queda de folhas e/ou frutos;	4
Anterior (4) + seca e morte de ramos.	5

2.4 Atribuição de notas para severidade da leprose dos citros por diferentes avaliadores

A avaliação da presença, ausência e severidade de sintomas da leprose dos citros foi realizada por cinco avaliadores, os quais foram treinados para fazer uso da escala proposta por Rodrigues (2000). Os avaliadores foram nomeados: “Avaliador 1”, “Avaliador 2”, “Avaliador 3”, “Avaliador 4” e “Avaliador 5”. Durante as avaliações, não foram realizadas comparações entre as notas atribuídas por eles, garantindo a imparcialidade dos resultados. Os cinco avaliadores atribuíram notas para as mesmas 100 plantas de cada talhão, resultando em um total de 300 árvores avaliadas. Todo o processo foi realizado em um mesmo dia.

2.5 Atribuição do volume de copa

Os volumes de copa das 300 árvores avaliadas foram estimados utilizando um método digital por meio do programa computacional *ImageJ* versão 1.52t. Trata-se de um programa de domínio público baseado em Java e destinado ao processamento de imagens. O programa possibilita a exibição, edição, análise, processamento, além da facilidade em salvar e imprimir imagens de 8 bits, 16 bits e 32 bits.

Para obtenção dos volumes de copa, foi utilizada a ferramenta que possibilita relacionar o comprimento medido em uma foto (em pixels), com um comprimento já conhecido na realidade, através de uma escala. Assim, apenas uma foto por planta possibilitou a obtenção dos volumes pelo programa, totalizando 300 fotos.

As fotos processadas pelo *ImageJ* foram compostas por três elementos: altura e largura da copa, e comprimento de uma régua posicionada horizontalmente em frente a planta, a qual foi usada como escala (Figura 3). O objeto adotado como régua foi uma mira topográfica na sua forma fechada, de comprimento real já conhecido equivalente a 1,5 metros, sendo medido de sua base até sua ponta (Figura 3).



Figura 3. Exemplo de planta do Talhão 3 utilizada nas medições do volume de copa. A seta em amarelo indica a mira topográfica de 1,5 m utilizada como escala.

Com o auxílio do *ImageJ*, foram feitos traços para a estimativa do comprimento em pixels de altura e largura da copa da árvore, e o comprimento da mira topográfica usada de escala. Logo em seguida, o comprimento em pixels da mira topográfica estimado pelo programa foi dividido pelo seu comprimento da vida real, resultando em um valor que foi utilizado como escala. Por fim, a altura e largura obtidas em pixels foram divididas por esse valor de escala vindo do objeto, sendo obtidas as estimativas das dimensões reais, as quais foram aplicadas na equação do volume de um elipsoide: $4/3\pi abc$, conforme proposto por Olver et al. (2010). Onde, “*b*” = “*c*” = metade da largura da copa e “*a*” corresponde à metade da altura da copa, obtendo assim, o volume da copa em m^3 .

2.6 Avaliação das porcentagens dos órgãos afetados pela leprose dos citros

Com o intuito de estudar a viabilidade de um novo método de avaliação para severidade da leprose dos citros, foi conduzida uma nova avaliação em campo onde foram estimadas as porcentagens de ramos, folhas e frutos que apresentavam sintomas da doença em um setor pré-definido de cada planta. Foram estudadas as mesmas 100 plantas analisadas previamente.

Os avaliadores posicionavam-se em frente a cada planta, ficando em pé em um ponto fixo aproximadamente no meio da entrelinha. Por questões de padronização, foi avaliada apenas a face norte de cada planta. Durante a avaliação não foi permitido que o avaliador agachasse ou mudasse de posição, este deveria ficar apenas em pé no meio da entrelinha para que todos os avaliadores tivessem aproximadamente o mesmo ponto de vista da copa da planta. O avaliador observou a copa da planta cuidadosamente e estimou, sem auxílio de equipamentos, a porcentagem de folhas com sintomas da leprose dos citros em relação ao total de folhas presentes em seu campo de visão. O mesmo procedimento foi realizado para a avaliação de ramos e frutos.

