

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Progresso poliético e quantificação de danos da Clorose Variegada
dos Citros em laranjeiras 'Natal' submetidas a déficits hídricos**

Fabício Packer Gonçalves

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2010**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Fabício Packer Gonçalves
Engenheiro Agrônomo

**Progresso poliético e quantificação de danos da Clorose Variegada dos Citros em
laranjeiras 'Natal' submetidas a déficits hídricos**

Orientadora:

Prof^a. Dra. **LILIAN AMORIM**

Co-orientador: **EDUARDO SANCHES STUCHI**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2010**

Agradeço em Especial

- *A minha mãe Regina L. P. Gonçalves e ao meu pai Oraci Gonçalves, pela educação, carinho e apoio em todos os momentos da minha vida. Aos meus Irmãos Ilka e Valério pelo apoio e ajuda em tudo que for necessário.*

- *A Prof. LÍlian Amorim pela valiosa orientação, pelos conhecimentos transmitidos com muita paciência e seriedade, motivo de minha admiração pessoal e profissional .*

- *A Thayne pelos bons momentos que tivemos juntos, por seus cuidados, e seu jeitinho carinhoso comigo*

Todos vêem o que pareces, poucos percebem o que és.

(Nicolau Maquiavel)

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) e ao Setor de Fitopatologia pela oportunidade de realização do curso.

Ao pesquisador e co-orientador Dr. Eduardo Sanches Stuchi por disponibilizar a área do experimento, pelas sugestões na hora da avaliação e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Bernhard Hau da Universidade de Hannover que tão bem me acolheu durante meu estagio na Alemanha e obviamente pelas ricas sugestões na avaliação de todos os dados coletados. E a sua esposa Heide pela atenção dedicada durante esse período.

A todos os professores do Departamento que sempre estiveram prontos no esclarecimento de dúvidas.

Ao Prof. Armando Bergamin Filho pela ajuda quando foi necessária.

Ao Prof. Luiz Eduardo Aranha Camargo e a toda equipe do seu laboratório pela ajuda nos trabalhos desenvolvidos no local.

A Silvia de Afonseca Lourenço e seu marido Ortiz pela amizade e pela essencial ajuda na avaliação de todos os dados do experimento.

A amiga e colega de doutorado Maria Cândida Gasparoto pela gostosa convivência na Alemanha, bom humor, companheirismo e as boas dicas sugeridas em relação ao trabalho.

À todos os amigos do curso de doutorado, em especial aqueles que iniciaram comigo, André Beltrame, Leonardo Toffano, Isolda Hass, Marisa Renaud, Vanessa Frare, Thais Martins, Pastora Querales.

Aos amigos do laboratório de Epidemiologia Alécio Moreira, Ana Raquel, Caroline Rabello, Felipe Boresztein, Geraldo Junior, Júlio Barbosa, Juliana Baggio, Juliana Speglich que a todo o momento estavam dispostos a me ajudar em todos os tipos de trabalho.

A Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro em nome do Eng.^o Agr.^o Otávio Ricardo Sempionato por ceder a área para a realização desse trabalho.

A toda equipe da Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, em especial: ao Técnico Luiz Gustavo Parolin (Guru) que não mediu esforços para ajudar nas avaliações de campo, principalmente durante a colheita; a secretária Ana que sempre facilitou minha estadia na Estação.

Ao Centro Apta Citros Silvio Moreira em nome do Diretor Marcos Antônio Machado por disponibilizar o Centro para realização de algumas atividades relacionadas a tese.

A pesquisadora Dra. Alessandra Alves de Souza e seu esposo Dr. Helvécio Della Coletta Filho por todas as sugestões e orientação nos trabalhos envolvendo o uso do qPCR.

Ao pesquisador e amigo Dr. Sérgio Alves de Carvalho e sua esposa Dra. Valdenice Moreira Novelli por sempre terem me ajudado nas atividades desenvolvida no Centro Centro Apta Citros Silvio Moreira.

A doutoranda Carolina Munari Rodrigues pela ajuda nos trabalhos de bancada realizada no Centro Apta Citros Silvio Moreira.

Ao CNPq pelo suporte financeiro através da bolsa de estudo.

Ao Fundecitrus por financiar parte do projeto.

A todos esses, o meu MUITO OBRIGADO!!!

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2. DESENVOLVIMENTO.....	17
2. 1 Revisão Bibliográfica.....	17
2.1.1 Epidemiologia da Clorose Variegada dos Citros (CVC)	17
2.1.2 <i>Xylella fastidiosa</i> e cigarrinhas vetoras <i>versus</i> condições ambientais.....	21
2.1.3 Quantificação de doenças de plantas.....	27
2.1.4 Quantificação de danos de doenças de plantas.....	30
2.1.5 Uso da irrigação na citricultura paulista.....	33
2.2 Material e Métodos.....	35
2.2.1 Área.....	35
2.2.2 Delineamento experimental.....	36
2.2.3 Instalação do sistema de irrigação	38
2.2.4 Inoculação natural e artificial de <i>Xylella fastidiosa</i>	39
2.2.5 Dados metrológicos.....	39
2.2.6 Quantificação da Intensidade da ‘Clorose Variegada do Citros’.....	40
2.2.6.1 Incidência de ramos sintomáticos.....	40
2.2.6.2 Intensidade da doença com escala descritiva	41
2.2.7 Desenvolvimento, crescimento e vigor da planta	42
2.2.8 Produção	43
2.2.9 Função de dano.....	44
2.3 Resultados	46
2.3.1 Incidência de ramos sintomáticos.....	46
2.3.2 Intensidade da doença com escala descritiva	53
2.3.3 Desenvolvimento, crescimento e vigor da planta	55
2.3.4 Produção	64
2.3.4.1 Safras 2001 a 2008	65
2.3.4.2 Safras 2001 a 2004	68

2.3.4.3 Safras 2006 a 2008.....	68
2.3.5 Dados meteorológicos	76
2.3.6 Função de dano.....	79
2.4 Discussão	87
3 CONCLUSÕES.....	101
REFERÊNCIAS	102

RESUMO

Progresso poliético e quantificação de danos da Clorose Variegada dos Citros em laranjeiras 'Natal' submetidas a déficits hídricos

A Clorose Variegada dos Citros (CVC), causada pela bactéria *Xylella fastidiosa*, é atualmente a doença de maior incidência no Estado de São Paulo. A incidência e a severidade da doença são maiores nas regiões Norte e Noroeste do Estado, onde o clima é predominantemente quente e com déficit hídrico, principalmente no inverno. Embora não haja nada comprovado, alguns estudos indicam que o déficit hídrico aumenta a severidade dos sintomas nas plantas afetadas pela CVC. Além disso, até hoje não foi estabelecida uma função que relacione doença e dano. Dessa forma, o estudo presente objetivou avaliar o efeito de diferentes níveis de irrigação no progresso poliético da CVC, avaliar métodos de avaliação da doença e determinar uma função de dano para a CVC. Para isso, um experimento foi instalado no município de Bebedouro, região Norte do Estado de São Paulo sob o delineamento blocos ao acaso no esquema fatorial 3 x 2, com os seguintes tratamentos: sem irrigação, irrigado com 50% e 100% da evapotranspiração da cultura (ETc), combinados com inoculação natural e artificial de *X. fastidiosa*. Cada parcela foi constituída de 6 plantas úteis, havendo 4 repetições de cada tratamento, totalizando 144 plantas úteis. As variáveis quantificadas em cada árvore do experimento foram: (a) produção, considerando frutos assintomáticos e sintomáticos, no período de 2006 a 2008 e produção total referente às safras 2001 a 2005; (b) intensidade da doença, através da incidência de ramos com sintomas da CVC e utilizando uma escala descritiva; (c) vigor da planta, estimado pela medida da altura da planta, diâmetro da copa, diâmetro do tronco, volume de copa e do índice de área foliar (IAF). O modelo monomolecular foi utilizado para descrever o progresso poliético da incidência da CVC, no período de 2006 a 2008, para todos os tratamentos. A partir desse modelo foi possível observar que plantas sem irrigação apresentam maior incidência de ramos com sintomas que plantas irrigadas a 100% da ETc, principalmente quando inoculadas de forma artificial. Esse resultado ficou ainda mais evidenciado quando se avalia o número de frutos com sintomas ($\varnothing < 50\text{mm}$) da CVC por tratamento. Também foi possível observar que os sintomas nas plantas são distribuídos de forma irregular, apresentando um gradiente decrescente significativo da parte superior para inferior. As variáveis relacionadas ao vigor da planta, na sua maioria, não apresentaram relação alguma com a produção em todos os tratamentos. De modo geral, as plantas do tratamento irrigado a 100% da ETc combinado com inoculação natural apresentaram maior produção total, considerando as safras de 2001 a 2008. A relação entre CVC e dano pode ser descrita pela equação $(y=114,067*\exp(-0,017555)*x)$ onde y é a produção da planta em Kg e x a incidência de ramos com CVC em porcentagem. A escala descritiva não permitiu avaliação precisa e apresentou baixa correlação entre os avaliadores, o contrário foi observado realizando a avaliação da CVC através da incidência de ramos com sintomas.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*; Avaliação de doença; Função de dano; Epidemiologia

ABSTRACT

Polyetic progress and quantification of damages caused by Citrus Variegated Chlorosis in 'Natal' Orange trees submitted to water deficits

The Citrus Variegated Chlorosis (CVC) caused by the bacteria *Xylella fastidiosa* is nowadays the disease with the most incidence in the state of São Paulo. The incidence and severity of the disease are greater in the Northern and Northwestern regions of the state where the climate is predominately warm and presents a water deficits especially in the winter. Although there is no definite proof, some studies indicate that the water deficits increases the severity of the symptoms in plants affected by the CVC. Besides, up to the present there has not been a function which relates the damage to an intensity of the disease. In that manner, the present study has been conducted in order to evaluate the effect of different irrigation levels on the polyetic progress of the CVC as well as to study methods of assessment of the disease and determine the relationship between disease intensity and yield. In order to carry out this study, an experiment was conducted in the city of Bebedouro – north of São Paulo state. The experimental design was in randomized blocks in a 3 x 2 factorial scheme with the following treatments: no irrigation, irrigated with 50% and 100% of the evapotranspiration of the crop (ETc), combined with natural and artificial inoculation of *X. fastidiosa*. Each group was made of 6 useful plants, with 4 repetitions for each treatment, totalizing 144 useful plants. The variables quantified in each tree of the experiment were: (a) (a) yield, considering asymptomatic and symptomatic fruit in the period 2006 to 2008 and total yield on the crops from 2001 to 2005; (b) intensity of the disease through incidence of branches with symptoms of CVC and using a descriptive scale; (c) plant vigor, estimated through measure of height, crown diameter, trunk diameter, canopy volume and of the leaf area index (LAI). The monomolecular model was used to describe the polyetic progress of CVC incidence between 2006 and 2008 for all treatments. From this model it was possible to observe that plants without irrigation present greater incidence of branches with symptoms than the ones irrigated at 100% of ETc, especially when inoculated in an artificial manner. This result was even more evident when the number of fruit with symptoms is evaluated ($\varnothing < 50\text{mm}$) of CVC per treatment. It was also possible to observe that the symptoms in the plants are scattered in an irregular way, presenting a significant decreasing rate from the upper to the lower part. Most of the variables related to the plant vigor did not present any relation to the production in all treatments. In general, the plants from the irrigated treatment at 100% of ETc combined with natural inoculation presented more total yield considering the harvests from 2001 to 2008. The relationship between CVC and damage can be described by the equation $(y=114,067*\exp(-0,017555)*x)$ where y is the plant yield in Kg and x is the incidence in percentage of branches with CVC. The descriptive scale did not allow accurate assessment and showed a low correlation between the raters, the opposite was observed performing the assessment of CVC through the incidence of branches with symptoms.

Keywords: *Citrus sinensis*; Assessment of plant disease; Damage model; Epidemiology

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de citros e principal exportador de suco de laranja concentrado e congelado há mais de 15 anos (FNP, 2010). Essa posição coloca a citricultura como umas das principais atividades agrícolas do País, movimentando R\$ 9 bilhões por ano e gerando mais de 400 mil empregos diretos (SAMPAIO, 2008; NEVES et al., 2004). Neste cenário, destaca-se o Estado de São Paulo, respondendo por 80% da produção nacional da fruta e por 98% das exportações de suco (FNP, 2010). A área cultivada com laranja em São Paulo corresponde a 600 mil hectares e a produção a 14,4 milhões de toneladas, com valor na ordem de US\$ 1,83 bilhão (FNP, 2010).

O principal desafio que a citricultura paulista enfrenta e enfrentou desde sua implantação no Estado é oriundo de problemas fitossanitários, seja em função da baixa variabilidade genética dos pomares e/ou da continuidade espacial das propriedades agrícolas. Atualmente, a doença de maior incidência no Estado de São Paulo é a Clorose Variegada dos Citros (CVC), causada pela bactéria gram-negativa *Xylella fastidiosa* Wells, que coloniza sistemicamente os vasos do xilema da planta. Essa doença ocorre em aproximadamente 40% da plantas de citros do Estado (FUNDECITRUS, 2009).

Há 20 anos presente no País, a CVC pode ser considerada uma das doenças mais marcantes da citricultura, por pelo menos três motivos: (i) pelos prejuízos que chegam a 120 milhões de dólares/ano (BOVÉ; AYRES, 2007); (ii) pelo sequenciamento genético do agente causal, ter sido o primeiro dentre os fitopatógenos, fato esse que colocou o Brasil na capa de uma das revistas científicas mais importantes do mundo (SIMPSON et al., 2000); (iii) pela mudança no sistema de produção de mudas e borbulhas, levando o Estado de São Paulo a ser exemplo e referência mundial na área (CARVALHO, 2004). Além disso, nos pomares severamente afetados pela doença, as perdas de produção podem chegar a 80% (BOVÉ; AYRES, 2007).

O manejo dessa importante doença é realizado basicamente pelo controle químico das cigarrinhas vetoras de *X. fastidiosa*, uso de mudas saudáveis e pela erradicação ou poda das plantas afetadas. Desde seu aparecimento até os dias atuais a incidência e a severidade da doença são maiores nas regiões Norte e Noroeste do

Estado (AYRES et al., 2001; FUNDECITRUS, 2006, 2009) onde o clima é predominantemente quente e com déficit hídrico, principalmente no inverno. Os levantamentos da incidência e severidade evidenciam a importante influência ambiental no aparecimento e desenvolvimento da doença, uma vez que, a severidade dos sintomas aumenta significativamente à medida que se caminha da região Sul para as regiões Norte e Noroeste do Estado.

Embora importantes trabalhos epidemiológicos tenham sido realizados (LARANJEIRA, 1997, 2002), procurando explicar essa distribuição espacial da doença, algumas lacunas ainda persistem. Alguns estudos indicam que o déficit hídrico aumenta a severidade dos sintomas nas plantas afetadas pela CVC (MACHADO et al., 2007), no entanto, experimentalmente nada foi comprovado. Além disso, mesmo estando presente há 20 anos no País nenhuma função doença e dano foi proposta. Talvez, isso seja fruto da ausência de um método quantitativo para avaliação da doença, pois, na grande maioria das vezes os métodos de avaliação da doença são qualitativos. O método mais frequentemente utilizado, é baseado em uma escala descritiva com apenas quatro notas (SALVA; ROBERTO; CARLOS, 1995).

Dessa forma, esse trabalho buscou avaliar o efeito de diferentes níveis de irrigação na intensidade da CVC na região Norte do Estado de São Paulo, propor uma função de dano para a doença, avaliar métodos quantitativos e qualitativos de avaliação da CVC, e também avaliar o efeito dos tratamentos na produção e no vigor das plantas.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Epidemiologia da Clorose Variegada dos Citros (CVC)

A CVC foi constatada pela primeira vez no Brasil em 1987, em pomares citrícolas de Colina – SP, e logo depois no sul do Triângulo Mineiro e nas regiões Norte e Noroeste do Estado de São Paulo (ROSSETI; DE NEGRI, 1990). Em 1990, foi observada em microscópio eletrônico, a presença de uma bactéria semelhante a bactéria do gênero *Xylella*, apenas em tecidos de plantas que apresentavam sintomas de CVC (ROSSETI et al., 1990). Já em 1993, os postulados de Koch foram cumpridos e foi estabelecido que *Xylella fastidiosa* Wells et al., era agente etiológico da CVC (CHANG et al., 1993; LEE et al., 1993).

Mais recentemente, *X. fastidiosa* Wells et al., foi classificada em três diferentes subespécies, *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, *multiplex* e *pauca* (SCHAAD et al., 2004). A subespécie *pauca* foi classificada como agente etiológico da CVC. No entanto, essa classificação parece não ser unânime nos trabalhos científicos. Dessa forma, neste trabalho optou-se pela manutenção da nomenclatura original. *X. fastidiosa* é uma bactéria gram negativa, aeróbica, com formato de bastonete e de tamanho variável (até 0,7 µm de diâmetro e 20 µm de comprimento), é não pigmentada e não apresenta flagelos, conseqüentemente é imóvel (WELLS et al., 1987). Caracteriza-se pelo crescimento lento em meio de cultura, sendo suas colônias circulares, medindo até 1,5 mm de diâmetro após 30 dias de incubação a 28°C (COLETTA FILHO, 2002). Essa bactéria é limitada ao xilema das plantas hospedeiras e ao lúmen do canal alimentar de insetos vetores responsáveis pela transmissão da bactéria entre plantas (PURCELL; HOPKINS, 1996).

A transmissão e disseminação natural de *X. fastidiosa* em citros são dependentes da ação de cigarrinhas pertencentes às famílias Cicadellidae e Cercopidae (LOPES, 1996; ROBERTO et al., 1996). Atualmente existem doze espécies de cigarrinhas comprovadamente vetoradas de *X. fastidiosa* causadora da CVC (FUNDECITRUS, 2006; YAMAMOTO et al., 2007). O mecanismo de transmissão é propagativo e não circulativo, sem, no entanto, haver transmissão transovariana (LOPES, 1996). Segundo Lopes (1996), o período de aquisição e inoculação deve ser

de aproximadamente uma hora com ausência de período latente, e a eficiência de transmissão é relativamente baixa, menor que 18% variando entre as espécies vetoras (FUNDECITRUS, 2006; LOPES, 1999; YAMAMOTO et al., 2002).

Praticamente todas as espécies do gênero *Citrus* são suscetíveis à CVC, porém as laranjas doces (*Citrus sinensis*) são as mais afetadas pela doença (LARANJEIRA; POMPEU JUNIOR; HARAKAVA, 1995; LARANJEIRA et al., 1998b) e apresentam os seguintes sintomas: manchas cloróticas, irregulares, e internervais na face superior da folha, que correspondem a manchas de cor marrom avermelhada, salientes ao tato, na face inferior da folha; os ramos afetados têm geralmente, entrenós encurtados, dando aspecto “envassourado”; os frutos tornam-se pequenos, endurecidos, com coloração típica de frutos maduros (ROSSETTI, 2001).

Desde sua constatação até os dias atuais, vários estudos do desenvolvimento da CVC no espaço e no tempo foram realizados. O primeiro relato do progresso da incidência e severidade da CVC em função do tempo foi feito por Palazzo e Carvalho (1992). Após 3 anos avaliando folhas e ramos marcados em plantas severamente atacadas pela CVC, as autoras constataram que, a incidência e severidade começaram a aumentar no final da primavera alcançando o máximo no final do verão. Segundo as autoras, esse fato coincidiu com a elevação da temperatura e aumento dos índices de pluviosidade e surtos vegetativos.

Gottwald et al. (1993), avaliando anualmente a incidência de CVC em talhões de citros, concluíram que o progresso da doença ajusta-se ao modelo de Gompertz, e que a partir de uma árvore infectada com *X. fastidiosa* 90% das árvores localizadas em um raio de 20 hectares seriam também infectadas num período de 12 anos. Outras avaliações detectaram aumento na incidência de 14,4 a 32,2% entre nove meses (BERETTA et al., 1994) e de 11 para 82% entre dois anos (ROBERTO; FARIAS; BERGAMIN FILHO, 2002). Nunes (1999) obteve resultados semelhantes aos de Gottwald et al. (1993), porém o modelo ajustado foi o logístico e as avaliações foram bimestrais, em talhões do Norte do Estado de São Paulo.

Por outro lado, Laranjeira (1997), estudando o progresso da CVC em diversos talhões na região Norte do Estado de São Paulo, ajustou o modelo duplo sigmóide para explicar o crescimento da doença. Esse autor observou que as épocas de maior

progresso da CVC eram primavera e verão, e que no outono e inverno a doença praticamente não evoluía. Além disso, os meses de maior expressão de sintomas também corresponderiam a período de maior probabilidade de infecção da bactéria. Possivelmente, os picos de velocidades da CVC e a maior probabilidade da infecção da *X. fastidiosa*, estejam relacionados a determinados picos de emissão de brotações (LARANJEIRA et al., 2003b), já que as cigarrinhas preferem tecidos novos e tenros para se alimentar (LOPES, 1999). Populações de cigarrinhas vetoras aumentam após o início das chuvas na primavera, atingindo pico máximo no verão, ao passo que no inverno o número desses vetores cai rapidamente (GARCIA JUNIOR; LOPES; BERETTA, 1997). Isso também poderia explicar maiores infecções nessas épocas.

Em contraste aos trabalhos citados, Laranjeira et al. (2003a), não puderam ajustar modelos conhecidos às curvas de progresso da CVC obtidas em pomares localizados nas zonas Noroeste, Centro e Sul do Estado de São Paulo. Entretanto, os autores, observaram picos de progresso da CVC em sua maioria coincidindo com a primavera e o verão, corroborando com o trabalho de Laranjeira (1997). Ainda com relação à dinâmica temporal da CVC, o modelo logístico apresentou o ajuste mais adequado para descrever o comportamento da doença, para três variedades de laranja doce na região Noroeste do Paraná (NUNES et al., 2006).

Com relação à distribuição espacial, a CVC ocorre em todas as regiões produtoras de citros no Brasil (SANTOS FILHOS et al., 1999; POLTRONIERI et al., 2005). Além da Argentina (BRLANSKY et al., 1991), Paraguai (SEGNANA et al., 1998) e Costa Rica (AGUILAR et al., 2005).

Dentro do Estado de São Paulo os levantamentos realizados entre 1996 e 1999, mostraram que há um gradiente decrescente na incidência da doença entre as regiões citrícolas do Norte, Noroeste, Centro e Sul, respectivamente (AYRES; GIMENES-FERNANDES; BARBOSA, 2001). Nesse levantamento, os autores concluíram que as zonas Norte e Noroeste apresentaram as maiores incidência de CVC, e a zona Sul, a menor incidência. Segundo dados mais recentes do Fundecitrus, houve uma pequena redução na incidência da doença do ano 2005 (43,28%) para 2009 (39,19%). No entanto, essa continua sendo a doença de maior incidência no parque citrícola do Estado de São Paulo. (FUNDECITRUS, 2009).

No ano de 2005, do total de plantas amostradas, a região norte apresentou 69% de plantas com sintomas, seguidas das regiões Noroeste (56%), Central (51%), Oeste (9,5%) e Sul (4,7%), corroborando com os dados obtidos por Ayres; Gimenes-Fernandes e Barbosa (2001). Já no ano de 2009, o percentual de plantas afetadas com CVC se manteve próximo aos 52% na região Central. Em outras áreas, houve quedas significativas. Na região Norte, por exemplo, o índice foi de 52%, na Noroeste, 46,7% e na Oeste, 1,15%. Porém, na região Sul a incidência foi de 20,3%, bem superior ao ano de 2005 (FUNDECITRUS, 2009). As regiões com maiores incidências apresentam também, as maiores severidades da doença, segundo escala de notas adotada pelo Fundecitrus (FUNDECITRUS, 2006, 2009).

As hipóteses que tentam explicar essa distribuição espacial são: (a) inóculo inicial, os primeiros relatos da CVC no Brasil, são provenientes das zonas de maiores incidência e severidade atualmente da doença. Sendo assim, a doença pode estar presente há mais tempo nessas áreas, que se constituíram em fontes de inóculo para disseminação do patógeno preferencialmente para as áreas adjacentes (AYRES; GIMENES-FERNANDES; BARBOSA, 2001) (b) aspectos climáticos, as distintas condições climáticas, como temperatura e estresse hídrico, poderiam estar interferindo na fenologia das laranjeiras, na população de insetos vetores e até mesmo na multiplicação e translocação da bactéria na planta (AYRES; GIMENES-FERNANDES; BARBOSA, 2001; PEREIRA, 2000); (c) estirpes do agente causal, há diferentes haplótipos (estirpes) da *X. fastidiosa* de citros que podem ter comportamento distintos em relação à patogenicidade (AYRES; GIMENES-FERNANDES; BARBOSA, 2001; QIN et al., 2001).

Na tentativa de confirmar, refutar ou esclarecer essas hipóteses, Laranjeira et al. (2003a) estudaram o comportamento sazonal da CVC nas regiões Noroeste, Centro e Sul do Estado de São Paulo. Nesse estudo, os autores avaliaram porcentagem de ramos sintomáticos, porcentagem de ramos assintomáticos, concentração relativa da bactéria em tecidos assintomáticos e fluxos de brotações e obtiveram os seguintes resultados: pomares da região Noroeste apresentam maiores quantidades de brotações novas e ramos sintomáticos que pomares das outras regiões; pomares da região Sul apresentam maiores quantidade de infecções assintomáticas; a concentração relativa

de *X. fastidiosa* não diferiu entre pomares das três regiões. Além disso, os autores observaram que pomares das regiões Noroeste e Sul, não diferiram entre si, e apresentaram maiores quantidade de infecções totais que a região Central. A maior quantidade de ramos assintomáticos na região Sul, sem, no entanto, expressar sintomas, foi atribuída à baixa favorabilidade ambiental dessa região ao desenvolvimento da doença (LARANJEIRA et al., 2003b).