2.7 Análise dos dados

A diferenciação entre as notas atribuídas pelos cinco avaliadores foi conduzida por análise de variância (ANOVA) pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey com $*P < 0.05$. As frequências de observação das notas em cada um dos talhões foram levantadas e, posteriormente, avaliadas por AUC (*Area Under the Curve*) por análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com

*P <0.05. Foram estudadas relações entre as notas atribuídas pelos avaliadores e os respectivos volumes das plantas nos três talhões. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa computacional Python versão 3.7, sendo utilizada a biblioteca “pandas” (Mckinney, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estimativa do volume de copa e relação entre volume e notas de severidade da doença

O volume de copa médio, considerando os três talhões, foi de 8,95 m³, e os volumes individuais foram; Talhão 1: 2,38 m³, Talhão 2: 5,08 m³ e Talhão 3: 19.39 m³. Apesar de talhões mais velhos tenderem a possuir plantas de maior volume de copa, os três talhões do experimento foram desuniformes (Figura 4).

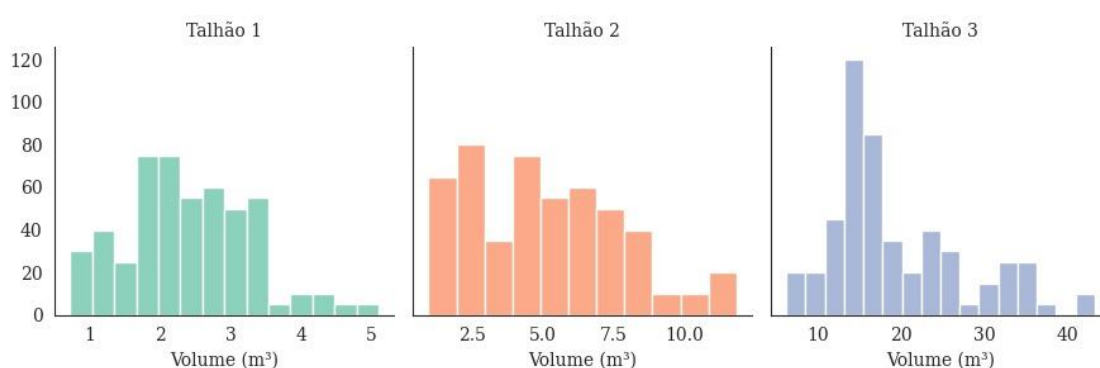


Figura 4. Frequências do volume de copa dos Talhões 1, 2 e 3.

Houve variabilidade entre as notas atribuídas em relação à idade das plantas. A nota média para severidade da leprose no Talhão 1 foi 2, sendo que 50% das notas

atribuídas ficaram entre 1 e 3 (Figura 5). No Talhão 2, a nota média foi de 3,54 com 50% das notas entre 3 e 5, e 50% das notas inferiores a 3. Por outro lado, no Talhão 3, a nota média foi de 3,94, sendo 50% das notas entre 3 e 5 (Figura 5).

Pode-se observar que o Talhão 1 (talhão mais jovem) apresentou menor incidência e severidade da leprose dos citros quando comparadas às notas médias atribuídas para os talhões 2 e 3, evidenciando aumento significativo da média das notas. No entanto, as notas médias obtidas nos Talhões 2 e 3 foram bastante semelhantes (Figura 5).

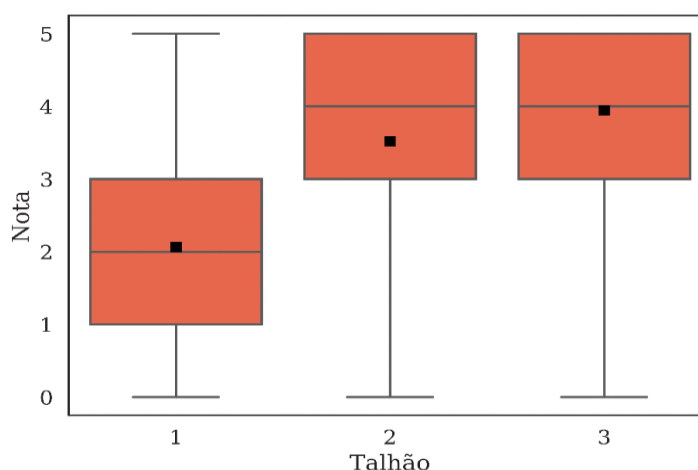


Figura 5. Distribuição das notas de severidade da leprose dos citros nos três talhões, utilizando a escala proposta por Rodrigues (2000). A caixa vermelha representa 50% dos dados coletados, com a linha horizontal correspondendo à mediana. Os “whiskers” representam o intervalo que contém 99% dos dados, sendo que os quadrados pretos representam as notas médias em cada talhão.

A análise da relação entre tamanho de copa e a nota de severidade para leprose dos citros, considerando os três talhões estudados, revelou a tendência de que quanto mais

velho e maior volume médio de copa do pomar, maior será seu grau de severidade para a doença (Figura 6).

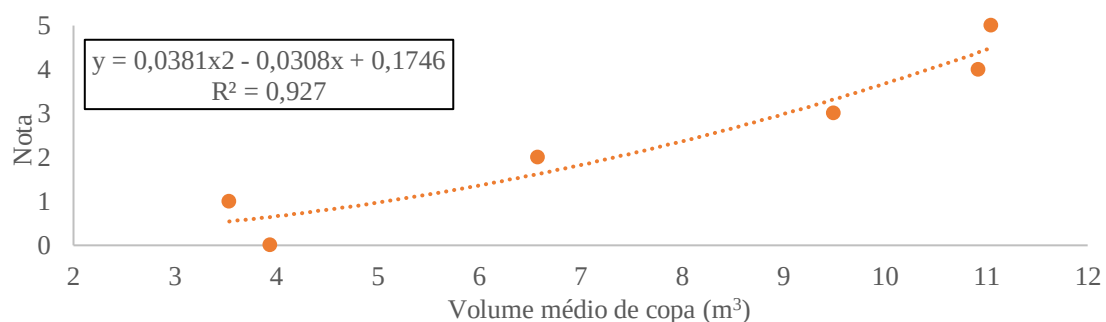


Figura 6. Relação geral entre nota de severidade da leprose dos citros e o volume médio de copa observada nos três talhões.

No Talhão 1, a relação entre nota de severidade e o volume médio de copa apresentou coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,496 (Figura 7). Como R^2 teve valor baixo, a variação entre os volumes de copa não interferiu na variação da severidade da doença, ocorrendo, portanto, grande dispersão dos dados. Esse talhão apresentou a menor amplitude entre os volumes de copa (0,27) (Tabela 2), por ser um pomar jovem, ainda em formação.

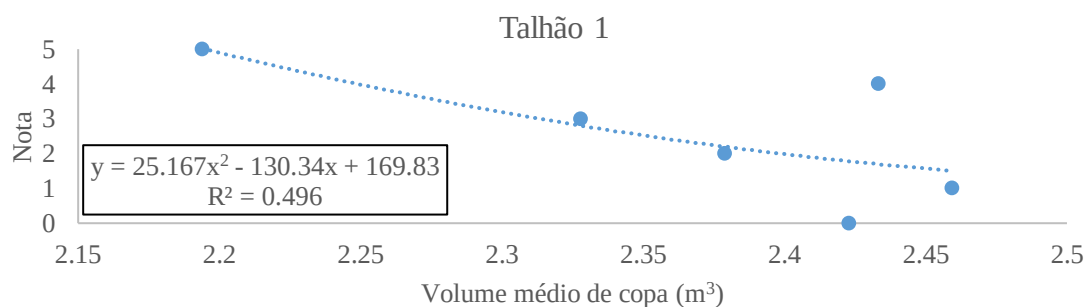


Figura 7. Relação entre notas de severidade para leprose dos citros e o volume médio de copa observada no Talhão 1.