Em relação aos aspectos climáticos, a região Norte do Estado de São Paulo tem como característica temperatura do ar mais elevada e menor ocorrência de chuvas, principalmente no inverno, em relação às outras regiões (RIBEIRO; MACHADO, BRUNINI, 2006). A partir dessa região, para as regiões Central, Sul e Oeste há uma redução na temperatura e no déficit hídrico. De acordo com Ribeiro; Machado e Brunini (2006) observa-se acentuada deficiência hídrica em municípios da região Norte; deficiência hídrica moderada nos municípios das regiões Central e parte do Sul e deficiência hídrica pequena ou inexistente em municípios localizados nas regiões Oeste e Sul do Estado de São Paulo. Essas informações, juntamente com a distribuição espacial da CVC mostram uma clara relação entre a incidência e a severidade da CVC com temperatura e estresse hídrico.

Já termos práticos, os diversos trabalhos epidemiológicos realizados com a CVC, puderam concluir que: a CVC não se mostra no campo em reboleiras facilmente identificáveis, ou seja, a agregação existente é fraca (LARANJEIRA et al., 1998a, 2004) as maiores fontes de inóculo são pomares contaminados próximos a áreas recém-plantadas (LARANJEIRA et al., 1998a), não há influência marcante de práticas agrícolas na disseminação da doença (GOTTWALD et al., 1993; LARANJEIRA et al., 1998a, 2004); as épocas de maior aparecimento da CVC são primavera e verão (LARANJEIRA, 1997; LARANJEIRA et al., 1998a).

2.1.2 *Xylella fastidiosa* e cigarrinhas vetoras versus condições ambientais

O aparecimento e desenvolvimento de uma doença são resultantes da interação entre uma planta suscetível, um agente patogênico e fatores ambientais favoráveis. No caso da CVC, o vetor é mais um componente que é influenciado diretamente pelo

ambiente. Dessa forma, e pela distribuição espacial da CVC (item 2.1.1.), o ambiente, é um componente relevante, principalmente nessa interação.

Diversos trabalhos evidenciam a importância, tanto da temperatura como do estresse hídrico no comportamento e na ocorrência das cigarrinhas vetoras da CVC. Em anos com distribuição normal de chuvas, a colonização dos pomares pelas cigarrinhas ocorre a partir do início da primavera e a população tende a ser maior, enquanto, em anos de estiagem prolongada, a infestação surge mais tardiamente, possivelmente pelo atraso na emissão de brotações (ROBERTO; YAMAMOTO, 1998). Experimentos de inoculação mecânica evidenciaram que a época do ano mais quente e chuvosa é mais favorável à infecção primária da bactéria, enquanto que a época mais fria e seca, aparentemente, parece ser menos favorável ao estabelecimento de infecções iniciais de *X. fastidiosa* em ramos de plantas cítricas (YAMAMOTO; LOPES, 2004). A flutuação populacional de cigarrinhas vetores foi diretamente relacionada às elevadas temperaturas ocorridas nos meses de dezembro a maio na região noroeste do Estado do Paraná (NUNES et al., 2007).

Farias et al. (2004), estudando a distribuição espacial de três cigarrinhas (*Dilobopterus costalimai* Young, *Acrogonia* sp. e *Oncometopia facialis* Signoret) vetoras de *X. fastidiosa*, observaram que durante três anos consecutivos *Acrogonia* sp. e *D. costalimai* mostraram populações intermediárias durante o verão, picos durante a primavera e baixas populações no outono e inverno. A outra espécie mostrou população baixa e estável durante os três anos para todas as estações. Os autores associaram esse comportamento ao crescimento vegetativo das plantas que ocorre durante a primavera e o verão (períodos mais quentes e chuvosos), e à preferência de cigarrinhas por árvores que não estão sob estresse hídrico.

Em condições simuladas de inverno (19°C) e verão (24°C), adultos da cigarrinha *O. facialis* mantidas em “seedlings” cítricos sob regime de estresse hídrico tiveram um percentual de sobrevivência e volume de excreção açucarada muito inferiores àqueles mantidos em plantas irrigadas (PEREIRA et al., 2005). Por outro lado, na simulação de verão, as taxas de sobrevivência das cigarrinhas nos dois regimes hídricos foram inferiores às obtidas nas condições de inverno (PEREIRA et al., 2005).

Em outro estudo em condições controladas a alimentação, a ovoposição e o número de cigarrinhas (*Homalodisca vitripennis* German) em citros (*Citrus sinensis* var. Washinton Navel) de dois anos de idade, foram maiores nas mudas mantidas em condições adequadas de irrigação do que aquelas sob moderado estresse hídrico (NADEL et al., 2008). Os autores sugeriram que esses resultados deveriam estar relacionados à maior tensão nos vasos do xilema das plantas sob estresse hídrico.

O recente trabalho de campo realizado por Krugner et al. (2009), de certa forma está condizente com os trabalhos em condições controladas. Os autores estudaram a relação entre cigarrinhas *H. vitripennis* e plantas de citros (*C. sinensis* var. Valência) com mais de 30 anos de idade submetidas a três níveis de irrigação (60, 80 e 100% da ETc) durante dois anos. Os resultados mostraram que plantas irrigadas a 60% da ETc apresentaram folhas significativamente mais quentes, menor potencial de água no xilema e conseqüentemente menor número de insetos adultos, ovos e ninfas que as árvores irrigadas a 80% da ETc. Mas, curiosamente, o tratamento a 100% da ETc hospedou número semelhante de adultos, ovos e ninfas de cigarrinhas que o tratamento a 60% ETc. Os autores sugeriram que, plantas irrigadas a 80% da ETc têm a concentração de nutrientes no xilema em nível mais adequado, que plantas a 100% da ETc. Além disso, não observaram diferença no fluxo de seiva do xilema entre os níveis 80 e 100% da ETc.

A observação de plantas cítricas no campo, também tem mostrado que as cigarrinhas, de modo geral, apresentam preferência por determinados locais na planta. Setores da planta onde não incidem diretamente os raios solares são os preferidos (GRAVENA et al., 1997) e são capturadas em maior número na face norte de planta mais velha (ROBERTO et al., 1996).

As cigarrinhas apresentam nítida preferência por hastes que estão emitindo brotações (MARUCCI et al., 2004), possivelmente em função das maiores concentrações de aminoácidos na seiva do xilema observadas nesses locais (BI et al., 2007). No estudo de seleção do local de alimentação realizado por Miranda et al. (2008), 91% das cigarrinhas (*Bucephalagonia xanthophis* (Berg)) mostraram preferência pela parte superior da muda cítrica. Essa preferência, segundo os autores deve-se a ocorrência de ramos novos nessa região da planta.

Estudos realizados por Marucci et al. (2005) e Montesino et al. (2006), revelaram que as cigarrinhas *O. facialis* e *D. costalimai* têm uma clara preferência em alimentar-se em plantas sadias que em plantas com sintomas de CVC. Entretanto, é de se esperar que haja diferenças entre o comportamento alimentar das diversas cigarrinhas vetoras em citros (GRAVENA et al., 1997). Por outro lado, o estudo do comportamento alimentar, local de preferência hospedeira e influência ambiental nesses vetores são relevantes, pois esses fatores estão diretamente ligados com aquisição, inoculação da bactéria e conseqüentemente com o controle desses vetores (LOPES, 1996 e 1999).

Assim como seus vetores, *X. fastidiosa* é influenciada tanto pelo déficit hídrico como por diferentes temperaturas. Segundo Hopkins (1989), a patogenicidade da *X. fastidiosa* é agravada pela ocorrência de estresses adicionais. A maioria dos estudos que relacionam a bactéria com essas variáveis ambientais é oriunda da doença de Pierce em videira. Para esse patossistema, *X. fastidiosa* apresenta rápida taxa de crescimento nas temperaturas entre 25 e 32°C baseados em estudos *in vitro* e em videiras (FEIL; PURCELL, 2001). Nesse estudo, a população da bactéria passou a ser afetada em temperaturas abaixo de 10°C e acima de 34°C no interior dos vasos do xilema de mudas de videiras.

Nos Estados Unidos o inverno limita a distribuição geográfica da doença de Pierce devido a não sobrevivência de *X. fastidiosa* a baixas temperaturas (PURCELL, 1980). Para confirmar essa observação Feil, Feil e Purcell (2003) inocularam *X. fastidiosa* em videiras com 20 anos de idade na primavera e no verão, em diferentes locais no Estado da Califórnia durante três anos. Após a passagem do inverno, os autores observaram que 54% das plantas inoculadas na primavera e 82% daquelas inoculadas no verão recuperaram-se totalmente das infecções de *X. fastidiosa*, os autores associaram essa recuperação à poda de inverno e às baixas temperaturas ocorridas nessa época do ano. No patossistema CVC, temperaturas mais elevadas aumentam a diferença na quantidade dos fotoassimilados (condutância estomáticas e assimilação de CO₂), entre plantas sadias e plantas infectadas com *X. fastidiosa* (RIBEIRO; MACHADO; OLIVEIRA, 2004). Esse resultado, segundo os autores, explica em parte, os maiores danos da CVC em regiões mais quentes do Estado de São Paulo (RIBEIRO; MACHADO; OLIVEIRA, 2004).

Vários trabalhos (CHOAT et al., 2009; MCELTRONE; FORSETH; 2004; MCELTRONE; SHERALD; FORSETH, 2001; THORNE et al., 2006;), em diferentes hospedeiros (mas, ainda não em citros), têm comprovado que o déficit hídrico aumenta a severidade do sintomas e o progresso da *X. fastidiosa* nas plantas. O estresse hídrico aumentou a severidade dos sintomas e taxa de propagação de *X. fastidiosa* em uma espécie de videira silvestre (*Parthenocissus quinquefolia* L.), quando comparada com plantas infectadas e bem irrigadas (MCELTRONE; SHERALD; FORSETH, 2001). Além disso, foi observado que as plantas de *P. quinquefolia* infectadas com a bactéria e sob estresse hídrico produzem menor quantidade de fotoassimilados (MCELTRONE; FORSETH, 2004). Em mudas de videira com três anos de idade, também foi observado que o estresse hídrico aumenta a incidência e a severidade dos sintomas do Mal de Pierce após 48, 77 e 91 dias da inoculação de *X. fastidiosa* (THORNE et al., 2006).

Dois mecanismos são propostos para explicar como o estresse hídrico aumenta a suscetibilidade de plantas ao ataque de fitopatógenos: (i) a redução na quantidade de fotoassimilados causada pela falta de água impossibilita a defesa da planta contra o fitopatógeno, por reduzir a síntese proteica e / ou (ii) o crescimento da planta é reduzido sem, no entanto, ocorrer a redução da habilidade de multiplicação do fitopatógeno ocasionando assim, o progresso da doença e da severidade dos sintomas no hospedeiro (BOYER, 1995). Além disso, plantas sob estresse hídrico apresentam redução na condutividade hidráulica dos vasos do xilema, no potencial de água nas folhas, na taxa de fotossíntese; somado a esses fatores, a colonização dos vasos do xilema pela bactéria, resultaria num rápido e severo aparecimento dos sintomas (MCELTRONE; SHERALD; FORSETH, 2003).

Parece claro que plantas sob estresse hídrico são mais suscetíveis aos mecanismos de patogenicidade da *X. fastidiosa*. Entretanto, ainda não está claro, se *X. fastidiosa* induz, através da colonização e oclusão dos vasos do xilema, sintomas de deficiência hídrica em plantas. Thorne et al. (2006) demonstrou claramente que os sintomas ocasionados por *X. fastidiosa* em videiras são quantitativamente e qualitativamente diferentes daqueles provocados por vários níveis de deficiência hídrica.

Se *X. fastidiosa* induz sintomas pela colonização e oclusão dos vasos do xilema a correlação entre a severidade e a concentração da bactéria deveria ser positiva (GAMBETTA et al., 2007). No entanto, trabalhos recentes questionam essa teoria. Por exemplo, Gambetta et al. (2007) observaram que folhas de videiras com populações praticamente não detectáveis de *X. fastidiosa* apresentaram severo sintoma da doença de Pierce, enquanto que, folhas com altas populações praticamente não tinham sintomas, sugerindo que os sintomas da doença não devem estar relacionados a elevadas concentrações da bactéria. Choat et al. (2009) mostraram que há correlação entre população de *X. fastidiosa* e sintomas do Mal de Pierce em videiras com deficiência hídrica. Entretanto, essa correlação não existiu em plantas sem deficiência hídrica, mesmo observando altas populações da bactéria, as plantas não expressaram muitos sintomas. Além disso, os autores mostraram que a diferença na condutividade hidráulica do xilema ocorreu entre plantas com e sem estresse hídrico, independentemente da inoculação da bactéria. Os autores sugeriram que plantas sob estresse hídrico são mais sensíveis à presença da bactéria e que os sintomas da doença de Pierce representam uma forma de senescência acelerada, sendo parte de uma resposta sistêmica da planta à infecção de *X. fastidiosa*.

Por outro lado, muitos estudos (ALVES et al., 2004; MACHADO et al., 2006; 2007; NEWMAN et al., 2003; PURCELL; HOPKINS 1996,) estão de acordo com a teoria da oclusão vascular do xilema. Em folhas de ameixeira e cafeeiro, mas não em citros, houve correlação entre a severidade da doença e a percentagem de vasos colonizados (não necessariamente obstruídos) por *X. fastidiosa* (ALVES et al., 2004). A queda na transpiração, no fluxo de seiva e na fotossíntese foi associada à colonização dos vasos do xilema pela *X. fastidiosa* em plantas de citros (MACHADO et al., 2006; 2007). Folhas de videira com sintomas da doença de Pierce apresentaram maior porcentagem de vasos do xilema colonizados por *X. fastidiosa*, que folhas ainda sem sintomas, sugerindo que maior proporção de vasos obstruídos pode levar a doenças (NEWMAN et al., 2003). Seguindo esse raciocínio, Krivanek e Walker (2005), classificaram alguns genótipos de *Vitis* spp. como resistente ou suscetível, em função da maior ou menor quantidade de *X. fastidiosa* nas folhas e no tronco das plantas.

As observações até aqui descritas, por si só não respondem a seguinte questão: Somente as elevadas populações de *X. fastidiosa* no pecíolo e nas folhas seriam responsáveis pelo sintoma nas plantas hospedeiras? As evidências mostram que não. Entretanto, obviamente há outros fatores relacionados com a patogenicidade da *X. fastidiosa* que não foram aqui descritos. Como por exemplo, a hipótese que *X. fastidiosa* produz celulases para alcançar os vasos adjacentes do xilema (ALVES et al., 2009) e o envolvimento do hormônio etileno na expressão de sintomas de *X. fastidiosa* (PEREZ-DONOSO et al., 2007). Dessa forma, mais estudos envolvendo interações entre: planta, *X. fastidiosa*, estresse hídrico, temperatura e os outros fatores ainda são necessários.

2.1.3 Quantificação de doenças de plantas

A quantificação de doenças de plantas é necessária em praticamente todos os estudos epidemiológicos, sua importância pode ser bem compreendida pelas seguintes afirmações: "Diagnose e avaliação de doenças de plantas são duas funções igualmente importantes dos fitopatologistas (JAMES, 1974)"; "Sem quantificar doença, nenhum estudo em epidemiologia ou em suas aplicações, seria possível (KRANZ, 1988)"; "De nada adiantaria conhecer o patógeno de uma doença se não fosse possível quantificar os sintomas por ele causados (AMORIM, 1995)". Além disso, sem a quantificação de doença é impossível conhecer sua importância.

A quantificação de doenças de plantas frequentemente é considerada como sinônimo de fitopatometria. Entretanto, alguns autores (NUTTER JR; ESKER; COELHO-NETTO, 2006) distinguiram quantificação de doença e fitopatometria, sendo a primeira definida como o processo (o ato) de medir quantitativamente a intensidade da doença e/ou patógeno, e a segunda como a teoria e a prática da quantificação da doença. Porém, nesse estudo os termos serão usados como sinônimos (AMORIM, 1995; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996).

No estudo da fitopatometria, alguns termos como incidência, severidade, intensidade e prevalência são frequentemente utilizados e suas definições são importantes, principalmente, no contexto da padronização dos métodos de avaliação de doença. Assim, incidência é definida como porcentagem de plantas doentes ou partes

de plantas doentes em uma amostra ou população (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996); severidade, porcentagem da área ou do volume de tecido coberto por sintomas (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996); intensidade é um termo mais amplo, que pode ser expresso como incidência e severidade (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996); prevalência é o número de unidades amostrais geográficas (pomares, fazendas, municípios, estados, regiões etc), onde a doença ou o patógeno foi detectado, dividido pelo número total de unidades amostrais avaliadas, normalmente expressa em porcentagem (NUTTER JR; ESKER; COELHO-NETTO, 2006). Laranjeira et al. (2008) caracterizaram o padrão espacial regional da CVC em duas regiões da Bahia, e observaram que embora alguns municípios tiveram prevalência de 100%, a incidência não passou de 20% e concluíram que uma das regiões estudadas (Recôncavo Baiano), pode ser considerada como região livre da CVC, pois, apresentou 0 % de prevalência em relação a pomares por municípios e 0% de incidência dentro de cada um dos pomares avaliados.

Mesmo sendo fundamental na fitopatologia, a fitopatometria falha na falta de padronização, enquanto que, métodos de diagnose, moleculares ou não, de doenças de plantas são padronizados universalmente (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO, AMORIM, 1996). Até mesmo, os métodos de inoculação de patógenos são padronizados. Para *X. fastidiosa*, por exemplo, há basicamente três métodos de inoculação: borbulha infectada, geralmente para experimentos de campo (LI et al., 1996); deposição da suspensão bacteriana no caule e posterior ferimento com agulha, para experimento em condições controladas (LOPES et al., 2005); inseto vetor, tanto para condições de campo, como para condições controladas (PEREIRA et al., 2005).

Por outro lado, exemplos da não padronização da quantificação de doença não faltam na literatura. No patossistema CVC, experimentos visando testar genótipos mais ou menos resistentes à doença, divergem nesse aspecto. Enquanto, alguns autores utilizam de escala descritiva com 4 notas (SOUZA et al., 2006; STUCHI et al., 2004), outros utilizam escalas com 6 notas (LARANJEIRA; POMPEU JUNIOR, 2002). Há ainda, autores que utilizam da contagem do número de lesões em folhas (LI et al., 2000), e aqueles que sugerem a utilização da porcentagem de vasos do xilema colonizados pela bactéria (ALVES et al., 2004). É interessante ressaltar ainda, que foi

desenvolvida uma escala diagramática para avaliação da severidade foliar da CVC (AMORIM et al., 1993).

Para a quantificação da doença há basicamente dois métodos, os diretos e os indiretos. Os métodos diretos quantificam doença através da estimativa da incidência e/ou da severidade, necessitando, portanto, da presença de sintomas visíveis a olho nu. Já, os métodos indiretos, não necessitam da exteriorização do sintoma para serem utilizados e são realizados através da quantificação da população do patógeno (JAMES, 1974; AMORIM, 1995). Em videiras, o uso do método indireto foi realizado, para selecionar genótipos de *Vitis* spp. mais resistentes a *X. fastidiosa* (KRIVANEK; WALKER, 2005). Nesse caso, a população do patógeno foi quantificada em diferentes segmentos da planta (caule e folha) através da técnica do PCR quantitativo.

No caso específico da CVC, há ainda um agravante na avaliação da severidade da doença. É o período de incubação, definido como tempo compreendido entre a deposição do patógeno sobre o hospedeiro e o aparecimento do sintoma visível a olho nu (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996, 2002). Para CVC esse intervalo de tempo, situa-se entre 6 e 14 meses em condições naturais (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2002). Esse período longo e variável dificulta a avaliação da doença. Além disso, para a maioria dos patossistemas a severidade da doença está diretamente relacionada com a população do patógeno (NUTTER JR; ESKER; COELHO-NETTO, 2006). Entretanto, para *X. fastidiosa* isso nem sempre é verdade (GAMBETTA et al., 2007), dificultando ainda mais, a quantificação da doença ou nesse caso do patógeno.

Para doenças vasculares, como a CVC, o parâmetro incidência parece ser mais adequado a ser utilizado na avaliação da doença (AMORIM, 1995). A incidência só pode ser correlacionada com dano nesses casos, onde a doença é sistêmica. Entretanto, quando se utiliza desse parâmetro é sempre importante deixar claro qual população (planta, ramo, folha ou fruto) está sendo avaliada (MADDEN; HUGHES; BOSH, 2007).

A quantificação de doença de plantas e sua importância foram aqui descritas de forma bem sucinta, entretanto, um dos seus maiores objetivos é fornecer dados quantitativos sobre a ocorrência e desenvolvimento das doenças, os quais serão utilizados na quantificação do dano causado pela doença (item 2.1.4). Além disso,

através de avaliações de doenças é possível distinguir a eficácia de fungicidas, a maior ou menor resistência de variedades frente a doenças e diferenciar tratamentos diversos.

2.1.4 Quantificação de danos de doenças de plantas

A fitopatologia surgiu como ciência em 1858 a partir dos danos causados pelas doenças de plantas (BERGAMIN FILHO; KIMATI, 1995), e, é em função desses danos que se direcionam as táticas de controle de doenças, que se investe na produção de variedades resistentes, que projetos de pesquisas são financiados (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO et al., 1995).

Embora essencial dentro da fitopatologia há poucos trabalhos específicos sobre quantificação de danos ou perdas ocasionados por doenças de plantas, principalmente para cultura dos citros (LARANJEIRA, 2006). Dano é definido com qualquer redução na qualidade e/ou quantidade da produção, por exemplo, Kg/ha, e perda, como a redução no retorno financeiro por hectare, por exemplo, R\$/ha⁻¹, devido à ação de organismos nocivos (ZADOKS, 1985).

A estratégia geral de quantificação de dano envolve basicamente a instalação de experimentos de campo que contenham plantas saudáveis e doentes. Esses experimentos podem ser instalados pelo método da parcela experimental ou da planta individual. Resumidamente, o primeiro método compara o conjunto de dados provenientes das parcelas, já o segundo, relaciona a produção e a quantidade de doença específica de cada planta, cada método apresenta suas vantagens e desvantagens (BERGAMIN FILHO et al., 1995). Todas as condições de manejo do experimento deveriam ser as mais próximas possíveis das adotadas pelos produtores, desde a escolha da variedade ou cultivar, pulverizações até a colheita (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO et al., 1995). Além disso, são desejáveis, avaliações do comportamento da doença e do hospedeiro sob diferentes condições climáticas, por um mínimo de três anos (JAMES, 1974; BERGAMIN FILHO et al., 1995). Após isso, normalmente, analisa-se as relações entre a intensidade da doença e o dano, utilizando modelos matemáticos.

Na literatura há muitos modelos utilizados para relacionar doença e dano (MADDEN; HUGHES; VAN DE BOSH, 2007). Os comumente utilizados são o modelo

do ponto crítico, múltiplos pontos, sinecológicos, de superfície resposta e modelos que utilizam de variáveis integrais. O modelo do ponto crítico é o mais simples de todos e relaciona o dano à doença, somente em um determinado estágio fenológico da cultura, enquanto que o modelo de múltiplos pontos faz a relação dano-doença em diferentes estádios de desenvolvimento da cultura. Já modelos integrais usualmente relacionam produção com à área abaixo da curva do progresso da doença (AUDPC). O modelo sinecológico relaciona várias doenças (bióticas ou abióticas), aumentando assim o número de dados, ao dano provocado ao hospedeiro. O modelo de superfície resposta diverge um pouco em relação aos demais, pois estima o dano a partir de duas diferentes variáveis, doença e estágio de desenvolvimento do hospedeiro, por exemplo (BERGAMIN FILHO et al., 1995). Para qualquer modelo utilizado ou gerado, o ideal seria relacionar uma quantidade x de doença a uma redução y na produção, em um determinado estágio fenológico da planta, sob diferentes condições ambientais e/ou de tratamento.

Embora muitos estudos relacionem doença ao dano, essa relação tem recebido consideráveis críticas (WAGGONER; BERGER, 1987; LOPES; BERGER; BERGAMIN, 1994; BERGAMIN et al., 1995), essencialmente devido a atenção especial que é dada ao patógeno ou a doença, negligenciando o hospedeiro. A sugestão desses autores é a avaliação da área sadia da planta e não avaliação da área doente, já que a produção em grande parte é em função da área sadia fotossintetizante.

Para o patossistema CVC há alguns trabalhos pioneiros (PALAZZO, 1993; TUBELIS et al., 1993) e outros mais recentes (AYRES; GIMENES-FERNANDES; BARBOSA, 2001; LARANJEIRA; POMPEU JUNIOR, 2002) que relacionam doença a dano. Palazzo (1993) comparou, pelo método de planta individual, a produção de laranjeiras 'Natal' (enxertada em tangerina 'Cleópatra') sadias e doentes, por dois anos, em um pomar na região noroeste do Estado de São Paulo. No primeiro ano, o dano médio foi de 19,7% devido apenas ao menor peso dos frutos nas plantas doentes. No segundo ano, o dano foi de 71,5% devido à redução do peso e do número de frutos por planta. Segundo a autora, os danos seriam de 33,4 e 76% para o primeiro e segundo ano, respectivamente, caso os frutos fossem destinados ao mercado *in natura*, devido à redução do tamanho dos frutos em função da doença. Na mesma época, Tubelis et al.

(1993) fizeram um levantamento da incidência (porcentagem de plantas sintomáticas) e de dano (porcentagem de frutos afetados) causados pela CVC avaliando 39 pomares em 4 municípios da região Noroeste do Estado de São Paulo. A incidência variou de 0,05% a 40% e, os danos, de 0,003 a 7,54%. Esses são dados de pomares e não de plantas individuais, por isso a diferença é tão grande entre os dois trabalhos.