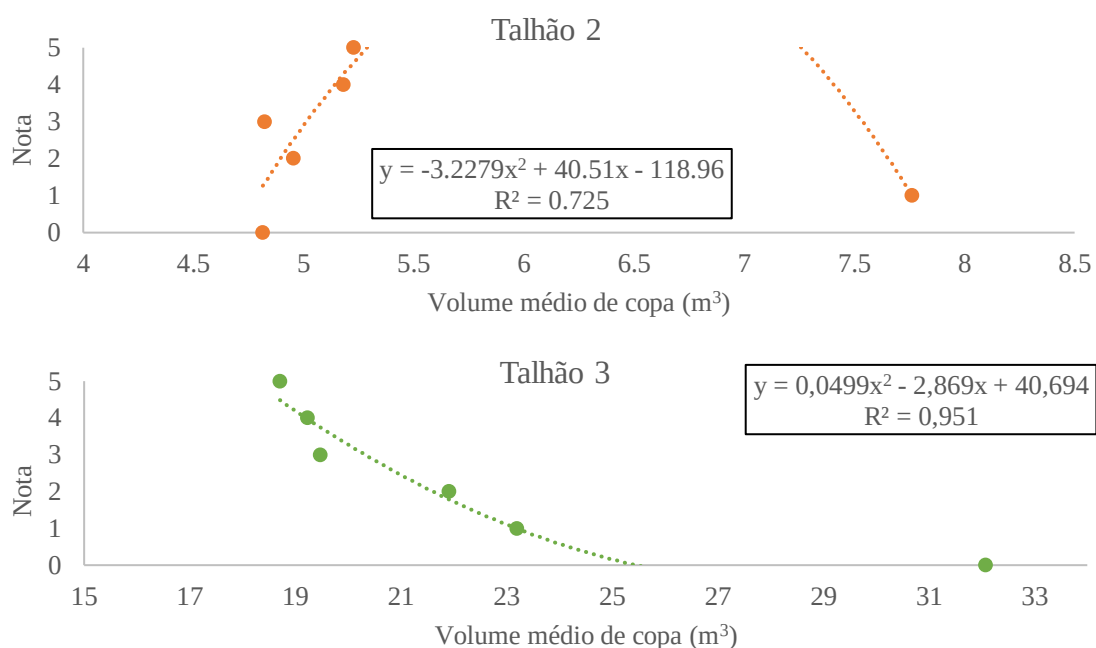


Figura 8. Relação entre notas de severidade para leprose dos citros e o volume médio de copa observada nos talhões 2 e 3.

No Talhão 2, constatou-se aumento significativo do coeficiente de determinação (R^2), com valor de 0,725, assim como na amplitude entre os volumes de copa médios (Figura 8 e Tabela 2). Por ser um talhão mais velho, os volumes de copa apresentaram maior desuniformidade entre si. Neste talhão, com maior amplitude entre os volumes, houve maior correlação entre o volume de copa e as notas de severidade.

O Talhão 3 apresentou o maior valor de coeficiente de determinação (R^2) dentre os três talhões estudados, com valor de 0,951 (Figura 8). Adicionalmente, este talhão apresentou aumento expressivo da desuniformidade entre os volumes de copa de suas plantas, tendo valor de amplitude de 13,36 (Tabela 2).

Tabela 2. Volume médio de copa (m^3) relacionado a cada nota da escala de severidade da leprose dos citros em cada talhão, e amplitude entre os volumes.

Nota	Volume médio de copa (m^3)		
	Talhão 1	Talhão 2	Talhão 3
0	2,42	4,82	32,07
1	2,46	7,76	23,19
2	2,38	4,95	21,91
3	2,33	4,82	19,48
4	2,43	5,18	19,23
5	2,19	5,23	18,71
Amplitude	0,27	2,95	13,36

A análise dos dados revelou que quanto mais velho for o pomar cítrico, maior será a amplitude entre seus volumes de copa, como observado na Tabela 2, onde, o Talhão 1 (3 anos de idade), Talhão 2 (10 anos) e Talhão 3 (15 anos) apresentaram valores de amplitude entre volumes de copa iguais a 0,27; 2,95 e 13,36, respectivamente. Observou-se uma grande oscilação entre os coeficientes de determinação (R^2) obtidos nos três talhões. Apesar da análise dos três talhões em conjunto (Figura 6) ter mostrado alto valor para R^2 (0,927), além de relação positiva entre aumento do volume de copa com aumento da nota para severidade da leprose dos citros, tal cenário foi alterado ao observar cada talhão individualmente (Figuras 7 e 8). Verificou-se que com o aumento do volume médio de copa, ocorreu simultaneamente o aumento do coeficiente de determinação (R^2), onde os volumes médios dos talhões 1, 2 e 3 foram: 2,38 m^3 , 5,08 m^3 e 19,39 m^3 e valores de R^2 : 0,496; 0,725 e 0,951, respectivamente (Figuras 7 e 8). No entanto, nos talhões 1 e 3

constatou-se a diminuição das notas para severidade da leprose com o aumento do volume de copa (Figuras 7 e 8).

3.2 Análise das atribuições de notas dos avaliadores

Os avaliadores 1 e 2 atribuíram notas mais elevadas quando comparados aos demais, com destaque para o Avaliador 1 no Talhão 1, que teve uma média de notas superior a 4, enquanto os demais avaliadores atribuíram notas abaixo de 2 (Figura 9).