Mais recentemente, Ayres; Gimenes-Fernandes e Barbosa (2001) relacionaram a intensidade de sintomas aos danos causados pela CVC no Estado de São Paulo e Sul do Triângulo Mineiro. Para isso, os autores realizaram um levantamento estratificado, utilizando com critério de estratificação variedades ('Pêra', 'Natal' e 'Valência') e idade (3 a 5 anos e 6 a 10 anos). Em cada estrato comparou-se plantas saudáveis (sem sintomas) e plantas com três diferentes níveis de doença (1, 2 e 3), quanto ao número e ao peso dos frutos. Os resultados mostraram que as variedades não diferiram entre si, e não houve redução significativa entre as plantas saudáveis e plantas com sintomas nível 1 (sintomas restrito a folhas). Entretanto, plantas com nível 2 (sintomas foliares em vários ramos, um ramo com sintomas em frutos) e 3 (sintomas foliares generalizados e mais de um ramo com sintomas em frutos), produziram 16,5 e 75% a menos, respectivamente, que plantas saudáveis. Em relação ao número de frutos, a redução foi de 13,9 e 70,9%, para os níveis 2 e 3 de doença, respectivamente.

Laranjeira e Pompeu Junior (2002) avaliaram, pelo método de parcela experimental, o dano da CVC em 15 variedades de laranja doce na região Noroeste do Estado de São Paulo durante dois anos. As produções de todas as plantas foram quantificadas através da porcentagem de frutos pequenos (PFP) e, porcentagem estimada de dano (PED), calculada a partir de uma produção teórica esperada para aquele local. A incidência (% de folhas com sintomas) e uma escala com seis notas foram utilizadas para a avaliação da doença. Os resultados mostraram que não houve relação alguma entre as variáveis da doença e da produção (PFP e PED). Entretanto, as variedades apresentaram diferença em relação à PED, permitindo assim, agrupá-las com diferentes graus de resistência a CVC. Por outro lado, a variável PFP não se mostrou útil para avaliar o dano na produção total, uma vez que, a variedade que apresentou menor PFP apresentou um dos mais elevados PED. Os autores concluíram que variedades de laranja-doce não podem ser selecionadas como resistentes à CVC

com base apenas em sintomas foliares, sendo necessário avaliar os danos à produção e aos frutos. É importante ressaltar ainda, que esse trabalho, propositadamente, foi realizado nas piores condições possíveis em termos fitossanitários.

De maneira geral, para a CVC, os resultados em relação à quantificação de danos podem ser considerados como dano potencial da doença, já que nem sempre todas as plantas de uma determinada área estarão doentes, e se estiverem, a severidade não será igual entre elas (LARANJEIRA, 2006). Por isso, em experimentos com quantificação de danos é importante deixar claros os objetivos, pois nem sempre os dados em relação ao dano poderão ser extrapolados de uma área para outra.

2.1.5 Uso da irrigação na citricultura paulista

Apesar de o Brasil ser o maior produtor mundial de citros (USDA, 2009), a maioria de seus pomares ainda não é irrigada (PIRES et al., 2005). No Estado de São, maior produtor brasileiro (FNP, 2010), a irrigação em citros foi impulsionada a partir da década de noventa quando, passou a ser implantada em pomares de frutas destinadas à indústria para a produção de suco (PIRES et al., 2005).

O uso da irrigação associada ao aumento da produtividade não tem sido mais o único aspecto estimulante para o produtor. Zanini e Pavani (1998) salientaram, entre outros fatores, que o grande interesse pela irrigação em citros também ocorreu pela perspectiva de possibilitar a convivência com a CVC. Com a chegada da morte súbita dos citros (MSC) no início de 2001, na região norte do Estado de São Paulo, também veio a recomendação da substituição do porta enxerto limão ‘Cravo’ e ‘Volkameriano’ por outros porta enxertos (*Citrus reshni* Hort., *C. sunki* Hort. e *Poncirus trifoliata* L.), mais suscetíveis ao déficit hídrico, justamente em área de elevado estresse hídrico. Além disso, a irrigação permite a antecipação da florada, prática que contribui para o controle da podridão floral dos citros (FEICHTENBERGER et al., 2005). Somado a esse cenário fitossanitário favorável, a irrigação possibilita ainda, o aumento de produtividade pelo adequado fornecimento de água, proporciona melhor desenvolvimento das plantas, maior pegamento de flores e frutos e redução da queda de “chumbinhos”, melhor qualidade dos frutos e maior quantidade de óleo na casca (PIRES et al., 2005).

E foi sob esse panorama, que a citricultura irrigada do Estado de São Paulo e Sul do Triângulo Mineiro passou de uma área inferior a 15.000 ha em 1997, para mais de 132.000 ha em 2008 (VESCOVE, 2008). Desse total, a maior parte da área (101.000 ha) utiliza o sistema de irrigação localizada. Nesse sistema, a água é aplicada diretamente na região das raízes, não favorecendo assim a incidência de doenças na parte aérea. O custo médio da implantação da irrigação localizada oscila entre US\$ 1625 a US\$ 2310/ha, dependendo do tamanho da área, tipo de solo, topografia, disponibilidade de água entre outros fatores (DUENHAS; SAAD, 2009).

O consumo de água pelas plantas cítricas varia em média entre 600 a 1200 mm por ano. Os dados de diferentes regiões do mundo mostram que o consumo dos citros no período de inverno é de 1,5 mm/dia e no período de verão é de 3,2 a 4,7 mm/dia. Em condições de clima subtropical, o consumo anual de água da laranjeira 'Valência' varia, conforme o ano, de 11.733 a 16.030 m³/árvore sendo o consumo médio de plantas adultas e sadias de 50 a 90 L/planta/dia no inverno e de 90 a 150 L/planta/dia no verão (COELHO; MAGALHAES, COELHO FILHO, 2004).

A resposta dos citros à irrigação depende do fornecimento de água nos diferentes estádios fenológicos da cultura nos ciclos de crescimento anteriores, do potencial produtivo da área em questão, da qualidade da muda, dos tratos culturais e da fertilidade do solo. Além disso, depende principalmente da região de cultivo, assim, as necessidades e respostas à irrigação são maiores nas regiões com maiores déficits hídricos e menores em regiões com menores déficits hídricos (PIRES et al., 2005).

De maneira geral, os incrementos de produtividade obtidos variam entre 7 e 30 ton/ha, estando diretamente relacionados com a densidade de plantas por hectare e o estado de sanidade geral do pomar (LAURINDO, 2004). Entretanto, em alguns casos o uso da irrigação não proporcionou aumentos significativos na produção (DUENHAS et al., 2002; ALVES JUNIOR et al., 2005; SILVA et al., 2006), além disso, nem sempre as maiores lâminas de irrigação proporcionaram os maiores aumentos na produção (CALZAVARA et al., 2000; BERTONHA et al., 2004; VESCOVE, 2009).

No entanto, a citricultura irrigada tem-se desenvolvido em vista dos resultados econômicos positivos obtidos. Porém, os cuidados necessários nas etapas de planejamento, operação, manutenção e manejo ainda não foram amplamente adotados

(PIRES et al., 2005). Talvez, por essa razão, o resultado potencial devido à irrigação pode ainda não ter sido alcançado em grande parte das áreas irrigadas.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Área

O presente trabalho foi instalado na Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, no município de Bebedouro localizado na região Norte do Estado de São Paulo (Latitude: 20° 53' 16" S; Longitude: 48° 28' 11" W; Altitude: 601 m). Segundo a classificação climática de Köppen, trata-se de uma região de clima subtropical Cwa, caracterizado por apresentar temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C, temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, verões quentes e chuvosos e com inverno moderado e seco, além de menos de 30 mm de chuva no mês mais seco.

A característica principal desta região climática é a existência de um período seco muito nítido durante o outono-inverno, onde são registrados habitualmente cerca de 100 a 200 mm de chuva, concentrados em apenas 10 a 15 dias. No trimestre do inverno os índices são inferiores a 50 mm, concentrados em apenas 5 dias (MONTEIRO, 1973). O período da primavera-verão é caracterizado por tempo quente e chuvas freqüentes. Este período do ano é marcado por temperaturas elevadas e por cerca de 70 a 80% das chuvas (BIERAS; SANTOS, 2006). O solo predominante da área é um Latossolo Vermelho-Escuro, Distrófico típico, textura média, A moderado, hipoférrico.

A escolha da área foi baseada principalmente em função das condições climáticas do local, essa é uma região onde a temperatura e o déficit hídrico são mais acentuados que em outras regiões dentro do Estado de São Paulo (BIERAS; SANTOS, 2006; BIERAS; SANTOS, 2003). Essas condições climáticas são essenciais para o estudo do efeito da irrigação na cultura de citros, seja para avaliar produção ou outra variável.

O experimento foi instalado em pomar plantado em fevereiro de 1999, com laranjeiras 'Natal' (*Citrus sinensis* L. Osb.), enxertadas em limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* L. Osb.), plantadas em espaçamento 6,0 m x 4,0 m numa área de 13.824 m².

2.2.2 Delineamento experimental

O presente estudo foi conduzido em delineamento blocos ao acaso, num arranjo fatorial com três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da evapotranspiração da cultura) combinados com dois tipos de inoculação da bactéria *X. fastidiosa* (inoculação natural e artificial), após o plantio (item 2.2.4) resultando em seis diferentes tratamentos: irrigação a 0% da evapotranspiração da cultura (ETc) e inoculação natural de *X. fastidiosa*; irrigação a 0% da ETc e inoculação artificial de *X. fastidiosa*; irrigação a 50% da ETc e inoculação natural de *X. fastidiosa*; irrigação a 50% da ETc e inoculação artificial de *X. fastidiosa*; irrigação a 100% da ETc e inoculação artificial de *X. fastidiosa*; irrigação a 100% da ETc e inoculação artificial de *X. fastidiosa*. Cada tratamento foi repetido quatro vezes, uma vez em cada um dos quatro blocos (Figura 1).

Cada parcela do tratamento compreendeu seis plantas úteis (plantas avaliadas), totalizando 144 plantas úteis, num total de 576 plantas considerando a bordadura (Figura 1). O experimento foi avaliado durante os anos de 2006, 2007 e 2008 e início de 2009.

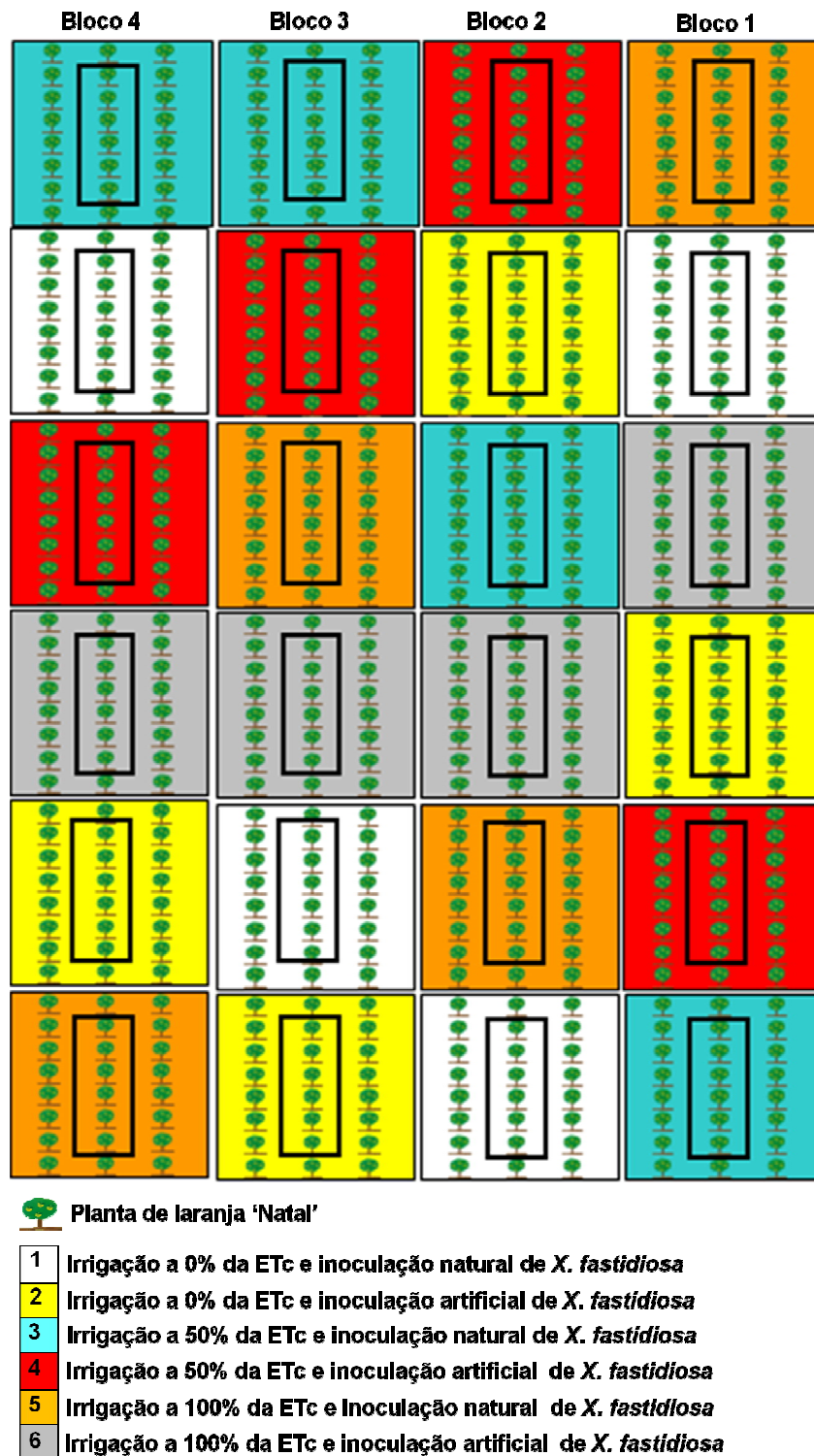


Figura 1 – Croqui da área experimental que combina três níveis de irrigação e duas formas de inoculação da bactéria *X. fastidiosa*, instalado em Bebedouro-SP em fevereiro 1999. Retângulo com 24 plantas representa a área da parcela e retângulo com 6 plantas a área útil, onde os dados foram coletados

2.2.3 Instalação do sistema de irrigação

O sistema de irrigação utilizado foi o localizado do tipo microaspersão, onde a água é aplicada diretamente na região das raízes, molhando apenas parte do volume do solo, sob baixa vazão e pressão. Cada planta foi irrigada através de um microaspersor autocompensado, com vazão de 42 L h⁻¹ e ângulo de molhamento de 300°.

A irrigação foi realizada duas vezes por semana, e o volume de água fornecido por planta resultou do balanço entre a lâmina d'água correspondente ao total de chuva no intervalo entre as duas irrigações e a lâmina d'água relativa à evapotranspiração total da cultura (ET_c), estimada para o mesmo período pela eq. (1).

$$V_p = \sum (P_i - ET_{c_i}) \cdot f_c \cdot \frac{A_p}{(E_a \cdot C_u)} \quad (1)$$

onde, V_p é o volume de água a ser aplicado por planta, em cada irrigação (L); P_i é a chuva diária ocorrida no intervalo entre duas irrigações consecutivas (mm); ET_{c_i} é a evapotranspiração diária da cultura ocorrida no intervalo entre duas irrigações consecutivas (mm); f_c é o fator de cobertura que relaciona a área sombreada pela copa, a área disponível para cada planta em função do espaçamento adotado e a porcentagem de área de solo molhado (adimensional); A_p é a área disponível à cada planta, em função do espaçamento adotado (m²); E_a é a eficiência de aplicação de água pelo sistema de irrigação por microaspersão, o qual na área experimental foi de 0,9; C_u é o coeficiente de uniformidade que, para irrigação por microaspersão da área experimental, foi de 0,9 (FRIZZONE, 1992, FUKUI; NAKANISHI; OKAMURA, 1980). A ET_c foi estimada pelo produto entre a evapotranspiração de referência (ET_o) e o coeficiente da cultura (K_c) de acordo com Doorenbos e Pruitt (1997). A evapotranspiração de referência (ET_o) foi estimada diariamente segundo o modelo de Penman-Monteith-FAO utilizando os dados meteorológicos coletados na Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro. Utilizou-se o coeficiente de cultura (K_c) proposto por Pereira e Allen, (1997).

2.2.4 Inoculação natural e artificial de *Xylella fastidiosa*

A inoculação artificial da *X. fastidiosa* ocorreu dez meses após o plantio (dezembro 1999), em 288 plantas dos respectivos tratamentos. A inoculação foi realizada por dois métodos: o primeiro foi realizado através da enxertia de borbulhas infectadas com a bactéria conforme metodologia proposta por Li et al., (1996); o segundo método consistiu em enxertar por encostia nas plantas do experimento mudas de laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) infectadas com *X. fastidiosa* que estavam acondicionadas em tubetes de 120 mL. Essas mudas foram enxertadas no tronco principal das laranjeiras e lá permaneceram por seis meses. Para constatação da presença da bactéria na planta inoculada, utilizou-se a “Polymerase Chain Reaction” (PCR) específica para *X. fastidiosa* de acordo com metodologia proposta por Pooler e Hartung (1995).

A inoculação natural ocorreu por meio das cigarrinhas da subfamília Cicadellinae (Hemiptera: Cicadellidae), insetos vetores responsáveis pela transmissão da *X. fastidiosa* entre plantas, uma vez que não houve controle desses insetos. A região Norte do Estado de São Paulo apresenta alta incidência de cigarrinhas (ROBERTO; YAMAMOTO, 1998) e o consumo de seiva por esses insetos é maior em plantas sadias que em plantas severamente atacadas pela *X. fastidiosa* (MONTESINO et al., 2006).

2.2.5 Dados meteorológicos

As informações meteorológicas referentes ao período de desenvolvimento desse estudo foram obtidas em um posto meteorológico automático localizado a aproximadamente 600 m do experimento. Dados horários de precipitação, umidade relativa do ar e temperatura foram transformados em valores mensais e apresentados graficamente para os anos de 2006, 2007 e 2008.

A precipitação mensal foi calculada pela soma da precipitação acumulada de todos os dias do mês correspondente. A temperatura média e umidade relativa do ar foram determinadas para cada mês pela média diária, obtidas a partir da média dos valores horários. As médias de temperaturas mínimas e máximas mensais foram obtidas pela média dos valores mínimos e máximos, respectivamente, observados em cada dia do mês.

2.2.6 Quantificação da Intensidade da 'Clorose Variegada do Citros'

2.2.6.1 Incidência de ramos sintomáticos

Para determinar a incidência de ramos com CVC em cada árvore foram realizadas quatro avaliações nos meses de julho de 2006 e 2007, março e novembro de 2008. Cada avaliação foi repetida por três diferentes avaliadores nas 144 plantas úteis do experimento.

O método de avaliação consistiu na escolha aleatória de 18 ramos em cada lado da planta, totalizando 36 ramos na planta toda. Os ramos foram escolhidos aleatoriamente dividindo cada lado da planta em três setores, superior, médio e inferior. Assim, foram avaliados seis ramos da parte inferior da planta, seis da parte superior e seis da parte mediana de cada lado da planta (Figura 2). O ramo que apresentasse sintoma nos primeiros 20 cm de sua extensão era considerado ramo doente.

A incidência da CVC foi obtida pelo cálculo do número de ramos com sintomas independentemente da severidade desse sintoma, assim, considerou-se 36 como o número total de ramos da planta. Dessa forma, uma planta com 18 ramos sintomáticos era considerada uma planta com 50% de ramos com sintomas.

A incidência de ramos com sintomas de CVC referentes ao período de estudo (2006 a 2008) foi utilizada na construção de curvas de progresso da doença, tanto para a planta toda como para os três diferentes setores (superior, médio e inferior) avaliados. Para isso, a média da incidência dos 3 avaliadores foi utilizada para representar a quantidade de doença de cada planta. Da mesma forma, a média da incidência de cada setor da planta foi utilizada para plotar a curva de progresso da CVC por setor.

A evolução temporal de incidência de CVC na planta toda e nos três setores foi analisada por meio do ajuste do modelo monomolecular $y(t) = b1 - (b1 - y_0) * \exp(-r*t)$ (eq. 2), onde $y(t)$ é a proporção de plantas afetadas no tempo t ; $b1$ é quantidade máxima de doença (assíntota); y_0 é o inoculo inicial; r é a taxa de progresso da doença e t é o tempo em meses, aos dados observados (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; MADDEN; HUGHES; VAN DE BOSH, 2007). Para isso, aplicou-se regressão não linear aos dados não transformados utilizando o programa Statistica (StatSoft, Tulsa, OK, EUA). Os parâmetros comparáveis do modelo foram $b1$

(quantidade máxima de doença) e y_0 (inóculo inicial). A taxa de progresso (r), não é um bom parâmetro a ser comparado, quando a assíntota é variável (MADDEN; HUGHES; VAN DE BOSH, 2007).

A partir das curvas de progresso da doença foi possível determinar a área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC – *Area Under Disease Progress Curve*) por meio de integração trapezoidal eq. (3)

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \quad (3)$$

onde n é o número de avaliações; Y é o valor da variável avaliada em proporção; t , o tempo quando da intensidade da variável em questão foi avaliada (MADDEN; HUGHES; VAN DE BOSH, 2007; VALE; JESUS JUNIOR; ZAMBOLIM, 2004).

Os dados da AUDPC foram transformados para Log (X), antes de serem submetidos à análise estatística, pois, embora apresentassem boa homogeneidade das variâncias, não apresentaram boa normalidade (pressuposições da Anova). Após serem transformados os dados foram submetidos à análise de variância considerando o delineamento em blocos no esquema fatorial e as médias obtidas foram analisadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando para isso os programas Statistica e SISVAR (FERREIRA, 2000).



Figura 2 – Quantificação da presença ou ausência da ‘Clorose Variegada do Citros’ em seis ramos da parte inferior (A), mediana (B) e superior da planta (C)

2.2.6.2 Intensidade da doença com escala descritiva

O segundo método utilizado na quantificação da intensidade da CVC é um método empírico e constitui na quantificação da CVC através de uma escala descritiva,

onde 0 representa plantas sem sintomas; 1, plantas com uma folha até um ramo da copa com sintomas; 2, plantas com mais de um ramo até 50% da copa com sintomas e 3, plantas com mais de 50% da copa exibindo sintomas em folhas e frutos (SALVA; ROBERTO; CARLOS, 1995).

As avaliações utilizando esse método de avaliação também foram realizadas quatro vezes no mesmo período do método citado no item 2.2.6.1. Novamente, cada avaliação foi repetida por três diferentes avaliadores nas 144 plantas úteis do experimento. Os resultados por avaliador foram confrontados graficamente com os resultados obtidos no método citado no item 2.2.6.1., considerando todas as 144 plantas avaliadas independentemente dos tratamentos.

2.2.7 Desenvolvimento, crescimento e vigor da planta

Para estudar o desenvolvimento da planta foram avaliadas as variáveis diâmetro de tronco (cm), diâmetro de copa (m), altura de planta (m) e o índice de área foliar nas 144 plantas úteis do experimento. Cada variável foi avaliada quatro vezes entre as safras 2006 e 2009.

A determinação do diâmetro de tronco foi realizada utilizando um paquímetro colocado a uma distância de aproximadamente 25 cm do solo. A medição da altura da planta foi realizada com o auxílio de uma mira topográfica (graduada com intervalos de 5 cm) colocada junto ao tronco da planta na posição vertical. O diâmetro da copa foi medido colocando a mira topográfica na posição horizontal no centro da planta, dessa forma, foi realizada a leitura em dois eixos ortogonais no interior da copa da planta. O diâmetro final foi obtido pela média das duas medidas. A partir do diâmetro de copa e altura de planta foi determinado o volume de copa (m^3) para cada planta utilizando $V = \frac{2}{3}(\pi R^2).H$ eq.(4) onde V é o volume de copa; R é o raio copa e H é altura da planta, de acordo com Ledo et al. (1999).

O índice de área foliar (IAF) foi determinado com auxílio do equipamento LAI2000 (LI-COR, Lincoln NE, E.U.A), que mede a quantidade relativa de intensidade luminosa que atravessa a copa das plantas. Em todas as leituras a barra fotossensível do aparelho foi introduzida no interior da copa das árvores a uma distância de aproximadamente a metade do raio da copa, e a altura da barra foi padronizada em

1,20m. O equipamento foi programado para calcular a média de seis leituras por planta, realizadas ao redor de cada planta. As leituras de IAF foram realizadas nos meses de julho de 2006, julho de 2007, junho de 2008 e maio de 2009. Todas as leituras ocorreram em dias nublados na ausência de radiação direta ou imediatamente após o por do sol ou ainda ao amanhecer antes da chegada do sol (LAI-2000, 1992).

Os resultados das cinco variáveis obtidas foram confrontados graficamente com os dados de produção (item 2.2.8), sendo (x) cada uma das variáveis (variável independente) e (y) produção (variável dependente). Além disso, os dados de cada variável foram submetidos à análise de homogeneidade e normalidade antes de serem analisados, respeitando as pressuposições da Anova. Em seguida foram submetidos à análise de variância, considerando o delineamento em blocos no esquema fatorial. As médias de cada tratamento, considerando as quatro avaliações, foram analisadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os softwares utilizados para a análise dos dados foram Statistica e SISVAR. Quando a interação entre os tratamentos níveis de irrigação e métodos de inoculação não foi significativa, os dados em forma de tabela foram apresentados separadamente, para as variáveis desse e dos demais itens desse estudo.

2.2.8 Produção

Para determinar o efeito dos seis tratamentos nas safras 2006, 2007 e 2008, a produção foi avaliada de forma individual nas 144 plantas da área útil do experimento. O peso e o número de frutos sintomáticos e assintomáticos foram determinados em cada árvore, individualmente.

Os frutos colhidos foram classificados, por meio de uma mesa classificadora, em frutos com diâmetro superior e inferior a 50 mm (frutos considerados assintomáticos e sintomáticos, respectivamente). Na sequência, 50 frutos assintomáticos de cada planta foram separados e pesados, a partir do peso dos 50 frutos foi possível calcular o peso médio de um fruto e assim estimar o número de frutos assintomáticos por planta.

Dessa forma, determinou-se por planta a produção total (peso de frutos assintomáticos e sintomáticos); o número total de frutos (soma dos frutos assintomáticos e sintomáticos); o peso e o número de assintomáticos; o peso e o

número dos frutos sintomáticos. Determinou-se adicionalmente a porcentagem de frutos sintomáticos por planta. Com essa informação, foi possível construir a curva temporal do progresso dos frutos com sintomas de CVC. Utilizou-se o modelo monomolecular para ajuste aos dados (eq.2 item 2.2.6.1), para cada tratamento (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; MADDEN; HUGHES; VAN DE BOSH, 2007; LARANJEIRA et al., 2003a). Para isso, aplicou-se a regressão não linear aos dados de proporção de frutos doentes utilizando o programa Statistica (StatSoft, Tulsa, OK, EUA). Também foi calculada a área abaixo da curva do progresso dos frutos doentes (AUDFPC – *Area Under Diseased Fruits Progress Curve*), como explicado para o cálculo da AUDPC (item 2.2.6.1).

A produção de frutos assintomáticos foi utilizada como variável dependente (y) e confrontada graficamente contra todas as outras variáveis avaliadas nesse estudo. A produção total, e a produção de frutos assintomáticos (y) foram expressos graficamente em função do tempo (x), possibilitando a comparação entre os diferentes tratamentos em períodos correspondentes.

A produção de cada parcela (kg/parcela), nas safras de 2001 a 2005, havia sido medida (STUCHI, dados não publicados). Esses dados, também foram expressos em função do tempo possibilitando a comparação, entre os tratamentos, da produção total ao longo de nove safras consecutivas. Os resultados de todas as variáveis analisadas nesse item foram submetidos à análise de variância, considerando o delineamento em blocos no esquema fatorial, as médias obtidas foram comparadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2.9 Função de dano

Relações entre variáveis da doença (incidência de ramos com sintomas e AUDPC) e produção permitiram o estabelecimento da função de dano para a CVC. Dois modelos e três relações doença-dano, com base no método de planta individual (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996), foram ajustados aos dados.

Para análise do primeiro modelo, regressões não lineares foram calculadas utilizando o programa Statistica (StatSoft, Tulsa, OK, EUA), confrontando a variável (dependente) produção de frutos assintomáticos aos dados de incidência de CVC

(variável independente). As regressões dos tratamentos foram obtidas pela equação exponencial negativa eq.(5) (MADDEN; HUGHES; VAN DE BOSH, 2007).

$$y = a \cdot \exp(-b \cdot x) \quad (5)$$

onde y é a produção de frutos assintomáticos, a é o intercepto, b é o parâmetro do modelo e x é a incidência da doença (proporção de ramos com sintomas). Nessa relação foi considerada os dados de cada tratamento separadamente, e também o conjunto de dados de todos os tratamentos.

No segundo modelo, a produção de frutos assintomáticos foi dependente de duas variáveis: incidência de CVC (item 2.2.6.1) e volume de copa (item 2.2.7). O modelo linear com múltiplas variáveis descrito pela eq.(6)

$$y = (a + b1 \cdot V) \cdot (1 - b2 \cdot DI) \quad (6)$$

onde y corresponde à produção de frutos assintomáticos; a é o intercepto do eixo da incidência; $b1$ é parâmetro do modelo que relaciona o volume de copa à produção; V é o volume de copa; $b2$, parâmetro do modelo que mostra o efeito da doença na produção e DI é a incidência de ramos com sintomas, foi ajustado aos dados. A adequação do modelo aos dados foi analisada pelos coeficientes de determinação (R^2), obtidos da regressão linear múltipla para cada um dos seis tratamentos. Os parâmetros $b1$ e $b2$ obtidos para cada tratamento foram comparados pelo teste t para verificar se houve diferença significativa desses parâmetros entres os tratamentos.

A produção de frutos assintomáticos (variável dependente) também foi confrontada com a AUDPC (variável independente), através da eq. (5). Nessa relação, foi considerado o conjunto de dados de todos os tratamentos.

2.3 Resultados

2.3.1 Incidência de ramos sintomáticos

O modelo monomolecular foi utilizado para descrever o progresso poliético da incidência da CVC, no período de 2006 a 2008, para todos os tratamentos. Esse modelo apresentou bom ajuste ($R^2 > 0,70$ em 5 dos 6 tratamentos), e valores de resíduo próximo ao eixo zero, não mostrando algum tipo de tendência (Tabela 1; Figura 3).

Os tratamentos com irrigação a 100% da ETc apresentaram valores significativamente menores de assíntota, quando comparados aos demais tratamentos com inoculação artificial (Tabela 1). Não houve diferença significativa de assíntota, entre os tratamentos inoculação natural e artificial de *X. fastidiosa*, dentro de cada um dos níveis de irrigação, segundo o teste *t* (Tabela 1).

Os valores de inóculo inicial foram menores nos tratamentos onde ocorreu inoculação natural da bactéria, independentemente dos níveis de irrigação (Tabela 1). Entretanto, apenas os tratamentos com irrigação 0 e 50% da ETc combinados com inoculação natural, diferiram significativamente do tratamento irrigado a 50% da ETc e com inoculação artificial (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros do modelo monomolecular ajustado por meio de regressão não linear aos dados de incidência de Clorose Variegada dos Citros em ramos de laranja 'Natal' para os anos de 2006-2008

Tratamentos	R^2 ^a	b_1 ^b	Erro _{b_1} ^c	y_0	Erro _{y_0}	r	Erro _{r}
	Monomolecular						
Inoculação natural – Irrigação 0%	0,92	0,55ab	0,09	0,06a	0,02	0,06	0,02
Inoculação artificial – Irrigação 0%	0,75	0,61 b	0,08	0,13ab	0,05	0,11	0,07
Inoculação natural – Irrigação 50%	0,90	0,45ab	0,08	0,04a	0,02	0,06	0,02
Inoculação artificial – Irrigação 50%	0,88	0,54 b	0,03	0,16 b	0,03	0,16	0,07
Inoculação natural – Irrigação 100%	0,80	0,37a	0,04	0,06ab	0,03	0,11	0,06
Inoculação artificial – Irrigação 100%	0,40	0,31a	0,04	0,11ab	0,05	0,49	9,99

^a Coeficiente de determinação obtido pelo ajuste ao modelo

^b b_1 , y_0 e r – Referem-se, respectivamente a quantidade máxima de doença (assíntota), a quantidade de inoculo inicial (y_0) e a taxa de progresso do progresso da doença (r), estimada pelo modelo

^c Erro obtido para cada parâmetro obtido pelo modelo. Para todos os parâmetros comparáveis $p < 0,05$
Colunas seguidas das mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste t ($p < 0,05$)

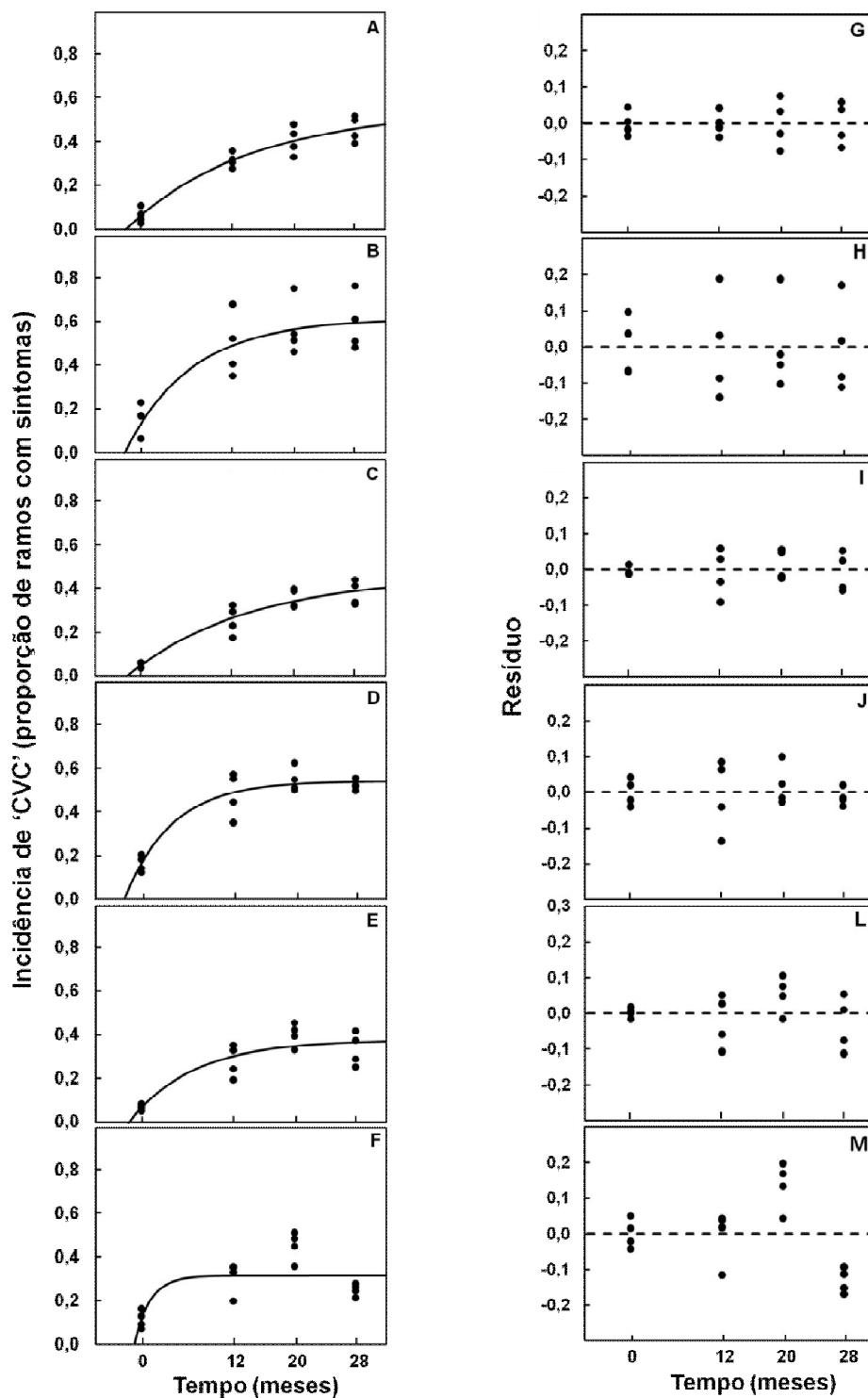
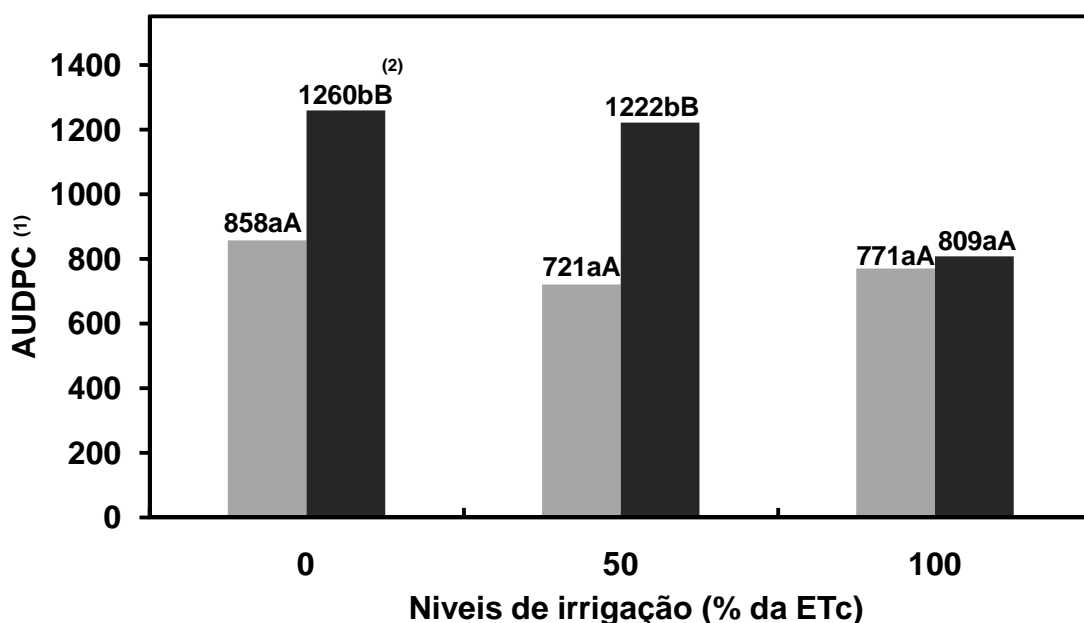


Figura 3 - Curva de progresso da proporção de ramos com sintomas de CVC estimada pelo modelo monomolecular e os respectivos resíduos obtidos entre os valores de incidência estimado e observado, para os tratamentos sem irrigação e inoculação natural da *Xylella fastidiosa* (A e G), sem irrigação e inoculação artificial (B e H), irrigado a 50% da ETC e inoculação natural (C e I), irrigado a 50% da ETC e inoculação artificial (D e J), irrigado a 100% da ETC e inoculação natural (E e L) e irrigado a 100% da ETC e com inoculação artificial (F e M). Para o período de 2006 a 2008

Houve redução significativa da AUDPC ao longo dos três anos, nos tratamentos com inoculação natural, comparados aos com inoculação artificial, dentro dos níveis de irrigação 0 e 50% da ETc (Figura 4). Plantas inoculadas artificialmente apresentaram maiores quantidades de doença, entre 32 e 41% a mais, do que plantas inoculadas naturalmente, após 9 anos de experimento (Figura 4). Dentro do nível de irrigação 100% da ETc, não houve essa diferença entre os métodos de inoculação (Figura 4). Também não houve diferença significativa entre os níveis de irrigação dentro do método de inoculação natural. No entanto, houve redução significativa no valor da AUDPC nas plantas irrigadas a 100% da ETc, quando comparadas a plantas não irrigadas ou irrigadas a 50% da ETc e artificialmente inoculadas (Figura 4).



⁽¹⁾Para efeito de análise estatística os dados foram transformados em $\log(x)$, as médias apresentadas são as originais.

⁽²⁾Colunas de mesma cor seguidas de letras maiúsculas iguais e colunas de cores diferentes seguidas de letras minúsculas iguais no tratamento (níveis de irrigação), não apresentam diferença pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 17,7%

Figura 4 – Áreas abaixo das curvas de progresso de incidência de Clorose Variegada dos Citros (*Xylella fastidiosa*) em plantas de laranjeiras 'Natal' (*Citrus sinensis*) para os tratamentos irrigação a 0, 50 e 100% da ETc combinados com inoculação natural ou artificial de *Xylella fastidiosa*. Colunas da cor cinza representam inoculação natural e colunas da preta, inoculação artificial, no período de 2006 a 2008

A incidência de ramos com CVC, de cada setor (superior, mediano e inferior) da planta, também foi ajustada pelo modelo monomolecular. A figura 5 mostra que a curva do progresso da incidência da doença foi maior nos ramos da parte superior, quando comparada à incidência dos ramos da parte mediano e inferior. Houve redução significativa da assíntota (parâmetro b_1), no setor inferior da planta em relação ao superior, para todos os tratamentos (Tabela 2; Figura 5). Essa redução, variou de 57 a 88%, dependendo do tratamento. Dessa forma, é possível aferir que, do total de ramos doentes na planta, mais de 50% estão localizados na parte superior (Tabela 2). Entre o setor mediano e inferior, houve diferença significativa da assíntota, para cinco dos seis tratamentos (Tabela 2). Apenas dois tratamentos apresentaram diferença significativa, da assíntota, entre o setor superior e mediano da planta (Tabela 2). Não houve diferença significativa do parâmetro y_0 entre os três setores da planta.

O efeito de cada tratamento foi o mesmo, considerando a planta toda ou cada setor (Figuras 3 e 5). Ou seja, o tratamento que apresentou o melhor efeito considerando a planta toda, também teve o melhor efeito em cada setor.

Tabela 2 – Parâmetros do modelo monomolecular ajustado por meio de regressão não linear aos dados de incidência de Clorose Variegada dos Citros em ramos na parte superior, medianos e superiores de laranja 'Natal' no período de 2006 a 2008

Tratamentos	R ² ^a	b ₁ ^b	Erro _{b₁} ^c	y ₀	Erro _{y₀}	r	Erro _r
Inoculação natural - Irrigação 0%							
ramos superiores	0,87	0,30a	0,07	0,04a	0,02	0,05	0,03
ramos medianos	0,91	0,19a	0,03	0,02a	0,01	0,05	0,02
ramos inferiores	0,68	0,06b	0,01	0,01a	0,01	0,08	0,06
Inoculação artificial - Irrigação 0%							
ramos superiores	0,88	0,28a	0,02	0,06a	0,02	0,11	0,04
ramos medianos	0,66	0,23ab	0,05	0,06a	0,02	0,08	0,06
ramos inferiores	0,54	0,12b	0,02	0,02a	0,02	0,16	0,19
Inoculação natural - Irrigação 50%							
ramos superiores	0,94	0,33a	0,08	0,03a	0,01	0,03	0,01
ramos medianos	0,82	0,13a	0,02	0,01a	0,01	0,08	0,04
ramos inferiores	0,55	0,04b	0,01	0,01a	0,01	0,14	0,14
Inoculação artificial - Irrigação 50%							
ramos superiores	0,93	0,26a	0,01	0,07a	0,01	0,14	0,05
ramos medianos	0,85	0,20b	0,02	0,06ab	0,01	0,12	0,05
ramos inferiores	0,66	0,08c	0,01	0,03b	0,01	0,32	0,88
Inoculação natural - Irrigação 100%							
ramos superiores	0,81	0,23a	0,04	0,03a	0,01	0,07	0,04
ramos medianos	0,78	0,11b	0,01	0,02a	0,01	0,25	0,29
ramos inferiores	0,55	0,04c	0,01	0,01a	0,01	0,11	0,11
Inoculação artificial - Irrigação 100%							
ramos superiores	0,44	0,16a	0,02	0,06a	0,02	0,56	25,6
ramos medianos	0,36	0,11a	0,01	0,03a	0,02	0,28	1,08
ramos inferiores	0,25	0,03b	0,01	0,01a	0,01	1,22	>100

^a Coeficiente de determinação obtido pelo modelo

^b b₁, y₀ e r – Referem-se, respectivamente a quantidade máxima de doença (assintota), a quantidade de inoculo inicial (y₀) e a taxa de progresso do progresso da doença (r), estimada pelo modelo

^c Erro obtido para cada parâmetro obtido pelo modelo. Para todos os parâmetros comparáveis p<0,05. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro de cada tratamento, não diferem entre si, pelo teste t (p<0,05)

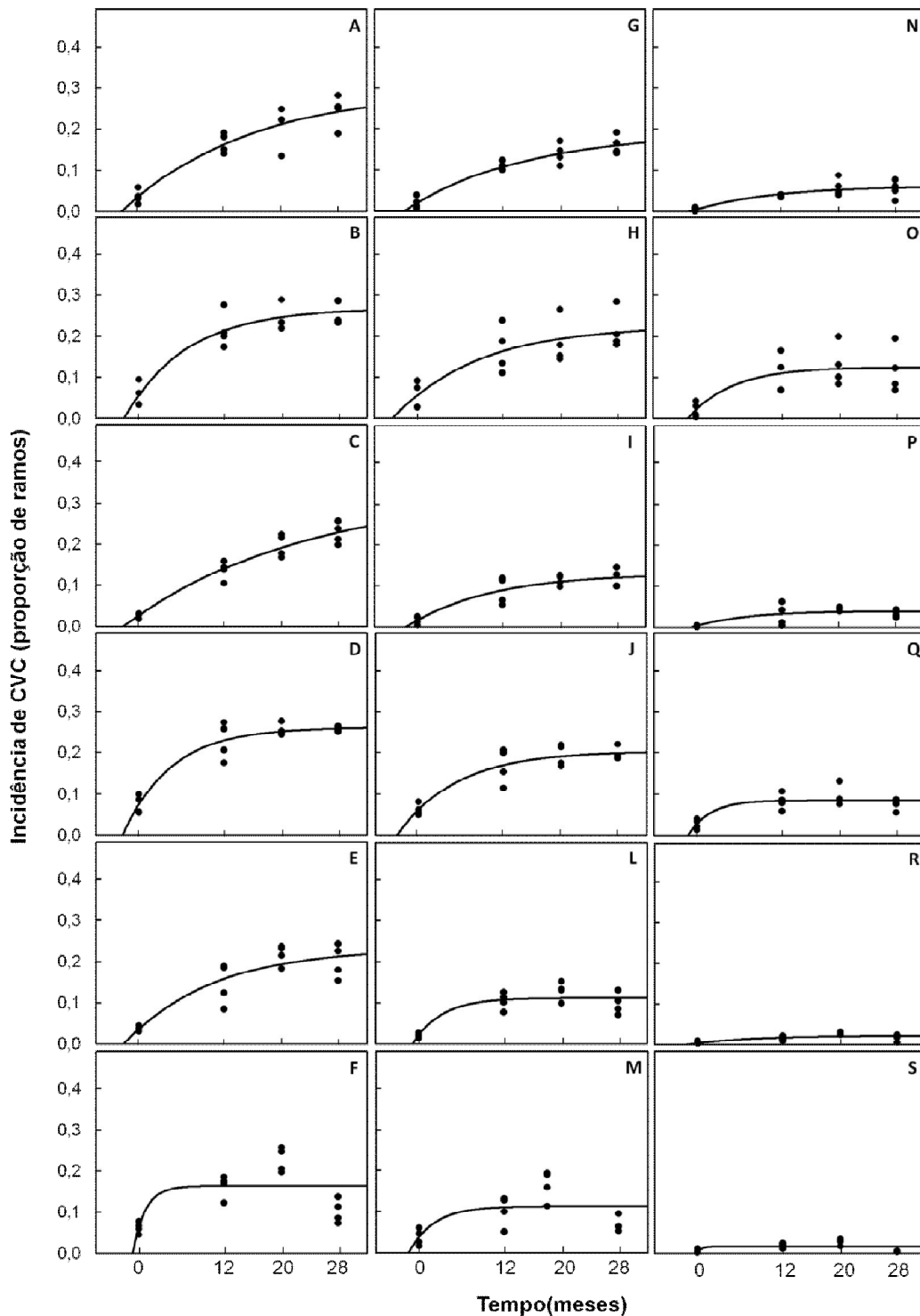


Figura 5 - Curvas de progresso da proporção de ramos com sintomas de CVC, estimada pelo modelo monomolecular, (A-F) representa ramos superiores, (G-M) medianos e (N-S) inferiores, para os tratamentos sem irrigação e inoculação natural de *X. fastidiosa* (A,G e N), sem irrigação e inoculação artificial (B,H e O), irrigação a 50% da ETc e inoculação natural (C, I e P), irrigação a 50% da ETc e inoculação artificial (D, J e Q), irrigação a 100% da ETc e inoculação natural (E,L e R) e irrigação a 100% da ETc com inoculação artificial (F,M e S), no período de 2006 a 2008

2.3.2 Intensidade da doença com escala descritiva

A escala descritiva utilizada não se mostrou precisa na avaliação da doença, quando comparada com a avaliação de ramos com sintomas, uma vez que, a nota 3, a nota máxima da escala, agrupou plantas que apresentaram entre 0% e 100% de ramos com sintomas de CVC, considerando as quatro avaliações, para todos os três avaliadores (Figura 6). A nota 2 agrupou plantas com incidência entre 0 e 90% para os avaliadores 1 e 2, e entre 0 e 80% para o avaliador 3, e a nota 1 reuniu plantas que apresentaram até 70% de ramos sintomáticos (Figura 6). Além disso, a nota 0 (planta sem sintoma) agrupou plantas com até 50% de ramos com CVC (Figuras 6A e 6B). As análises de regressões lineares entre os três avaliadores (dados não apresentados) utilizando todos os dados apresentaram coeficiente de determinação (R^2) entre 0,47 e 0,51. A mesma análise feita com os dados de incidência de ramos com sintomas resultou em R^2 entre 0,80 e 0,83, dependendo dos avaliadores que foram relacionados, mostrando que além de imprecisa a escala descritiva é muito subjetiva.

Assim, usando essa escala os avaliadores superestimaram e/ou subestimaram a quantidade da doença. Em função disso, essa variável não foi relacionada com produção, e suas médias não foram comparadas entre os tratamentos.