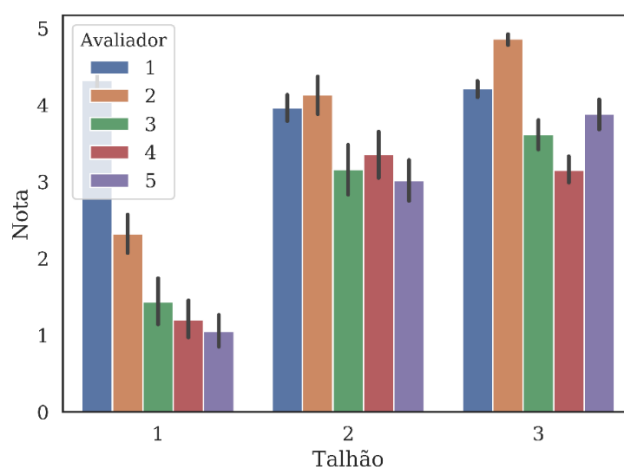


Figura 9. Notas de severidade da leprose dos citros atribuídas por cada avaliador nos 3 talhões com intervalo de confiança de 95%.

A análise dos dados obtidos no Talhão 1 revelou que os avaliadores 3, 4 e 5 apresentaram tendência semelhante durante a atribuição de notas, predominando notas entre 0 e 2, com média de 1,23 (Figura 10A). Por outro lado, os avaliadores 1 e 2 apresentaram tendência significativamente diferente em relação aos demais, sendo que o

Avaliador 1 atribuiu mais notas 4 e 5, com nota média de 4,32. Por sua vez, o Avaliador 2 repetiu com maior frequência notas entre 1 e 3, com nota média de 2,32 (Figura 10A).

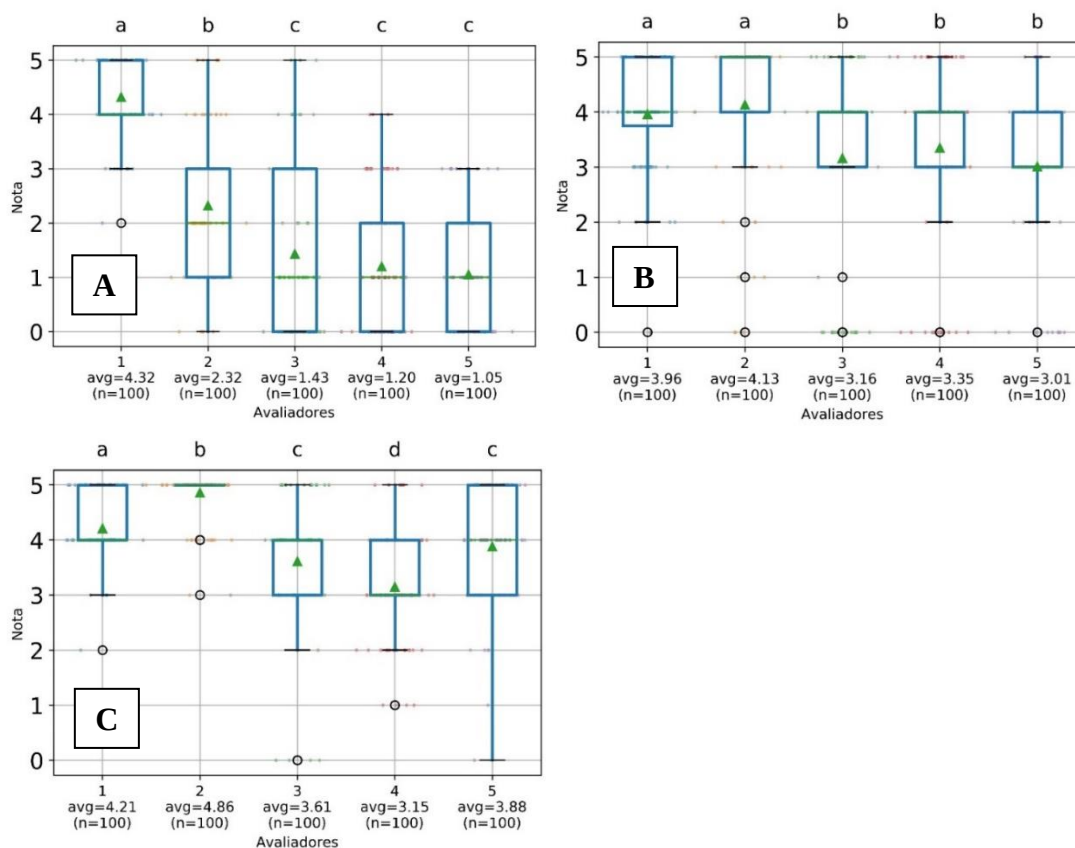


Figura 10. Teste de Tukey com $*P < 0.05$ aplicado sobre as notas atribuídas pelos 5 avaliadores nos 3 talhões estudados, onde **A:** Talhão 1, **B:** Talhão 2, **C:** Talhão 3. O interior da caixa azul representa 50% das notas atribuídas pelo avaliador e os “whiskers”, 99%. O triângulo verde corresponde à nota média de cada avaliador para o talhão, e os círculos pretos são “outliers”. “N” é o número de plantas avaliadas no talhão e “avg”, a média das notas do avaliador. Letras iguais correspondem a resultados que não diferem significativamente entre si.

Para o Talhão 2, as médias das notas atribuídas pelos avaliadores 3, 4 e 5 não apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey com $*P < 0.05$ (Figura 10B),

sendo a nota média para esses avaliadores de 3,17. Por outro lado, as notas atribuídas pelos avaliadores 1 e 2 também foram semelhantes entre si, sendo frequentes as notas 4 e 5 e, em geral, raras as notas iguais a 2 ou menores. Os avaliadores 1 e 2 apresentaram nota média de 4.

No Talhão 3 houve diferença significativa em relação às médias das notas entre praticamente todos os avaliadores (Figura 10C). O Avaliador 1 teve nota média de 4,21 e repetiu com maior frequência as notas 4 e 5, com raros casos de notas inferiores a 3. O Avaliador 2 utilizou quase que exclusivamente a nota 5. Já o Avaliador 4 utilizou preferencialmente as notas 3 e 4, com alguns casos de notas inferiores a 2. Os únicos avaliadores que apresentaram semelhança entre si foram o Avaliador 3 e o Avaliador 5, com maiores repetições das notas 3, 4 e 5 e nota média de 3,7 (Figura 10C).

3.3 Coleta de porcentagens de sintomas

Assim como foi descrito no item 2.6, testou-se uma nova forma de avaliação em campo, onde foram estimadas as porcentagens de ramos, folhas e frutos que apresentavam sintomas da doença em um setor pré-definido de cada planta.

Durante esta avaliação, observou-se que independentemente do volume e da idade da árvore, o sintoma mais fácil de visualizar foi a presença de ramos necrosados, sendo raras as plantas com sintomas em folhas e frutos (Figuras 11 e 12). A observação dos sintomas nas folhas foi difícil, visto que a leprose dos citros causa sua queda prematura (Rodrigues, 2000). Os pomares também apresentavam poucos frutos, pois a colheita havia sido realizada recentemente. A relevância dos frutos no processo de avaliação depende da época do ano em que essa for realizada. Se a avaliação de severidade for realizada após

a colheita ou enquanto os frutos ainda estiverem muito jovens, esses não terão participação significativa durante o julgamento para a atribuição de notas (Rodrigues, 2000).

No Talhão 1, observou-se boa distribuição dos sintomas da doença entre os três órgãos das plantas, sendo que as folhas, ramos e frutos tiveram todos participação significativa para a atribuição de notas para severidade da leprose dos citros (Figura 11). Acredita-se que devido ao fato das plantas serem mais jovens e com menor volume de copa, tenha sido mais fácil e clara a observação dos sintomas. No entanto, tal padrão não se repetiu para os Talhões 2 e 3.