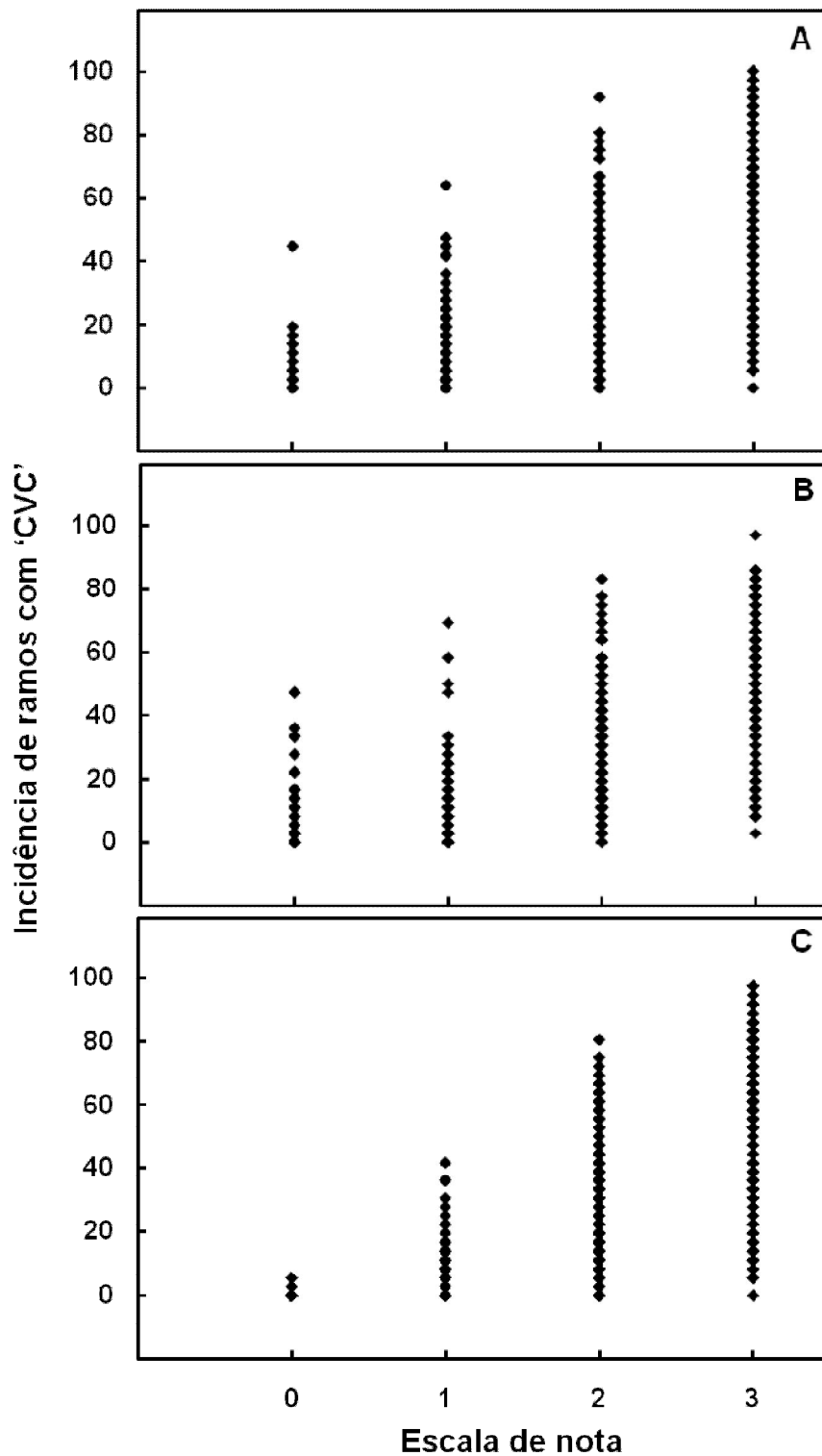


Figura 6 – Relação entre incidência de ramos com sintomas de CVC e escala de nota contabilizando todos os tratamentos do avaliador 1 (A), avaliador 2 (B) e avaliador 3 (C), para quatro avaliações realizadas no período de 2006 a 2008

2.3.3 Desenvolvimento, crescimento e vigor da planta

Para a variável diâmetro de tronco, não houve interação significativa entre os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação de *X. fastidiosa*, considerando a média de quatro avaliações entre os anos de 2006 e 2009. No entanto, houve diferença significativa entre os três níveis de irrigação avaliados (Tabela 3). Plantas irrigadas a 100% da ETc apresentaram em média diâmetro de tronco 15% maior que plantas não irrigadas e 8% maior que plantas irrigadas a 50% da ETc, independentemente do método de inoculação. Por outro lado, o método de inoculação não influenciou o diâmetro de tronco, não apresentando diferenças significativas entre si (Tabela 3).

Não houve correlação entre diâmetro de tronco e produção de frutos sadios (Figura 7). Ou seja, nesse estudo, a maior ou menor produção foi independente do diâmetro do tronco, para todos os tratamentos. O diâmetro do tronco variou entre 9,50 e 21,0 cm, considerando o período avaliado (Figura 7).

Tabela 3 - Valores médios de diâmetro de tronco obtidos de plantas de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertadas em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) submetidas a três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa*

Tratamentos	Diâmetro do tronco (cm)*
Níveis de irrigação	--
Irrigação a 0% da ETc	13,1c
Irrigação a 50% da ETc	14,1b
Irrigação a 100% da ETc	15,3a
Métodos de inoculação	--
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	13,8a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	14,1a

*Valor obtido pela média de 4 avaliações entre os anos de 2006 a 2009 no município de Bebedouro, SP. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). CV= 8,3%.

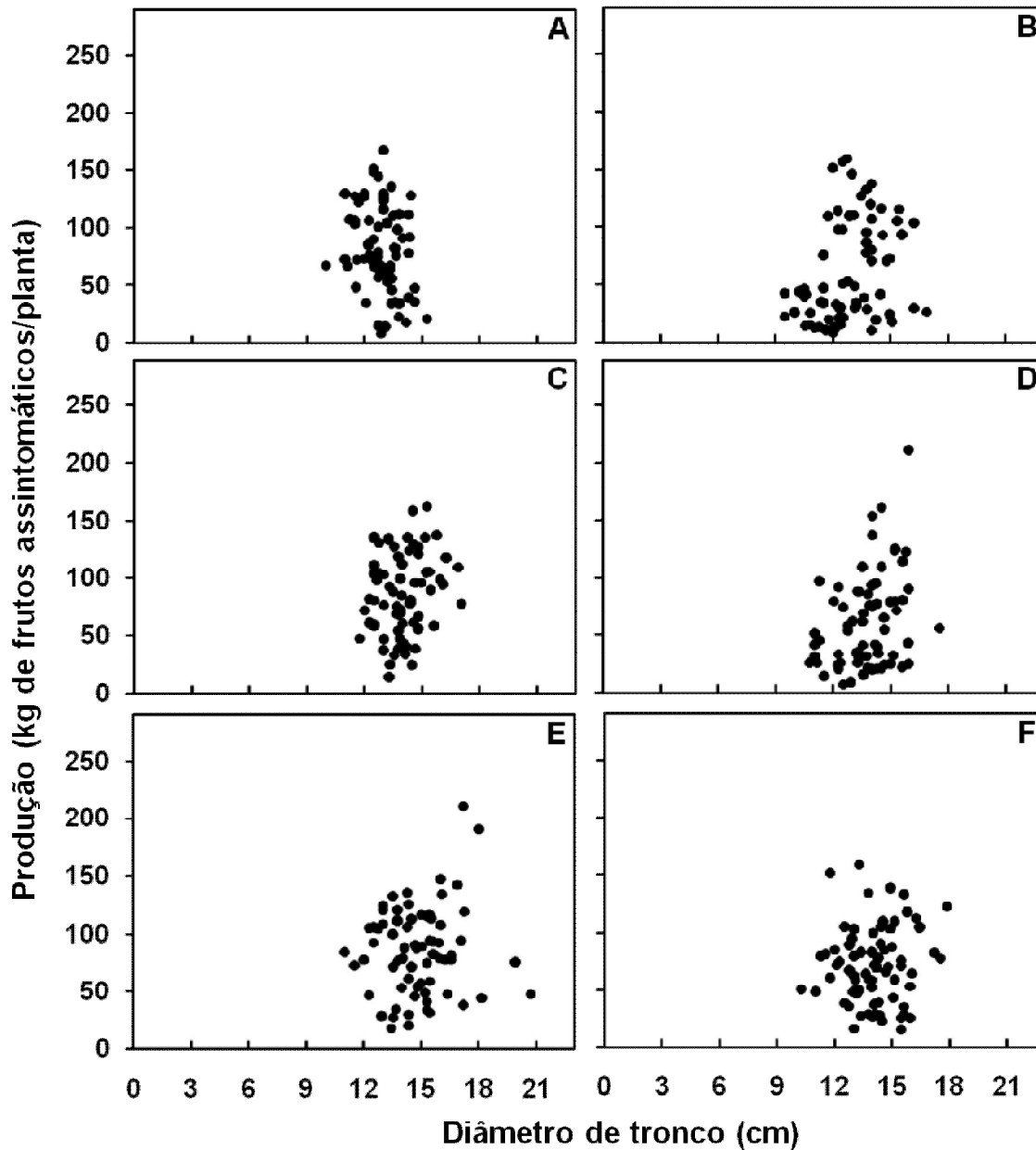
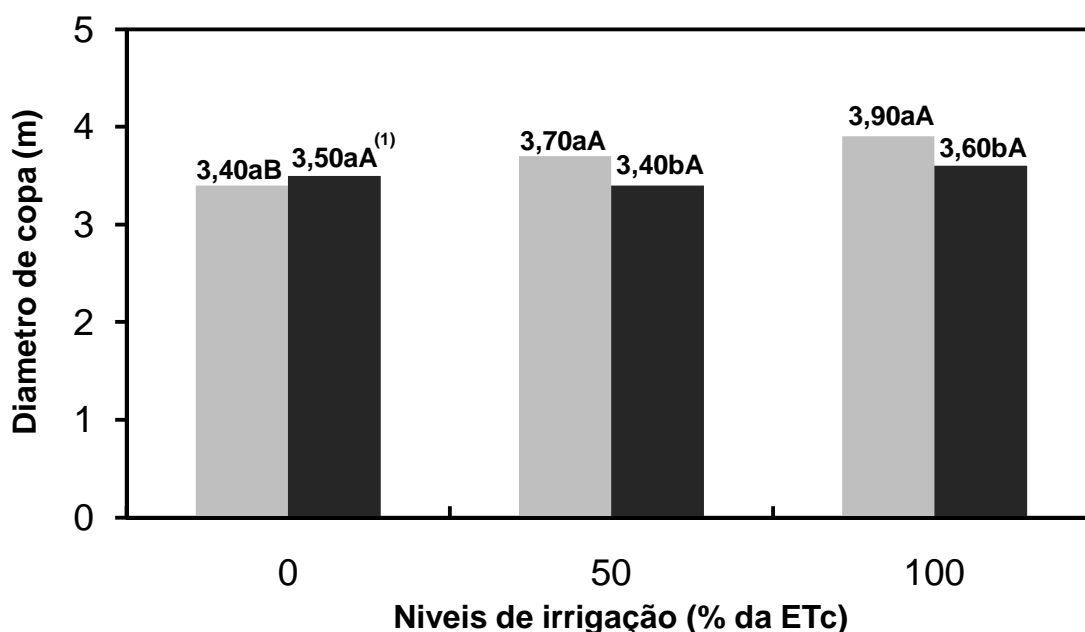


Figura 7 – Relação entre diâmetro de tronco (cm) e produção (kg de frutos sem sintomas de CVC/planta) de laranjeira ‘Natal’ (*C. sinensis*) enxertada em limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia*), para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETc, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D F) de *Xylella fastidiosa*, no período de 2006 a 2008

Em relação à variável diâmetro de copa, houve interação significativa entre os fatores níveis de irrigação e método de inoculação (Figura 8). Plantas submetidas aos níveis de irrigação 50 e 100% da ETc, dentro do tratamento inoculação natural, foram iguais entre si, e apresentaram diâmetro de copa significativamente superiores as plantas não irrigadas (Figura 8). O mesmo não aconteceu dentro do tratamento inoculação artificial, ou seja, os níveis de irrigação não diferiram significativamente entre si (Figura 8). Houve diferença significativa, entre inoculação natural e artificial em plantas irrigadas, mas não houve diferença na ausência de irrigação (Figura 8).

A produção de frutos sadios mostrou baixa ou nenhuma relação com o diâmetro de copa. Ou seja, nem sempre plantas com maior diâmetro de copa apresentaram maior produção (Figura 9). O diâmetro de copa variou de 2,50 a 4,40 metros, considerando todos os tratamentos para as 4 avaliações realizadas entre 2006 e 2008.



⁽¹⁾Colunas de mesma cor seguidas de letras maiúsculas iguais e colunas de cores diferentes seguidas de letras minúsculas iguais no tratamento (níveis de irrigação), não apresentam diferença pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 8,0%

Figura 8 – Diâmetro de copa de plantas de laranjeira ‘Natal’ (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia*) submetidas aos tratamentos irrigação a 0, 50 e 100% da ETc combinados com e inoculação natural ou artificial de *Xylella fastidiosa*. Colunas cinza representam inoculação natural e colunas pretas, inoculação artificial. Dados representam a média de quatro avaliações entre os anos de 2006 a 2008

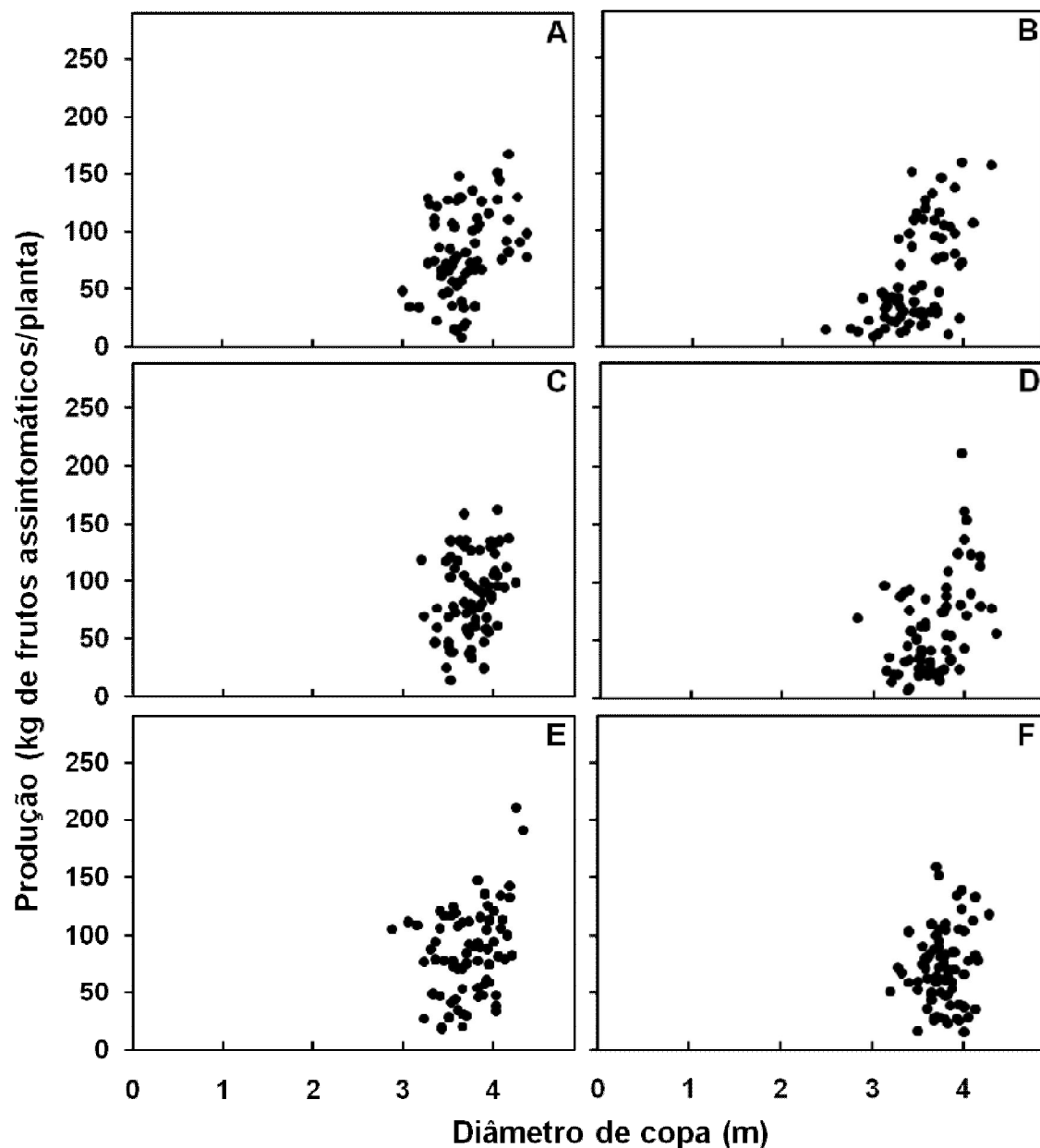


Figura 9 - Relação entre diâmetro de tronco (cm) e produção (kg de frutos sem sintomas de CVC/planta) de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*), para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETc, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D F) de *Xylella fastidiosa*, no período de 2006 a 2008

Os valores médios de altura de planta não apresentaram interação significativa para os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação. Plantas do tratamento com irrigação a 100% da ETc tiveram altura média significativamente superior á das plantas não irrigadas e irrigadas a 50% da ETc, independentemente do método de inoculação

(Tabela 4). Plantas irrigadas a 50% de ETc também diferiram significativamente de plantas não irrigadas (Tabela 4). O uso da irrigação a 100% da ETc proporcionou aumento na altura de 14 e 9%, quando comparado a plantas não irrigadas e irrigadas a 50% da ETc, respectivamente (Tabela 4). Houve diferença significativa entre os tratamentos inoculação natural e artificial de *X. fastidiosa*, desconsiderando os níveis de irrigação (Tabela 4). Pode-se inferir, dessa forma, que plantas com irrigação a 100% da ETc apresentam altura superior as plantas dos demais níveis. E plantas que receberam inoculação natural apresentaram altura superior a plantas inoculadas artificialmente.

Não foi possível estabelecer um único modelo e com bom ajuste, para todos os tratamentos que relacionasse altura de planta e produção. No entanto, de forma geral, plantas com maior altura tiveram uma maior produção, para todos os tratamentos (Figura 10). A menor altura de planta foi de 1,95 e a maior de 4,55 m, considerando os anos de 2006 a 2008.

Tabela 4 - Valores médios de altura de plantas de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) submetidas a três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa*

Tratamentos	Altura de planta (m)*
Níveis de irrigação	--
Irrigação a 0% da ETc	3,0c
Irrigação a 50% da ETc	3,2b
Irrigação a 100% da ETc	3,5a
Métodos de inoculação	--
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	3,4a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	3,0b

*Valor obtido pela média de 4 avaliações entre os anos de 2006 a 2009 no município de Bebedouro, SP. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). CV= 10,50%

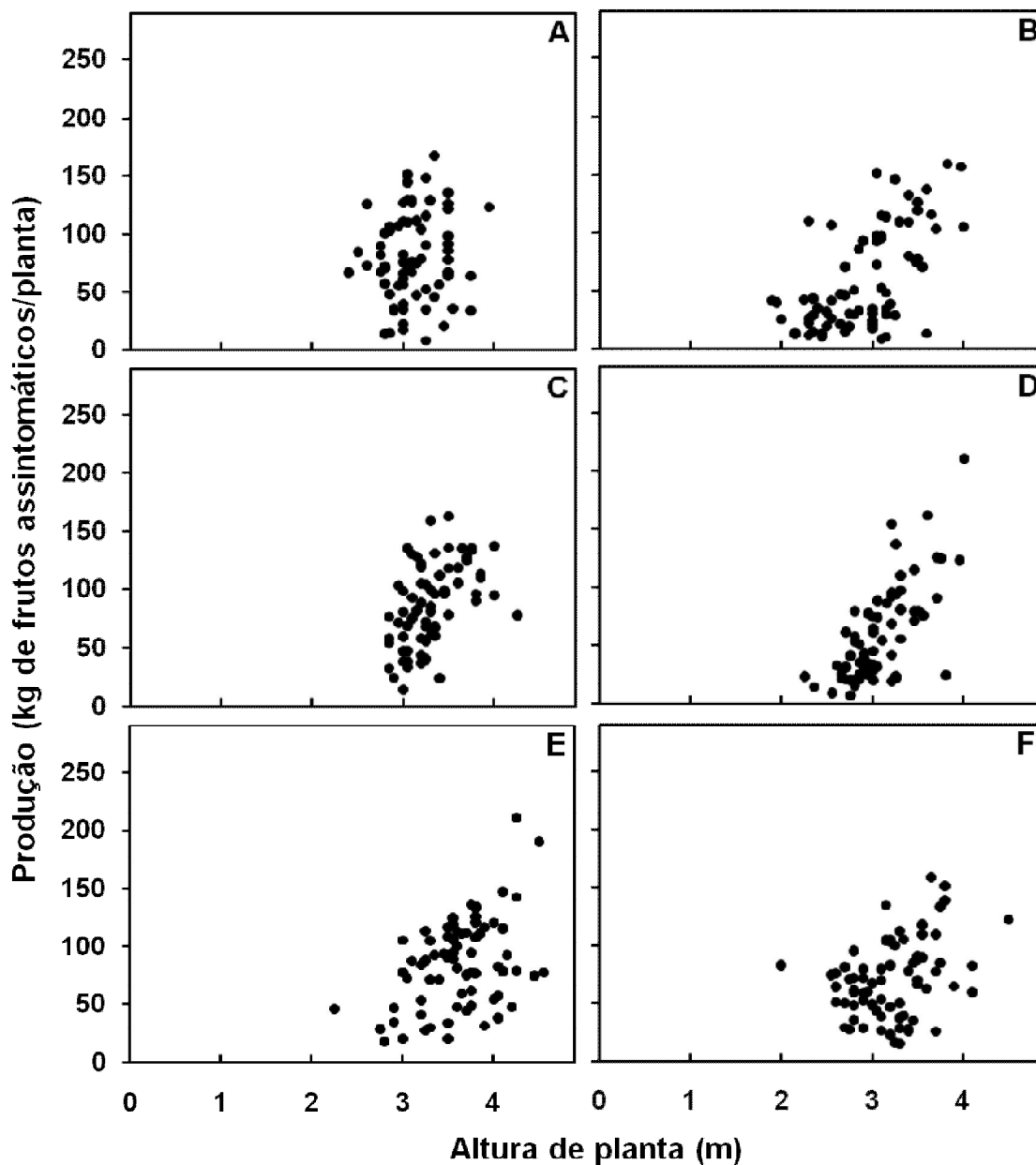


Figura 10 - Relação entre altura de planta (cm) e produção (kg de frutos sem sintomas de CVC/planta) de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETC, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D F) de *Xylella fastidiosa*. Considerando as safras 2006, 2007 e 2008

Com relação à variável volume de copa, não houve interação significativa entre os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação da bactéria *X. fastidiosa*, considerando as quatro avaliações realizadas entre 2006 e 2008. Entretanto, dentro de

cada um dos fatores houve diferença significativa. Plantas irrigadas a 100% da ETc apresentaram volume de copa 20% maior que plantas não irrigadas e 9% maior que as irrigadas a 50% da ETc, independente da metodologia de inoculação (Tabela 5). Também houve aumento significativo de 12% no volume de copa das plantas irrigadas a 50% da ETc, quando comparadas às plantas não irrigadas (Tabela 5). O tratamento inoculação artificial resultou em plantas com volumes de copa 12% inferior àqueles observados para plantas inoculadas artificialmente (Tabela 5).

As regressões lineares obtidas entre os dados de produção e volume de copa apresentaram coeficientes de determinação que variaram entre 0,10 e 0,43, dependendo do tratamento (Figura 11). Os valores de intercepto dos tratamentos não foram próximos, impossibilitando assim a comparação do coeficiente angular entre eles. No entanto, de modo geral houve pequena correlação entre volume de copa e produção. Ou seja, plantas com maiores volumes de copa obtiveram maior produção. O volume de copa variou entre 6,90 a 44,07 m³, considerando todos os tratamentos (Figura 11).

Tabela 5 - Valores médios do volume de copa obtidos de plantas de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) submetidas a três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa*

Tratamentos	Volume de copa (m ³)*
Níveis de irrigação	--
Irrigação a 0% da ETc	20,8c
Irrigação a 50% da ETc	23,7b
Irrigação a 100% da ETc	26,0a
Métodos de inoculação	--
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	25,0a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	22,0b

*Valor obtido pela média de 4 avaliações entre os anos de 2006 a 2009 no município de Bebedouro, SP. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%. CV= 20,44%.