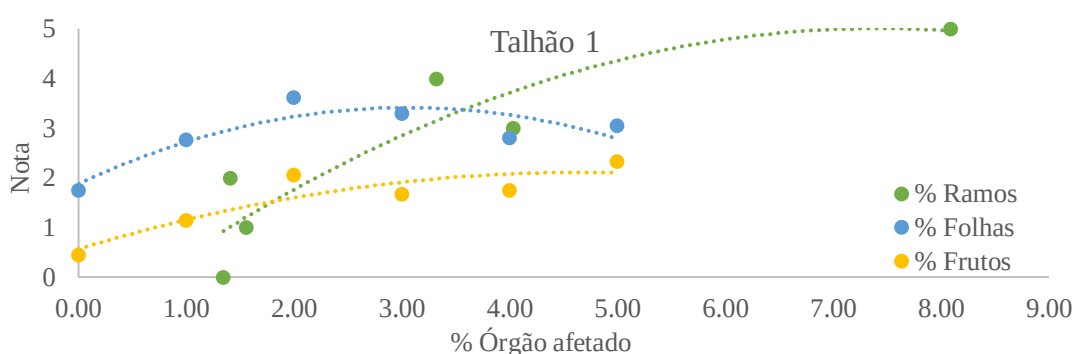


Figura 11. Relação entre nota para leprose dos citros e porcentagem média de órgãos com sintomas no Talhão 1.

No Talhão 2, foram raros os sintomas encontrados nas folhas e frutos, os quais geralmente eram observados em plantas com baixa nota de severidade para leprose, cobrindo uma área geralmente inferior a 5% do campo de visão do observador (Figura 12). Neste talhão, plantas com notas mais altas para leprose dos citros apresentavam maiores porcentagens de ramos com sintomas da doença. Tal padrão também foi constatado no Talhão 3, onde notas para severidade e porcentagem de ramos afetados

apresentaram relação direta (Figura 12). Neste talhão, frutos com sintomas foram observados em plantas com notas mais elevadas para severidade da leprose (Figura 12).

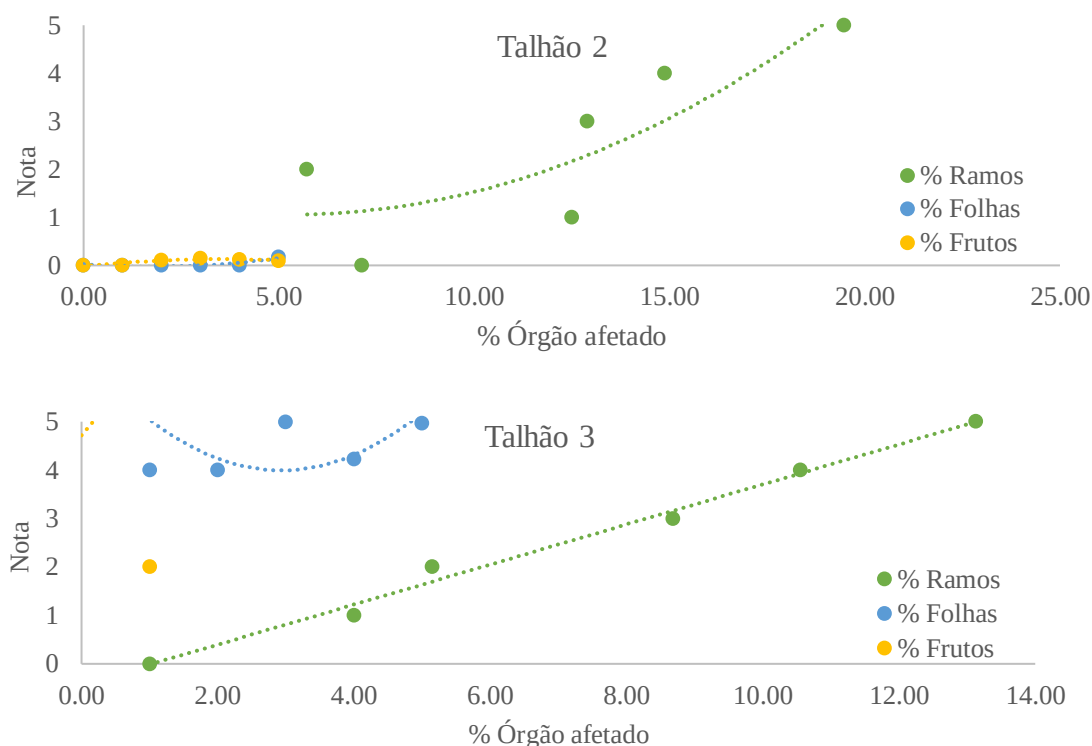


Figura 12. Relação entre nota para leprose dos citros e porcentagem média de órgãos com sintomas nos talhões 2 e 3.