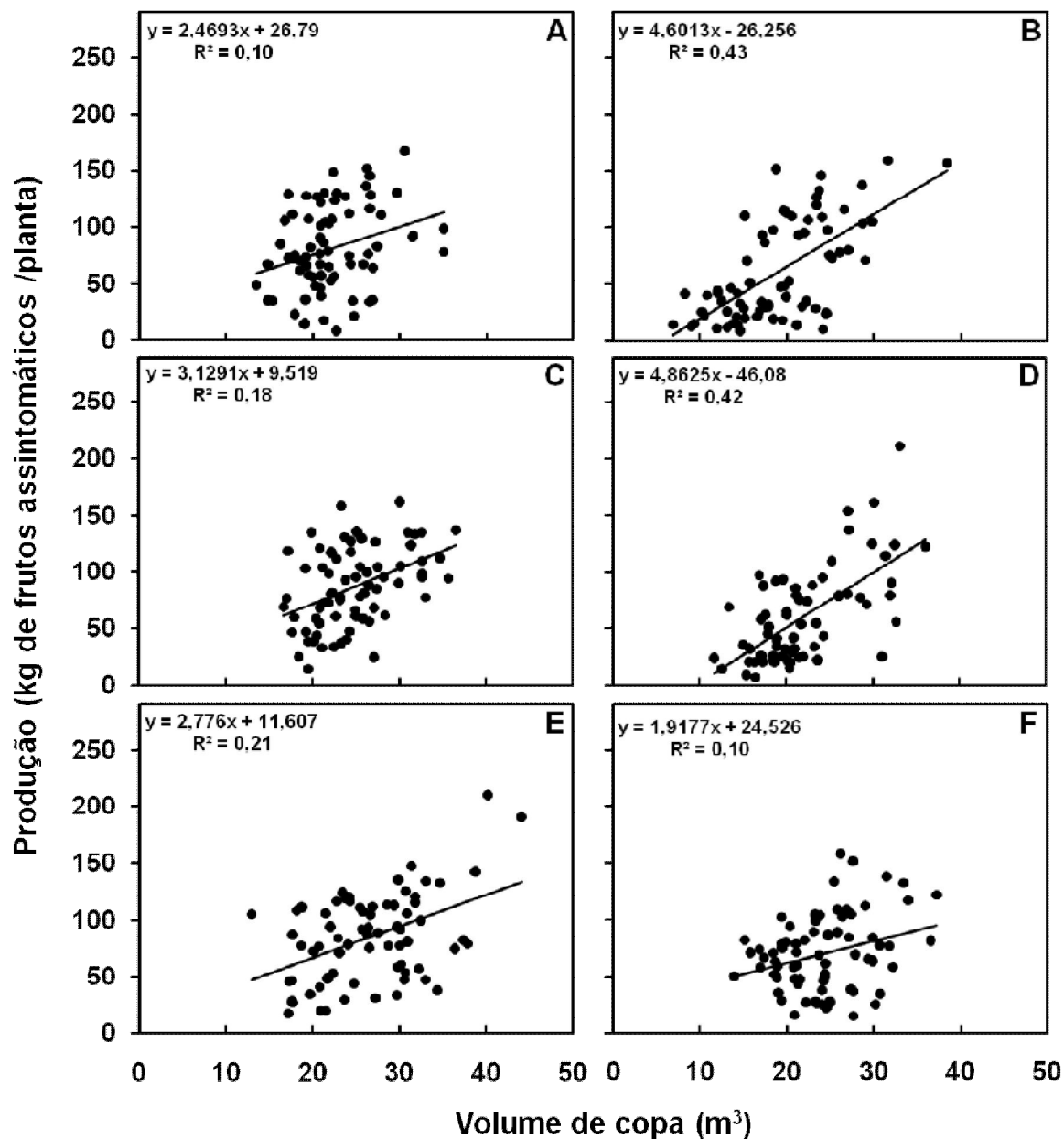


Figura 11 - Relação linear ($y = a + bx$) entre volume de copa (m^3) e produção (kg de frutos sem sintomas de CVC/planta) de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*), para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETc, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D F) de *Xylella fastidiosa*, no período de 2006 a 2008

Na avaliação do IAF foram obtidos índices de área foliar médios das 4 avaliações realizadas entre 2006 e 2008. Por se tratar de dados sem unidade de medida, os

resultados foram analisados pela comparação da magnitude relativa de cada valor, onde os maiores índices indicam menor radiação solar no interior da copa da planta.

Os fatores níveis de irrigação e método de inoculação não apresentaram interação significativa entre si, para IAF. Dentro de cada fator, no entanto, houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 6). Plantas irrigadas a 100% da ETc apresentaram índice médio de 2,9 contra 2,7 dos tratamentos irrigação a 0 e 50% da ETc (Tabela 6). Também houve diferença significativa entre os métodos de inoculação (Tabela 6). Entretanto, a constatação de diferenças estatísticas para essa variável, provavelmente está relacionada ao baixo coeficiente de variação dos dados. Uma vez que, os dados são muito próximos numericamente, apresentando pouca ou nenhuma importância prática.

Não houve modelo com bom ajuste que relacionasse os dados de IAF com os dados de produção (Figura 12). Dessa forma, nesse estudo, plantas com maiores valores de IAF não apresentaram maiores produções. Os valores de IAF variaram entre 1,32 a 4,04, considerando todas as avaliações para todos os tratamentos (Figura 12).

Tabela 6 - Valores médios de índice de área foliar (IAF) obtidos de plantas de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) submetidas a três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa*

Tratamentos	Índice de área foliar ^(1; 2)
Níveis de irrigação	--
Irrigação a 0% da ETc	2,7b
Irrigação a 50% da ETc	2,7b
Irrigação a 100% da ETc	2,9a
Métodos de inoculação	--
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	2,7a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	2,8b

⁽¹⁾ Valor obtido pela média de 4 avaliações entre os anos de 2006 a 2009 no município de Bebedouro, SP.

⁽²⁾ Valores relativos, onde os maiores índices indicam maior radiação solar no interior da copa da planta. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1%. CV= 8,8%.

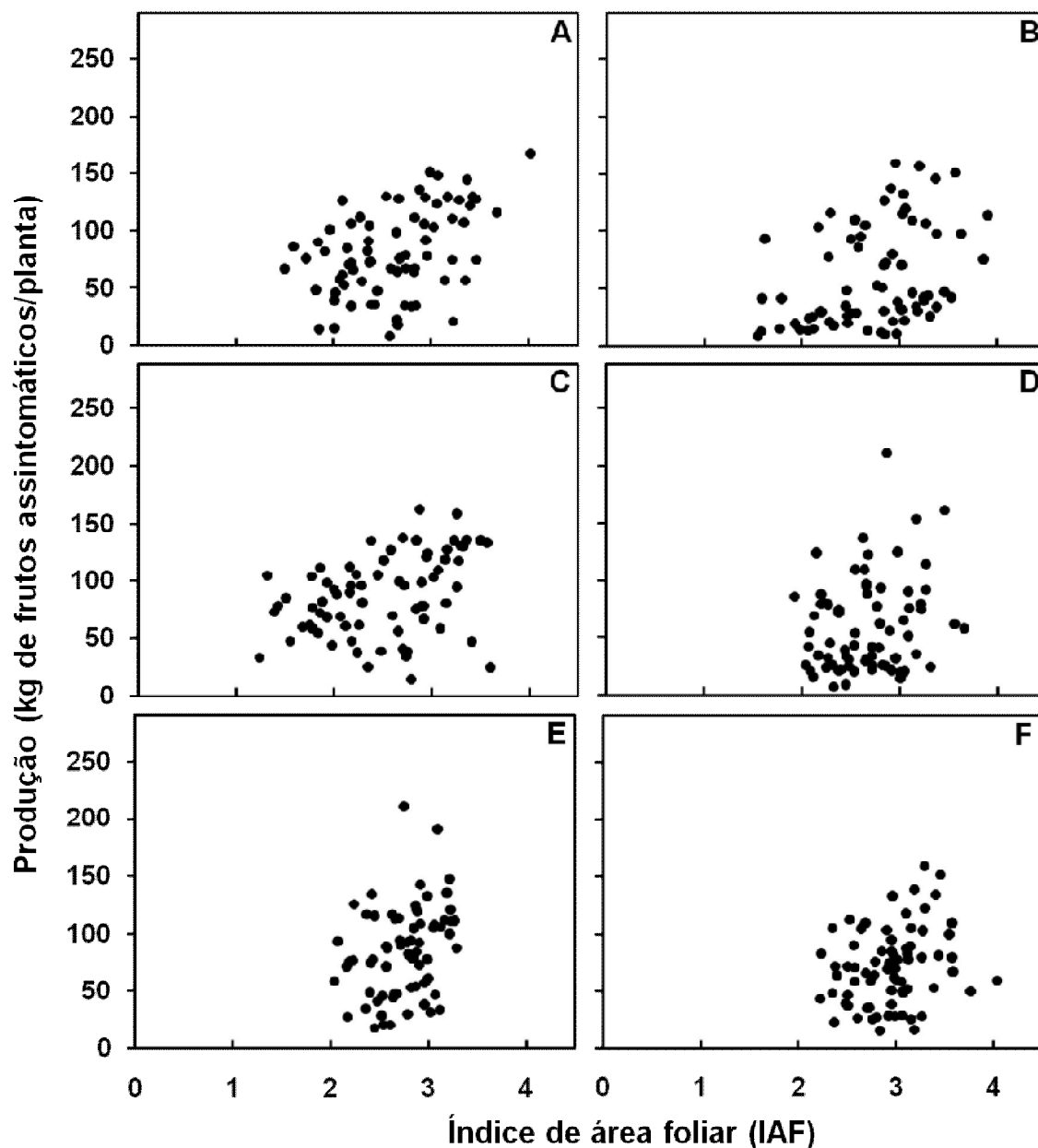


Figura 12 – Relação entre índice de área foliar (IAF) e produção (kg de frutos sem sintomas de CVC/ planta) de laranja 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETc, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D e F) de *Xylella fastidiosa*, no período 2006 a 2008

2.3.4 Produção

Os dados de produção para as safras de 2001 a 2005 foram obtidos pelo método de parcela experimental. Já para as safras de 2006 a 2008 foram obtidos pelo método de planta individual. No primeiro conjunto de safras, os dados de produção referem-se à

produção total, ou seja, à soma de frutos assintomáticos e sintomáticos. No segundo conjunto de safras, a produção foi analisada separadamente quanto ao peso e ao número de frutos assintomáticos e sintomáticos. Obviamente, na análise global das oito safras (item 2.3.4.1), a produção considerada, para o período de 2006 a 2008, foi à soma de frutos assintomáticos e sintomáticos. Além disso, esses dados foram analisados como se tivessem sido obtidos pelo método de parcela experimental, mas foram expressos em Kg/planta.

2.3.4.1 Safras 2001 a 2008

Na safra 2001, a produção média por planta ficou ao redor de 20 kg, para todos os tratamentos (Figura 13). A partir da safra 2001 até a safra 2004, plantas irrigadas a 100% da ETc combinado com inoculação natural da *X. fastidiosa*, produziram sempre mais que os demais tratamentos. Na safra 2003, a produção média desse tratamento foi 40% superior à das plantas não irrigadas e submetidas à inoculação artificial. Na safra 2004, a diferença foi ainda maior, plantas irrigadas a 100% da ETc com inoculação natural produziram em média praticamente o dobro dos outros tratamentos (Figura 13). A safra de 2005 foi atípica, a produção de todos os tratamentos foi inferior a 60 kg/planta, provavelmente devido à influência das variáveis ambientais (ver item 2.3.5). A partir dessa safra, houve recuperação na produção de todos os tratamentos e também oscilação entre o tratamento que apresentou maior produção (Figura 13). Em 2006, plantas não irrigadas e inoculadas naturalmente tiveram a maior produção, 127,20 Kg/planta em média. Já em 2007, plantas do tratamento com irrigação máxima e inoculação natural tiveram as maiores produções, 89,0 Kg/planta (Figura 13). No último ano avaliado, plantas do tratamento com inoculação natural e irrigadas no nível intermediário apresentaram maiores produções, 96,80 Kg/planta em média (Figura 13).

Os dados de produção média por planta entre as safras de 2001 e 2008, não apresentaram interação significativa entre os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação. Na média das oito safras não houve diferença significativa entre os níveis de irrigação, desconsiderando o método de inoculação (Tabela 7). Entretanto, plantas inoculadas naturalmente produziram significativamente 20% a mais que plantas inoculadas artificialmente, independentemente dos níveis de irrigação (Tabela 7). A

diferença entre esse dois métodos de inoculação torna-se ainda mais evidente comparando cada safra separadamente (Figura 14). Todos os anos, plantas que receberam inoculação natural produziram consideravelmente mais que as plantas inoculadas artificialmente (Figura 14). Com exceção da primeira safra, a menor e a maior diferença entre as produções foi de 9 e 28 Kg/planta em média nas safras de 2002 e 2006, respectivamente (Figura 14). Na média das oito safras consecutivas, plantas que foram inoculadas naturalmente produziram 15 Kg ou 21% a mais que plantas inoculadas artificialmente. Essa diferença, representa um ganho de aproximadamente 203 caixas de 40,1Kg ou 8 toneladas por hectare, considerando 550 plantas/ha

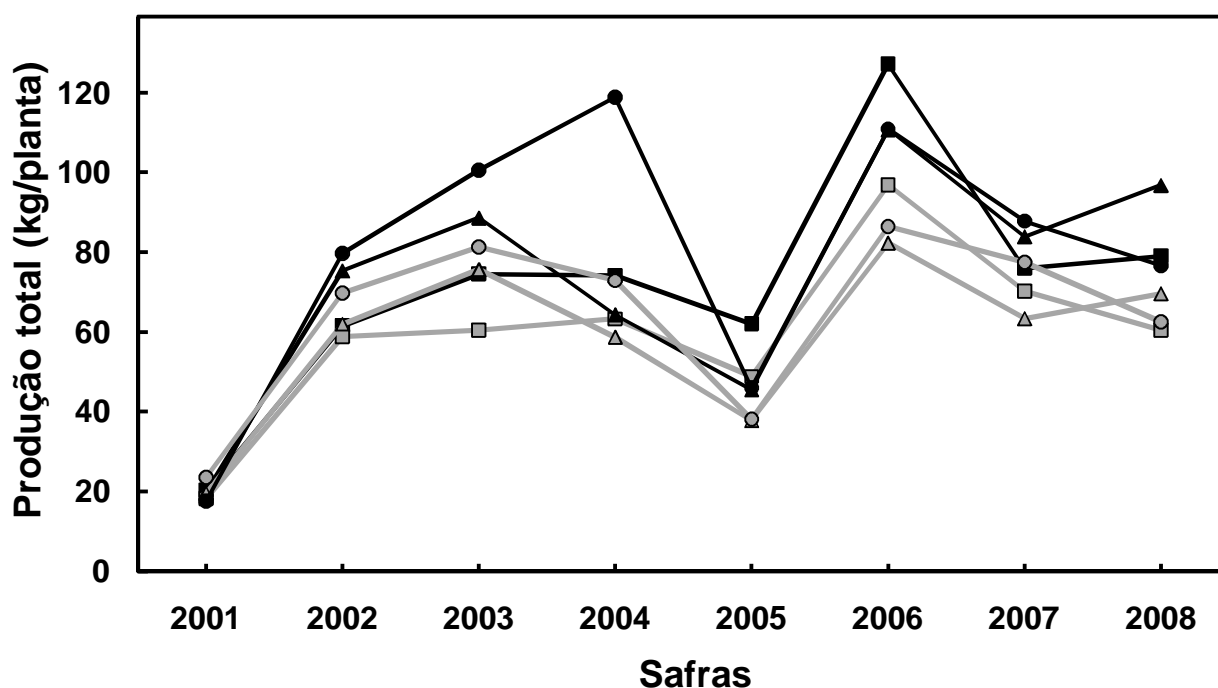


Figura 13 – Curva de progresso de produção total (kg/ planta de frutos assintomáticos e sintomáticos) de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) durante as safras de 2001 a 2008, submetidas aos tratamentos irrigação a 0 (quadrado), 50 (triângulo) e 100% (círculo) da ETC, combinados com inoculação natural (linhas preta) e artificial (linhas cinza) de *Xylella fastidiosa*

Tabela 7 – Produção de laranjeiras ‘Natal’ (*Citrus cinensis*) enxertada em limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia*) e submetidas a três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa*, no período de 2001 a 2008. Bebedouro-SP

Tratamentos	Produção total média* (kg/planta)
Níveis de irrigação	--
Irrigação a 0% da ETc	64,3a
Irrigação a 50% da ETc	64,6a
Irrigação a 100% da ETc	70,0a
Métodos de inoculação	--
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	73,4a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	59,3b

(*) Média por planta referente às safras de 2001 a 2008 no município de Bebedouro, SP. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1%. CV= 11,3%

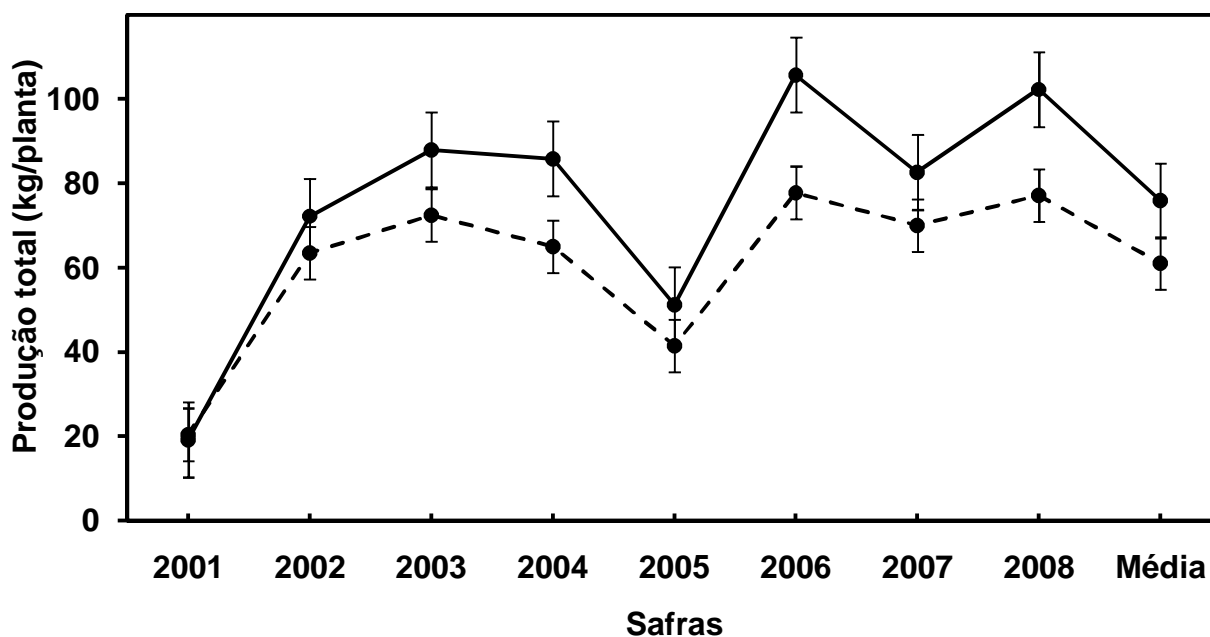


Figura 14 – Produção total (kg/planta) de laranjeira ‘Natal’ (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia*) durante as safras de 2001 a 2008 submetidas à inoculação natural (linha contínua) e artificial (linha pontilhada) de *Xylella fastidiosa*

2.3.4.2 Safras 2001 a 2004

Nesse conjunto de safra, também não houve interação significativa entre os fatores estudados. No entanto, diferentemente da média das safras de 2001 a 2008, a produção por planta diferiu significativamente entre os níveis de irrigação, considerando as safras de 2001 a 2004 (Tabela 8). Na média dessas safras, plantas no nível máximo de irrigação produziram significativamente 23% a mais que plantas não irrigadas e 18% a mais que plantas irrigadas a 50% da ETc, desconsiderando os métodos de inoculação (Tabela 8). Como em todas as safras, plantas inoculadas naturalmente produziram significativamente mais que plantas inoculadas artificialmente, para o conjunto das safras 2001 a 2004 (Tabela 8). Para esse período, não houve correlação entre os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação.

Tabela 8 – Produção de laranja 'Natal' (*Citrus cinensis*) enxertadas em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) e submetidas a três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa*, no período de 2001 a 2004. Bebedouro-SP

Tratamentos	Produção total média* (kg/planta)
Níveis de irrigação	--
Irrigação a 0% da ETc	54,3a
Irrigação a 50% da ETc	57,9a
Irrigação a 100% da ETc	70,6b
Métodos de inoculação	--
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	66,3a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	55,4b

⁽¹⁾ Média por planta referente às safras de 2001 a 2004 no município de Bebedouro, SP.

Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1%. CV= 16%

2.3.4.3 Safras 2006 a 2008

O modelo monomolecular foi utilizado para descrever a curva de progresso da proporção de frutos com sintoma de CVC, apresentando bom ajuste aos dados e valores de resíduo próximo ao eixo zero (Figura 15 e Tabela 9). Observando a figura 15 fica evidente que plantas irrigadas a 100% da ETc (Figuras 15E e 15F) produziram bem menos frutos com sintomas que os demais tratamentos. Além disso, a assíntota (b1)

desse nível de irrigação, combinado com inoculação artificial foi significativamente inferior, pelo teste *t*, aos tratamentos sem irrigação ou irrigado a 50% da ETc, combinados com as duas metodologia de inoculação (Tabela 9). Na ausência de irrigação, plantas que receberam inoculação natural tiveram valor de assíntota significativamente menor que plantas inoculadas naturalmente (Tabela 9). Dentro do nível de irrigação intermediário, não houve diferença significativa da assíntota entre inoculação natural ou artificial (Tabela 9). Os tratamentos não diferiram estatisticamente em relação ao inóculo inicial (y_0) (Tabela 9).

Tabela 9 – Parâmetros do modelo monomolecular ajustado por meio de regressão não linear aos dados de proporção de frutos com sintoma de Clorose Variegada dos Citros em laranja 'Natal' (*Citrus sinensis*) nos anos de 2006-2008

Tratamentos	R^2 ^a	b_1 ^b	Erro _{b_1} ^c	y_0	Erro _{y_0}	r	Erro _{r}
	Monomolecular						
Inoculação natural – Irrigação 0	0,77	0,27 b	0,02	0,08a	0,02	0,46	4,40
Inoculação artificial – Irrigação 0	0,82	0,45 c	0,04	0,13a	0,04	1,44	>100
Inoculação natural – Irrigação 50	0,82	0,24 b	0,03	0,04a	0,02	0,22	0,24
Inoculação artificial – Irrigação 50	0,58	0,34 bc	0,05	0,11a	0,05	1,42	>100
Inoculação natural – Irrigação 100	0,79	0,26abc	0,12	0,02a	0,02	0,05	0,05
Inoculação artificial – Irrigação 100	0,31	0,10a	0,03	0,04a	0,03	1,31	>100

^a Coeficiente de determinação obtido pelo modelo

^b b_1 , y_0 e r – Referem-se, respectivamente a quantidade máxima de doença (assíntota), a quantidade de inóculo inicial (y_0) e a taxa de progresso do progresso da doença (r), estimada pelo modelo

^c Erro obtido para cada parâmetro obtido pelo modelo. Para todos os parâmetros comparáveis $p < 0,05$. Colunas seguidas das mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste *t* ($p < 0,05$)

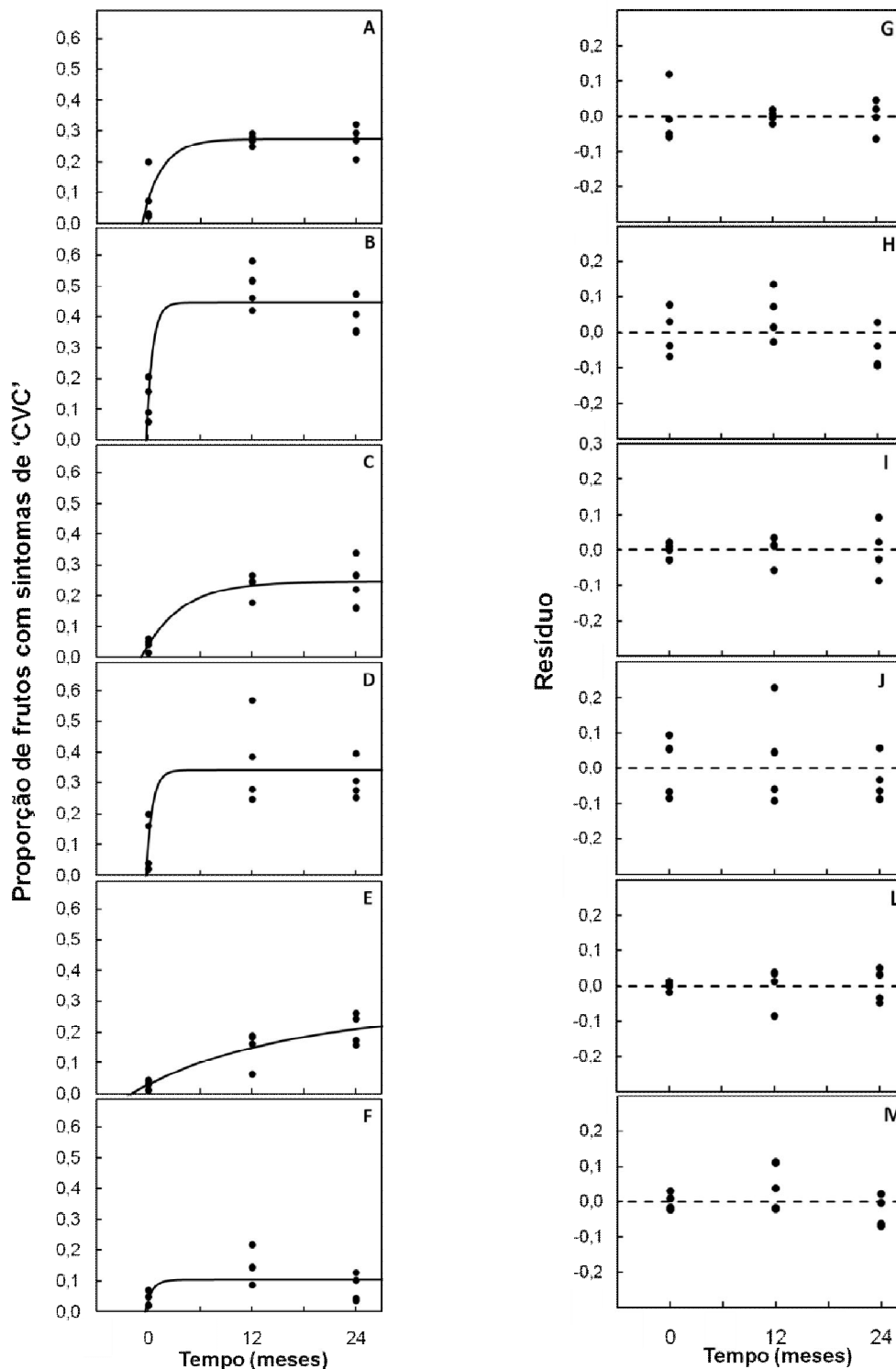


Figura 15 - Curva de progresso da proporção de frutos com sintoma da CVC ($\varnothing < 50$ mm) estimada pelo modelo monomolecular e os respectivos resíduos obtidos entre os valores de incidência estimado e observado, para os tratamentos sem irrigação e inoculação natural da *Xylella fastidiosa* (A e G), sem irrigação e inoculação artificial (B e H), irrigado a 50% da ETc e inoculação natural (C e I), irrigado a 50% da ETc e inoculação artificial (D e J), irrigado a 100% da ETc e inoculação natural (E e L) e irrigado a 100% da ETc e com inoculação artificial (F e M), no período de 2006 a 2008

Ao analisar o número de frutos doentes, houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores estudados. Dessa forma, plantas irrigadas a 100% da ETc apresentaram diferença altamente significativa, em relação aos tratamentos sem irrigação (Figura 16). O nível máximo de irrigação reduziu em 54% a produção de frutos doentes, quando combinado com inoculação natural, e em 83% quando combinado com inoculação artificial, comparado com as plantas do tratamento não irrigado (Figura 16). As plantas irrigadas a 50% da ETc apresentaram produções intermediárias, diferindo significativamente, quando inoculadas artificialmente, mas não quando inoculadas de forma natural (Figura 16). Dentro do mesmo nível de irrigação, a produção de frutos doentes diferiu significativamente, apenas na ausência de irrigação, entres os métodos de inoculação. Essa diferença foi em média de 71 frutos doentes a mais nas plantas inoculadas artificialmente (Figura 16).

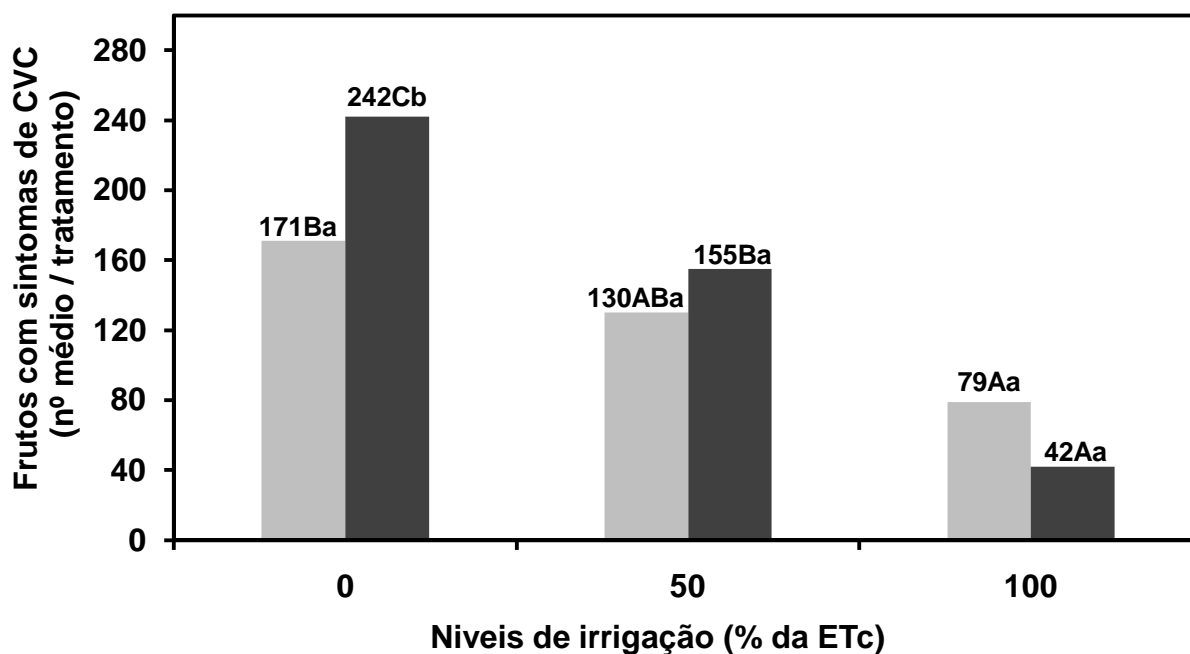


Figura 16 – Número médio de frutos (com sintomas de CVC) de laranja 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) colhidos por planta, para os tratamentos irrigação a 0, 50 e 100% da ETc combinados com e inoculação natural ou artificial de *Xylella fastidiosa*. Colunas cinza representam inoculação natural e colunas preta, inoculação artificial. Dados representam a média das safras 2006, 2007 e 2008. CV= 42%

A área abaixo da curva da proporção de frutos sintomáticos (AUDFPC) apresentou relação linear ($R^2=0,67$; $p < 0,01$) com AUDPC obtida a partir da curva de progresso da incidência de ramos com sintomas no item 2.3.1 (Figura 17); indicando que a produção de frutos com sintomas de CVC está relacionada com a porcentagem de ramos com sintomas da doença.

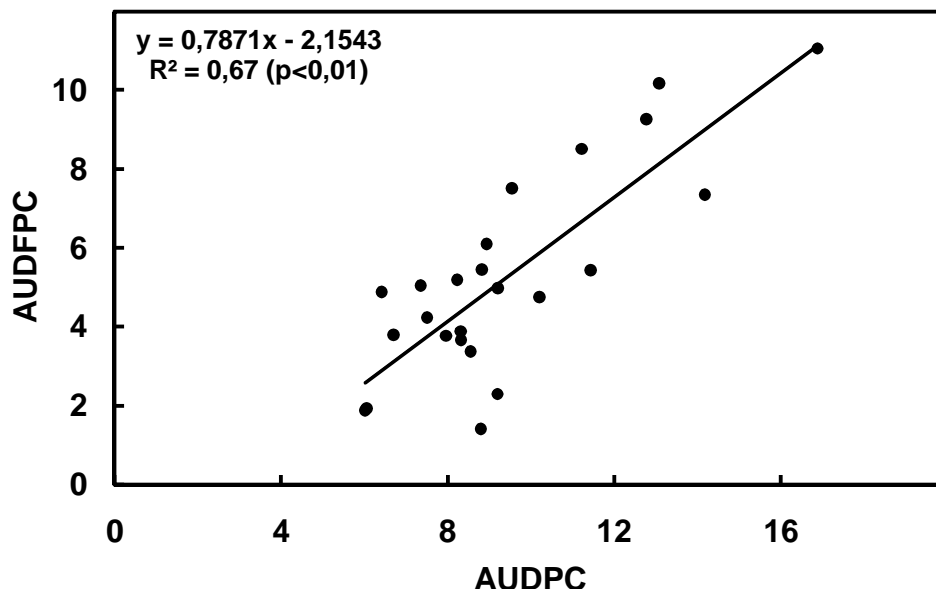
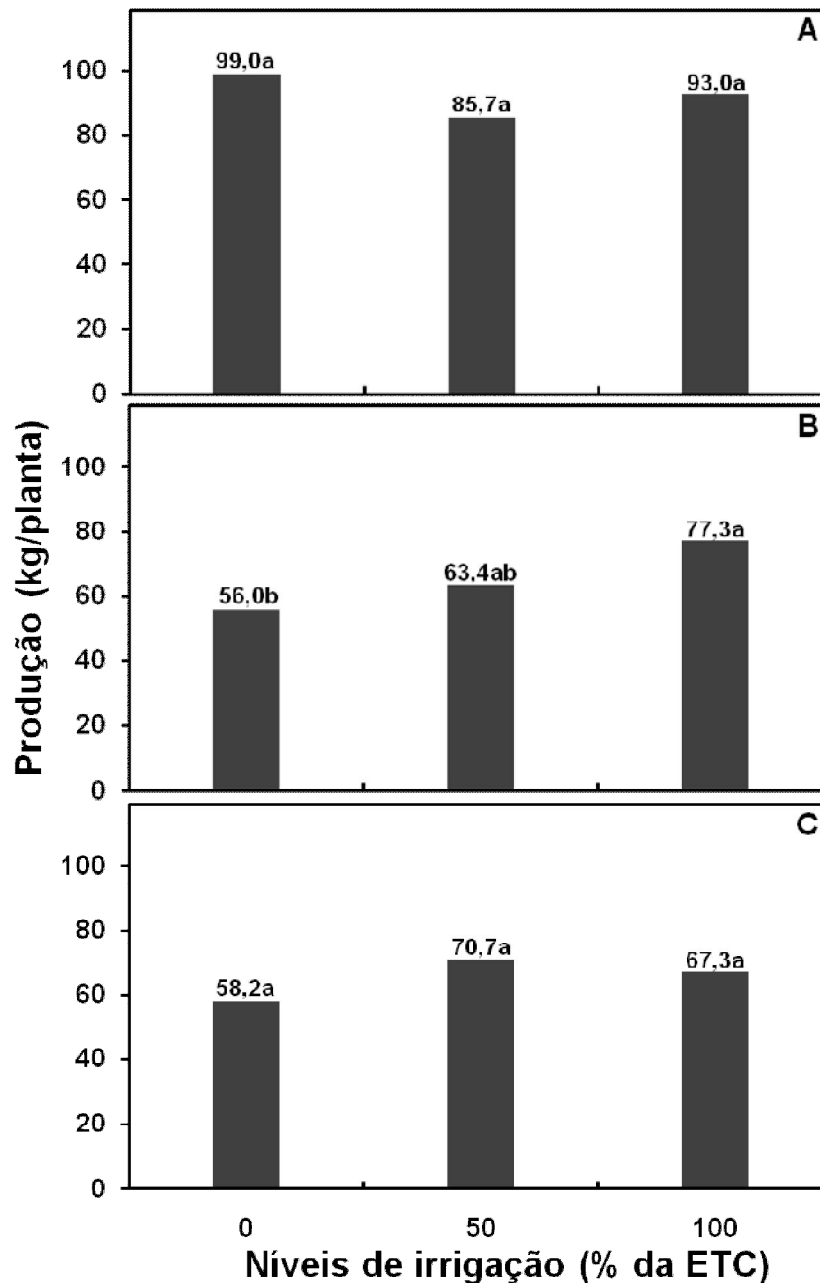


Figura 17 - Regressão linear ($y=a+bx$) entre área abaixo da curva da proporção de frutos doentes (AUDFPC) e área abaixo da curva de progresso da incidência (AUDPC) da CVC, no período de 2006 a 2008

Em relação à produção de frutos assintomáticos, não houve interação significativa entre os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação, nas safras 2006, 2007 e 2008.

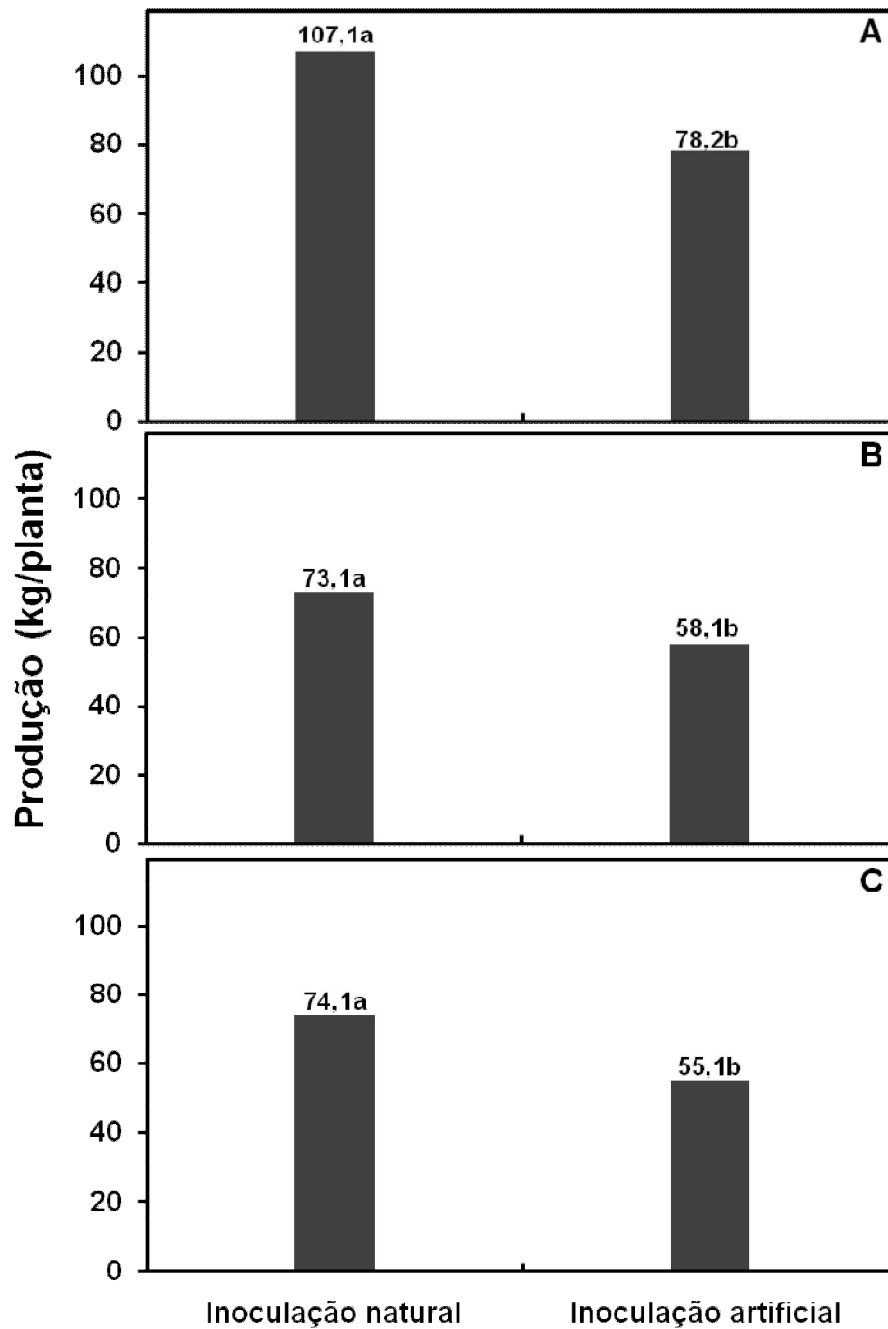
Considerando as 3 safras, somente na safra 2007 houve diferença significativa entre os níveis de irrigação, independentemente dos métodos de inoculação (Figura 18). Nessa safra, plantas irrigadas a 100% da ET_c produziram significativamente 21 Kg a mais de frutos assintomáticos, que plantas não irrigadas (Figura 18B). Plantas irrigadas a 50% da ET_c não diferiram estatisticamente dos outros níveis de irrigação (Figura 18B). Quanto aos métodos de inoculação, houve diferença significativa entre esses eles nas três safras estudadas (Figura 19). Plantas inoculadas de forma natural

produziram 29, 15 e 19 Kg a mais de frutos assintomáticos, respectivamente nas safras 2006, 2007 e 2008, que plantas inoculadas de forma artificial (Figura 19).



Colunas seguidas das mesmas letras, para cada safra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 37,0; 48,5 e 42,0%, respectivamente

Figura 18 – Produção (kg de frutos sadios/planta) de laranjeiras 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro cravo (*C. limonia*) nas safras 2006 (A), 2007 (B) e 2008 (C) submetidas a três níveis de irrigação



Colunas seguidas das mesmas letras, para cada safra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 37,0; 48,5 e 42,0%, respectivamente

Figura 19 – Produção (kg de frutos sadios/planta) de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*) enxertada em limoeiro cravo (*C. limonia*), nas safras 2006 (A), 2007 (B) e 2008 (C) submetidas a duas formas de inoculação de *Xylella fastidiosa*

Os dados da produção em número médio de frutos assintomáticos por planta apresentaram resultados interessantes. Uma vez que, em todas as safras, plantas não irrigadas produziram numericamente mais frutos que plantas irrigadas 100% da ETc (Tabela 10). Mesmo assim, com exceção de uma safra, a produção em Kg nas plantas irrigadas a 100% da ETc, foi sempre maior que nas plantas sem irrigação (Figura 18). Dessa forma, pode-se concluir que as plantas submetidas a esse nível de irrigação produziram frutos de maior tamanho e/ou qualidade que plantas não irrigadas.

Considerando o número médio de frutos assintomáticos por planta, também não houve interação significativa entre os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação. Houve diferença significativa entre os níveis de irrigação nas safras 2006 e 2008. Na safra 2006, plantas não irrigadas produziram mais frutos assintomáticos em média que plantas irrigadas a 50 ou 100% da ETc (Tabela 10). Já na safra 2008 houve diferença significativa apenas entre os níveis de irrigação 50 e 100% da ETc (Tabela 10). Quanto ao fator método de inoculação, nas três safras houve diferença significativa, entre plantas inoculadas de forma natural e artificial. A diferença em média foi de 214, 124 e 86 frutos assintomáticos por planta, entre as duas formas de inoculação, nas safras 2006, 2007 e 2008, respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10 – Número de frutos de laranjeiras ‘Natal’ (*Citrus cinensis*) enxertada em limoeiro cravo (*C. limonia*) colhidos por planta, para três níveis de irrigação (0, 50 e 100% da ETc) e dois métodos de inoculação (natural e artificial) de *Xylella fastidiosa* nas safras 2006, 2007 e 2008

Tratamentos	Nº de frutos assintomáticos/planta*		
	2006	2007	2008
Níveis de irrigação			
Irrigação a 0% da ETc	740a	546a	535ab
Irrigação a 50% da ETc	597b	506a	609a
Irrigação a 100% da ETc	610b	529a	480b
Métodos de inoculação			
Inoculação natural de <i>X. fastidiosa</i>	749a	585a	517a
Inoculação artificial de <i>X. fastidiosa</i>	535b	461b	431b

*Número médio de frutos assintomáticos/planta, colhidos nas safras 2006, 2007 e 2008. Bebedouro, SP. Colunas seguidas das mesmas letras, dentro dos níveis de irrigação e dos métodos de inoculação, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%. CV=38,5; 48,3 e 42,5%, respectivamente

2.3.5 Dados meteorológicos

A distribuição de chuvas mostra períodos típicos de déficit hídrico nos anos de 2006 a 2008 (Figura 20) e temperaturas médias acima dos 20°C mesmo nos meses de inverno (Figura 21).

Durante o ano de 2006 foi registrado o maior déficit hídrico, com precipitação mensal inferior a 50 mm nos meses de abril a setembro (Figura 20A). Durante esse ano, a maior temperatura média máxima foi registrada no mês de janeiro 30,5°C e a menor no mês de março 26,3°C. A temperatura média oscilou entre 19,5 a 25,3°C registradas nos meses maio e março, respectivamente. Já a média da temperatura mínima oscilou entre 12,7°C em março a 20,5°C em dezembro (Figura 21A).

O ano de 2007 foi marcado pela ausência de precipitação nos meses de junho, agosto e setembro e por precipitação abaixo de 70mm para os meses de abril, maio, julho e outubro (Figura 20B). Os outros meses apresentaram considerável precipitação média mensal (Figura 20B). A temperatura média máxima variou de 24,4 a 33°C e a mínima de 12,9 a 20,9°C entre os meses do ano. O menor e o maior valor registrado para temperatura média mensal foi de 19,6°C e 26,3°C, respectivamente (Figura 21B).

O último ano de avaliação registrou déficit hídrico nos meses de maio a outubro com precipitação mensal abaixo dos 50mm (Figura 20C). Para o ano de 2008, a temperatura média máxima ficou entre 26,4 e 31,7°C e a temperatura mínima variou entre 12,5 a 19,8°C (Figura 21C). A maior temperatura média mensal foi de 25,5°C registrada no mês de outubro e a menor ocorreu no mês de maio 19,4°C (Figura 21C).

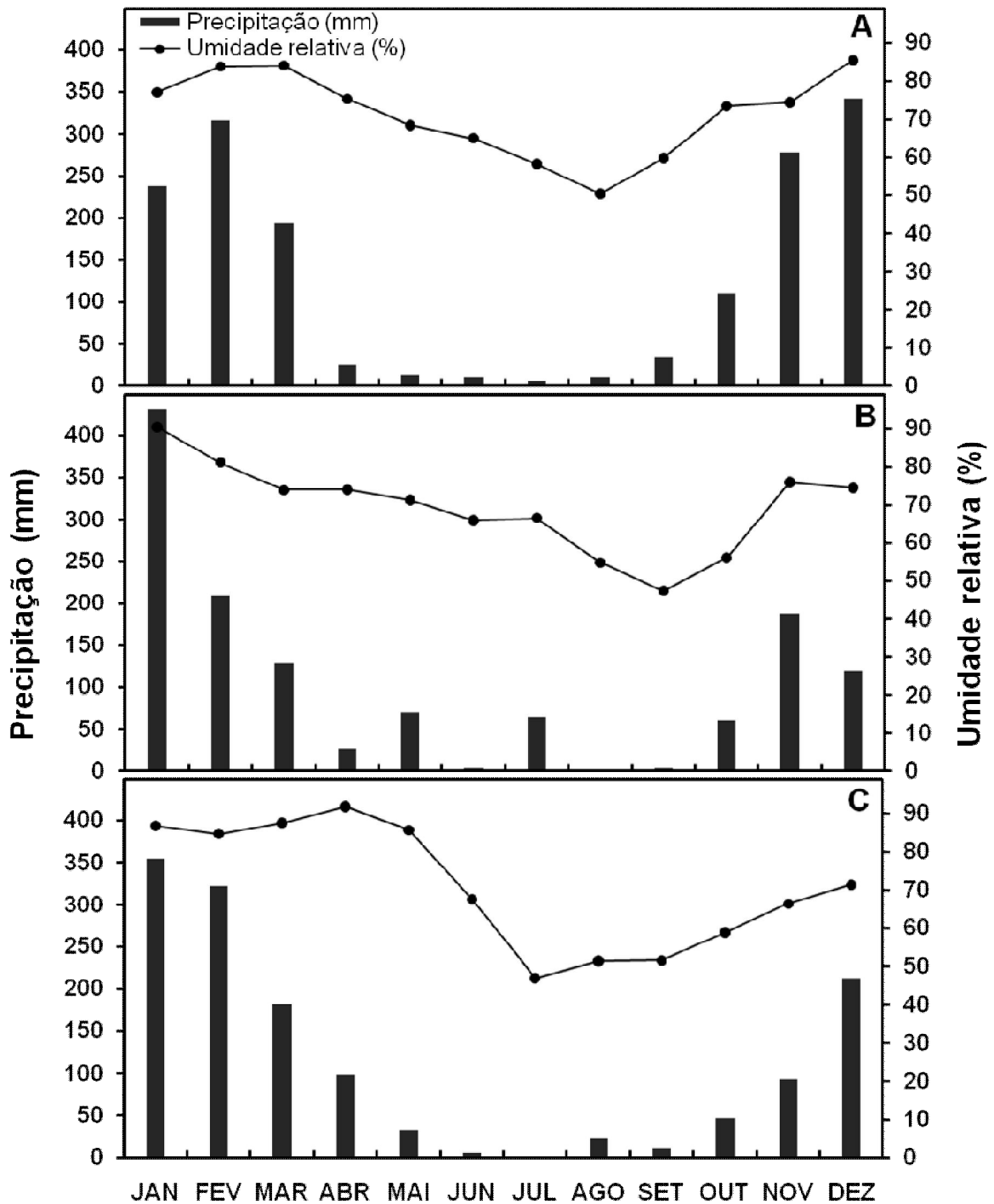


Figura 20 – Dados mensais precipitação pluviométrica e umidade relativa observados nos anos 2006 (A), 2007 (B) e 2008 (C), Bebedouro, SP

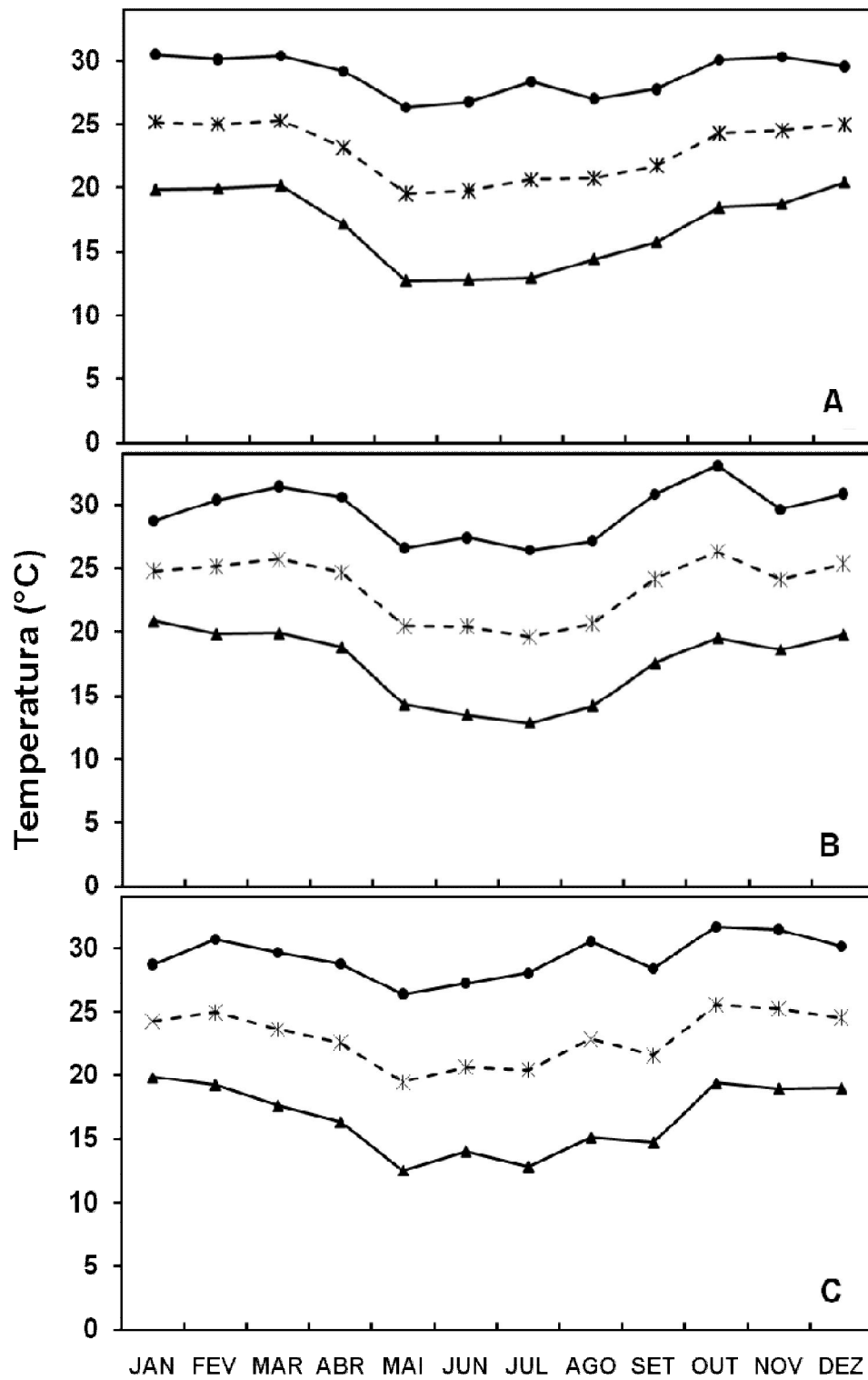


Figura 21 – Dados mensais de temperatura máxima (●), média (*) e mínima (▲) para os anos de 2006 (A), 2007 (B), e 2008 (C), Bebedouro, SP