4. CONCLUSÕES

Foi observado que árvores com volume de copa muito grande dificultam a observação de sintomas para a leprose dos citros. Nelas, os sintomas foram frequentemente observados nos ramos das plantas. Por outro lado, em pomares com menor volume de copa médio, os sintomas para leprose se mostraram melhor distribuídos por todos os órgãos. Logo, sugere-se que os ramos sejam o órgão mais confiável e consistente para a avaliação da leprose dos citros, devido à sua presença contínua na

planta, possibilitando assim observar a progressão dos danos da leprose. Portanto, o método de atribuição das notas deve ser ajustado de acordo com a idade do pomar. Não é aconselhado seguir uma única recomendação para todos os pomares, pois eles apresentam especificidades únicas entre si, afetando o processo de atribuição de notas para a doença. Além disso, constatou-se que o grau de severidade da leprose é parcialmente explicado pelos volumes de copa da planta, bem como pela amplitude entre os valores deste fator.

O teste de Tukey com $*P < 0.05$ foi significativo nos três talhões, evidenciando que as médias das notas atribuídas pelos avaliadores foram diferentes entre si, provando que a escala proposta por Rodrigues (2000) gera erros amostrais causados por subjetividade. Embora não tenha sido proposto um novo método para estudo da doença, o experimento concluiu que a criação de uma nova escala de notas baseada na intensidade dos sintomas observados nos ramos da planta é uma possibilidade futura, já que foi o órgão mais confiável e de fácil observação da progressão da leprose durante o experimento. Adicionalmente, o programa computacional *ImageJ* se mostrou adequado para a estimativa do volume de copa das árvores, pois tornou o processo mais prático, rápido e preciso, substituindo o trabalho árduo dos métodos tradicionais, como a cubicagem.

5. REFERÊNCIAS

- Andrade, D. J. et al., 2016. *Physicochemical characteristics of “Pera” sweet orange “Citrus sinensis” affected by citrus leprosis*. Australian Journal of Crop Science.
- Bassanezi, R. B. et al, 2002. Adeus a leprose. Revista Cultivar, v. 10, n. 1, p. 37.

- Bassanezi, R. B., 2018. Fatores que dificultam o controle do ácaro da leprose. <https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/fatores-que-dificultam-o-controle-do-acaro-da-leprose/645> (acessado em 27 de abril de 2021).
- Bassanezi, R. B. et al., 2019. *Spatial patterns of the Citrus leprosis virus and its associated mite vector in systems without intervention*. Plant Pathology, v. 68, p. 85-93.
- Bastianel, M. et al., 2010. *Citrus leprosis: Centennial of an unusual mite–virus pathosystem*. Plant Disease, v. 94, n. 3, p. 284-292.
- Bitancourt, A. A., 1955. A leprose dos Citrus. O Biológico, São Paulo, v. 6, n.1, p.39-45.
- Campbell, C. L. et al., 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley & Sons, 1990.
- FNP Consultoria & Comércio, 2017. Anuário 2017: anuário estatístico da agricultura brasileira. 808 São Paulo. 432 p.
- Fundecitrus, 2021. Safra de laranja 2020/21 se encerra em 268,63 milhões de caixas / 2020-21 Final orange crop forecast update. <https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/> (acessado em 27 de abril de 2021).
- IBGE, 2002. Climas zonais – Atlas Escolar IBGE. https://atlasescolar.ibge.gov.br/images/atlas/mapas_brasil/brasil_clima (acessado em 07/06/2021).
- Jorge, M. A., 2019. Controle do ácaro da leprose dos citros pelo acaricida espirodiclofeno: influência da mistura de tanque e da frequência de aplicação de inseticidas. Fundo de Defesa da Citricultura.
- Mckinney, W., 2011. *Pandas: a foundational Python library for data analysis and statistics*. Python for High Performance and Scientific Computing, v. 14.
- Mineiro, J. L. C. et al., 2015. Distribuição de *Brevipalpus yothersi* Baker, 1949 (Acari: Tenuipalpidae) em diferentes hospedeiras e localidades no Estado de São Paulo. Biológico, v. 77, n. 2, p. 84-84.
- Olver, F. W. J. et al., 2010. *NIST handbook of mathematical functions hardback and CD-ROM*. Cambridge university press.
- Rodrigues, J. C. V., 2000. Relações patógeno-vetor-planta no sistema leprose dos citros. Piracicaba, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 168p.(Tese de Doutorado).
- Sanchez-Velázquez, E. J. et al, 2015. *Diversity and genetic variation among Brevipalpus populations from Brazil and Mexico*. PLoS ONE 10:e013386.