2.3.6 Função de dano

Nesse estudo, para todos os tratamentos, o decréscimo na produção de frutos assintomáticos esteve associado ao aumento da incidência de CVC, descrito pelo modelo exponencial negativo eq.(5) (Figura 22). Os coeficientes de determinação (R^2) obtidos com o uso dessa equação variaram de 0,18 a 0,60 com probabilidade inferior a 1% (Tabela 11). Segundo o modelo, a partir de ausência de doença, um aumento para 10% na incidência de ramos com CVC, reduz a produção de frutos assintomáticos de 13 a 21 Kg, dependendo do tratamento. A figura 22 mostra que plantas que apresentaram 50% ou mais de ramos com sintomas sempre produziram menos que 100 Kg de frutos assintomáticos, independentemente do tratamento. O maior valor de intercepto (parâmetro a) foi observado no tratamento onde plantas foram irrigadas a 100% da ETc combinado com inoculação natural de *X. fastidiosa* (Tabela 11). Dentro desse nível de irrigação, plantas inoculadas de forma natural apresentaram valor significativamente maior que plantas inoculadas artificialmente (Tabela 11). O tratamento sem irrigação combinado com inoculação natural diferiu significativamente do tratamento irrigado a 100% da ETc combinado com inoculação artificial. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística em relação a esse parâmetro. O parâmetro b da equação não diferiu significativamente entre os tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11 – Parâmetros da equação e coeficiente de determinação (R^2) do modelo exponencial negativo [$y=a*exp(-b*x)$, onde y é a produção de frutos sadios e x é a incidência de CVC (proporção de ramos com sintomas)] ajustados aos tratamentos irrigação a 0, 50 e 100% da ETc, combinados com inoculação natural e artificial de *Xylella fastidiosa*

Tratamentos	R^2 (a)	a ^(b)	Erro _a ^(c)	b ^(b)	Erro _b ^(c)
Inoculação natural – Irrigação 0	0,60	121,42a	5,46	-0,017a	0,002
Inoculação artificial – Irrigação 0	0,55	114,32ab	8,21	-0,019a	0,003
Inoculação natural – Irrigação 50	0,49	115,50ab	5,38	-0,014a	0,002
Inoculação artificial – Irrigação 50	0,39	110,92ab	10,74	-0,018a	0,003
Inoculação natural – Irrigação 100	0,52	123,89a	6,41	-0,019a	0,002
Inoculação artificial – Irrigação 100	0,18	93,45b	7,68	-0,015a	0,004

^(a) Coeficiente de determinação obtido entre os valores previstos e observados

^(b) a,b referem-se, respectivamente ao intercepto do eixo y e ao parâmetro relacionado com a doença

^(c) Erro obtido para cada parâmetro, segundo o modelo. Para todos os parâmetros $p < 0,01$

Colunas seguidas das mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste t ($p < 0,05$)

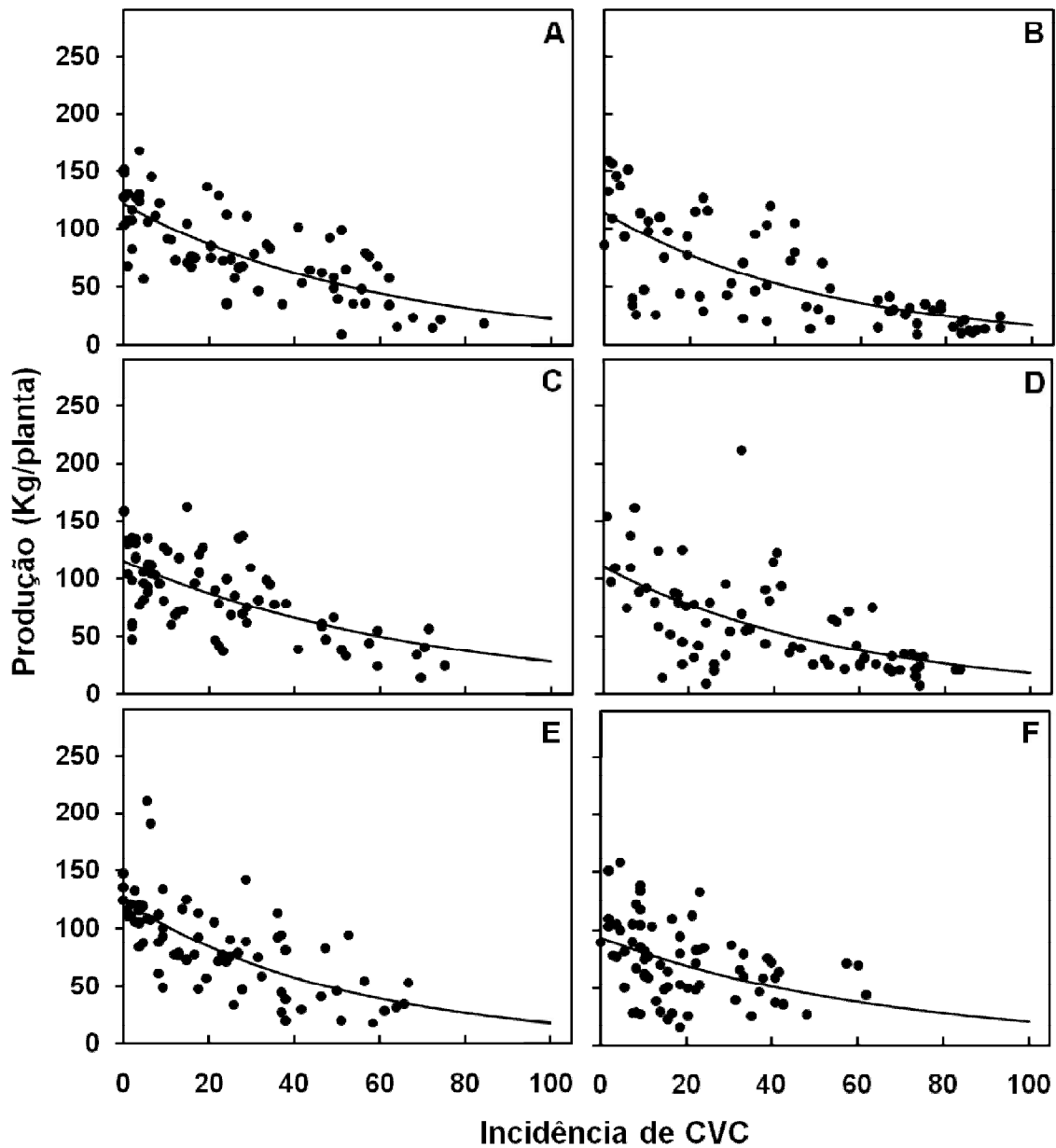


Figura 22 - Relação entre incidência de CVC (porcentagem de ramos sintomáticos) e produção de laranjeira 'Natal' (kg de frutos assintomáticos/planta) para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETc, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D F) de *Xylella fastidiosa*. Considerando as safras 2006, 2007 e 2008. As linhas representam as curvas ajustadas pelo modelo exponencial negativa ($p < 0,01$)

O conjunto de dados de todos os seis tratamentos no período de 2006 a 2008 também foi descrito pela equação exponencial negativa eq.(5). Nesse caso o coeficiente de determinação foi 0,45 a 1% de probabilidade (Figura 23). De acordo com o modelo e independentemente do tratamento, na ausência da CVC a produção seria de 114 Kg de frutos assintomáticos por planta. Um aumento de 10% na incidência de ramos com sintomas levaria uma redução 18,3 Kg de frutos assintomáticos por planta. Caso o aumento incidência fosse de 20% a redução seria de 33,8 Kg de frutos assintomáticos por planta (Figura 23).

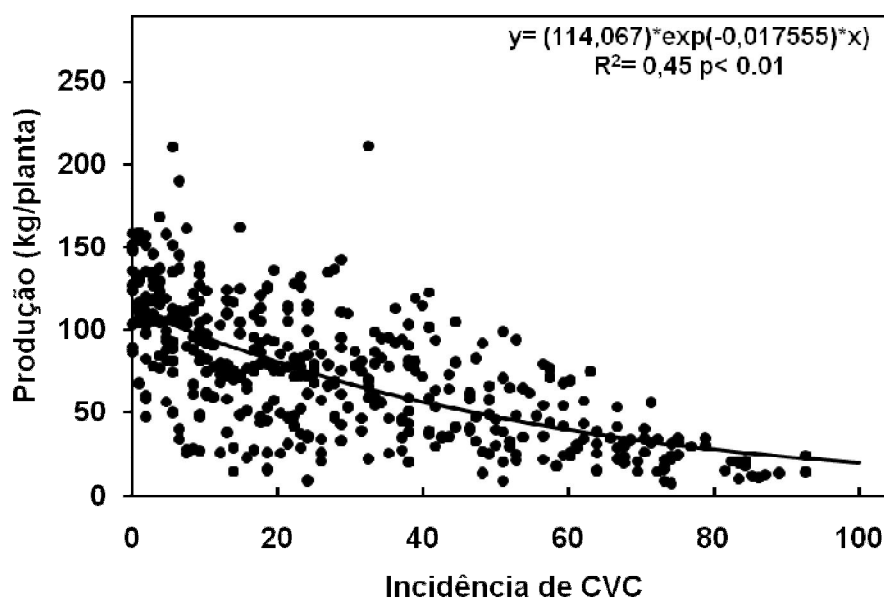


Figura 23 - Relação entre incidência de CVC (porcentagem de ramos sintomáticos) e produção (kg de frutos assintomáticos/planta) para o conjunto de dados dos seis tratamentos. Considerando as safras 2006, 2007 e 2008. A linha representa a curva ajustada pelo modelo exponencial negativa ($p < 0,01$)

O modelo linear múltiplo eq.(6) prevê redução na produção de frutos sadios, quanto maior for a incidência de ramos com sintomas de CVC e menor o volume de copa da planta (Figura 24). Os coeficientes de determinação (R^2) obtidos com o uso dessa equação variam de 0,19 a 0,75 e foram superiores, para todos os tratamentos, em relação aos coeficientes do primeiro modelo (Tabela 12). De acordo com esse modelo, um aumento de 10% na incidência de CVC, proporciona redução na produção de frutos sadios que varia de 5 a 18 Kg planta, dependendo de cada tratamento, para

um mesmo volume de copa. De forma inversa, ou seja, uma redução de 5 m³ no volume de copa, proporciona redução na ordem de 8 a 28 Kg planta, variando de acordo com o tratamento e mantendo-se fixo o valor da incidência. Considerando as mesmas alterações nas duas variáveis, a produção desses frutos seria reduzida de 13 a 42 Kg planta, dependendo de cada tratamento. Ainda segundo o modelo, as plantas menos afetadas com essas alterações, respectivamente, seriam as plantas do tratamento com irrigação a 100% da ETc combinado com inoculação artificial e natural. Observando a figura 23, é possível afirmar que, plantas com até 15% de incidência de CVC e com volume de copa superior a 30 m³, foram as mais produtivas. Além disso, há um maior número de plantas, nesse intervalo, no tratamento irrigado a 100% da ETc combinado com inoculação natural (Figura 24E).

O parâmetro *b2* desse modelo não diferiu significativamente entre os tratamentos, mas para o parâmetro *b1*, foram observadas diferenças (Tabela 12). Dentro do método inoculação artificial, houve diferença significativa, entre os níveis de irrigação (Tabela 12). O mesmo não ocorreu dentro do método de inoculação natural, ou seja, os níveis de irrigação não diferiram entre si (Tabela 12). Houve diferença entre os métodos de inoculação somente no nível de irrigação 50% da ETc. Além dessas diferenças, os níveis máximos de irrigação diferiram significativamente do nível de irrigação 50% da ETc combinado com inoculação artificial (Tabela 12). O parâmetro *a* desse modelo não foi submetido ao teste *t*.

Tabela 12 – Parâmetros da equação e coeficiente de determinação (R^2) do modelo linear múltiplo [$Y=(a+b_1.V)*(1-b_2.x)$], onde Y é a produção de frutos sadios, V é o volume de copa (m^3) e x é a incidência de CVC (proporção de ramos com sintomas] ajustados aos tratamentos irrigação a 0, 50 e 100% da ETc, combinados com inoculação natural e artificial de *Xylella fastidiosa*

Tratamentos	R^2 (a)	b_1 (b)	Erro $_{b_1}$ (c)	b_2	Erro $_{b_2}$	a (b)	Erro $_a$
Inoculação natural – Irrigação 0%	0,65	3,45abc	0,8402	0,010a	0,0007	39,02	18,90
Inoculação artificial – Irrigação 0%	0,75	4,96 bc	0,5832	0,009a	0,0006	-0,17	12,59
Inoculação natural – Irrigação 50%	0,58	3,20ab	0,7215	0,009a	0,0009	32,56	18,22
Inoculação artificial – Irrigação 50%	0,66	6,11 c	0,7608	0,010a	0,0009	-40,53	17,38
Inoculação natural – Irrigação 100%	0,57	2,82ab	0,6332	0,011a	0,0011	39,33	17,70
Inoculação artificial – Irrigação 100%	0,19	1,85a	0,8558	0,009a	0,0024	40,97	22,31

(a) Coeficiente de determinação, determinado pelo modelo

(b) b_1 parâmetro relacionado com o volume de copa, b_2 parâmetro relacionado com a incidência da doença e a parâmetro do modelo

(c) Erro obtido para cada parâmetro, segundo o modelo. Para todos os parâmetro comparáveis $p < 0,03$
Colunas seguidas das mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste t ($p < 0,05$).

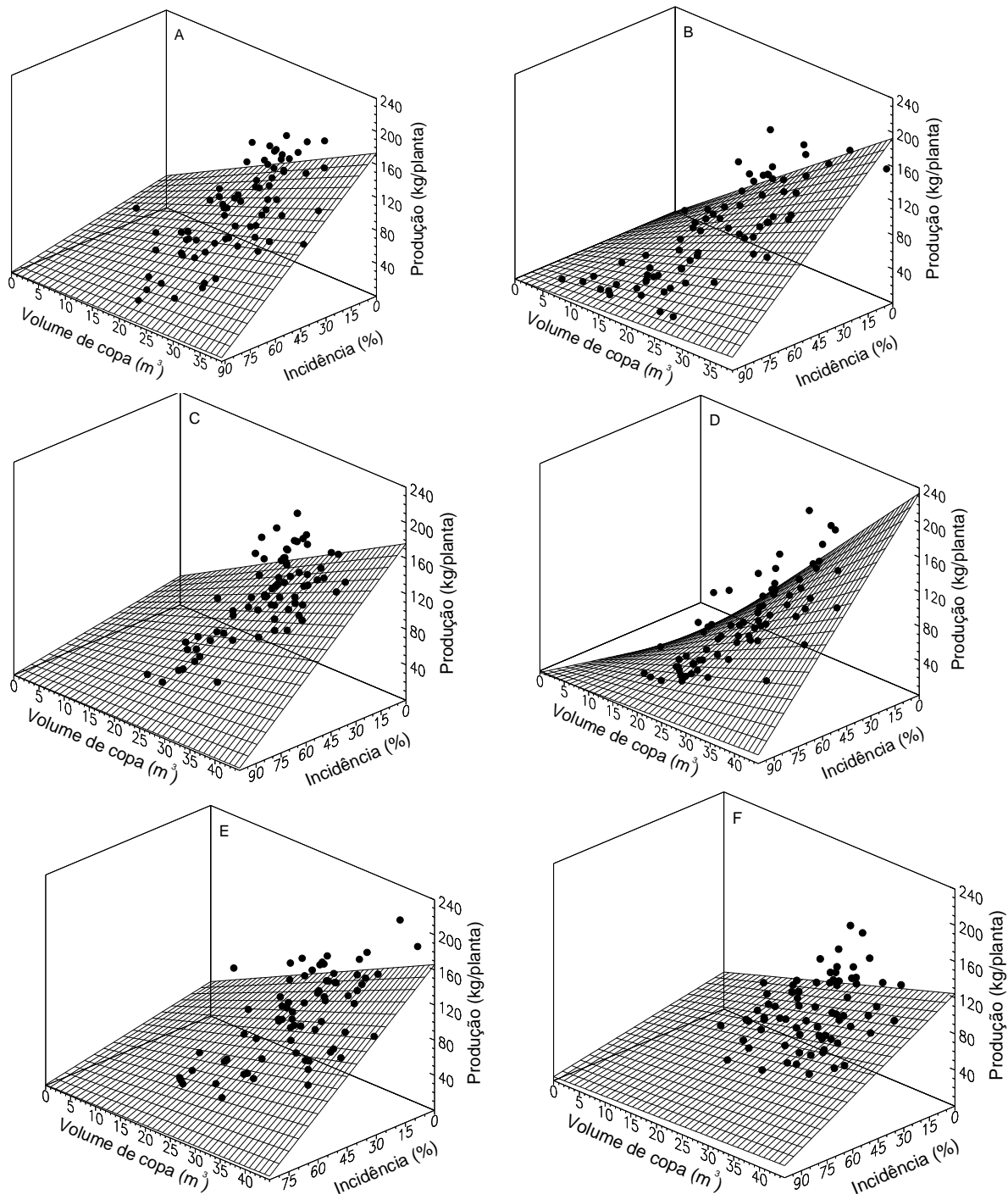


Figura 24 - Relação entre incidência de CVC (porcentagem de ramos sintomáticos), volume de copa (m³) e produção (kg de frutos assintomáticos/planta), descrita pela equação $[Y=(a+b1.V)*(1-b2.DI)]$, onde Y é a produção, V é o volume de copa e DI é a incidência de CVC] para os tratamentos: irrigação a 0 (A e B), 50 (C e D) e 100% (E e F) da ETC, combinados com inoculação natural (A, C e E) e artificial (B, D F) de *Xylella fastidiosa*, no período de 2006 a 2008

A última função de dano proposta relaciona através da equação exponencial negativa eq. (5), a produção (peso de frutos assintomáticos/planta) e AUDPC, obtida a partir da curva de progresso da incidência de CVC (Figura 25). Nessa equação todos os dados de todos os tratamentos são relacionados conjuntamente. O valor de R^2 obtido por essa equação foi de 0,66 a 1% de probabilidade (Figura 25). Segundo esse modelo, a partir de valor zero de AUDPC, um incremento de duas unidades de AUDPC reduziria em 27 Kg a produção de frutos sadios de uma planta. Já, um incremento de 12 unidades de AUDPC, a partir de ausência de doença, reduziria em 103 Kg a produção de frutos sadios por planta, considerando todos os tratamentos.

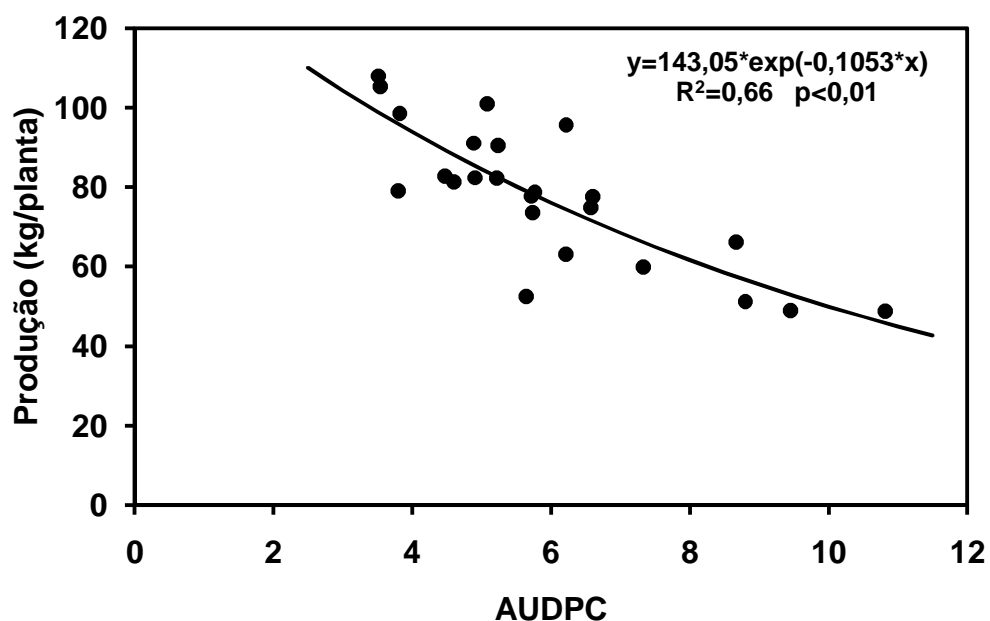


Figura 25 – Relação entre produção (kg de frutos sadios/planta) e área abaixo da curva do progresso da doença (AUDPC) CVC (% de ramos com sintomas/planta), considerando todos os tratamentos das safras 2006, 2007 e 2008. A linha representa a curva ajustada pelo modelo exponencial negativa

2.4 Discussão

O modelo monomolecular apresentou bom ajuste aos dados de incidência de ramos com CVC para todos os tratamentos. Esse modelo apresentou bons coeficientes de determinação (R^2) e valores de resíduos (incidência observada menos incidência prevista) próximos ao eixo zero, não mostrando qualquer tipo de tendência (Figura 3). Esses critérios (R^2 e valores de resíduos) são considerados como os mais importantes na escolha de um modelo (BERGAMIN FILHO, 1995; MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007). Entretanto, este resultado difere daqueles obtidos em outros estudos do crescimento temporal da CVC (GOTTWALD et al., 1993; LARANJEIRA, 1997; 2002; NUNES et al., 2006). Nesses estudos, não houve um modelo que predominasse para explicar o progresso da CVC no tempo. Há que se considerar, entretanto, que o intervalo de avaliação foi mais longo nesse trabalho que nos demais, e que a unidade amostrada aqui também diferiu daqueles trabalhos.

Gottwald et al. (1993) por exemplo, ajustaram o modelo de Gompertz aos dados da incidência da CVC, em pomares da região Noroeste do Estado de São Paulo; nesse estudo, a avaliação consistiu da presença ou ausência de sintomas na planta toda, realizada de forma anual por seis anos. Laranjeira (1997) estudou o progresso de incidência de plantas doentes em dois anos, em onze pomares da região Norte do Estado de São Paulo. Em todos os casos, as curvas de progresso seguiram o padrão sigmóide duplo, com maior taxa de progresso nos meses de primavera e verão e menor nos meses do outono inverno. Mais recentemente, o modelo logístico foi ajustado à incidência da CVC na região Noroeste do Estado do Paraná em três variedades de citros, mas nesse estudo foram realizadas apenas quatro avaliações num intervalo de oito meses e a unidade amostral foi a planta toda (NUNES et al., 2006). Contrariando a esses estudos, Laranjeira (2002) não pôde ajustar modelos conhecidos às curvas de progresso obtidas em pomares localizados nas regiões Noroeste e Central do Estado de São Paulo, mas ajustou o modelo duplo sigmóide para a região Sul. No Estudo de Laranjeira (2002) a unidade amostral também foi à planta toda e os intervalos de avaliações foram quinzenais. Todas essas diferenças para o mesmo patossistema pode ser função dos diferentes intervalos de tempo ocorridos entre as avaliações e/ou da unidade amostral. No presente estudo a unidade foi o ramo da planta, enquanto nos

estudos anteriores foi a planta toda. Por outro lado, essas diferenças evidenciam também o quanto a expressão dos sintomas dessa doença é influenciada pelo ambiente, particularmente estresse hídrico e temperatura.

O modelo monomolecular é sugerido como o ideal para ajuste de dados de doenças com período de incubação longo e variável, (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2002), como é o caso da CVC, para qual esse período oscila entre 6 a 14 meses em condições naturais. Esse modelo prediz que a velocidade de aumento da doença é proporcional ao inóculo inicial sob uma taxa de aumento da doença supostamente constante e positiva (BERGAMIN FILHO, 1995; MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007). Tomando como o exemplo o estudo em questão, quanto maior a incidência de ramos infectados com CVC, poucos ou menos ramos sadios restarão para a epidemia crescer.

O modelo monomolecular, como sugerido por Bergamin Filho e Amorim (2002) parece ser o mais adequado para avaliar o progresso poliético da CVC, apesar de ser uma doença policíclica. De acordo com Zadoks e Schein (1979), progresso poliético refere-se ao progresso de uma doença ao longo de vários anos, poliético é um neologismo grego que significa “sob muitos anos”. Uma epidemia poliética implica em acúmulo de inóculo de ano para ano na mesma área de cultivo. Além disso, progresso poliético é mais comum em doenças de culturas perenes, como mal do Panamá em bananeiras e ferrugem em pinheiros. Geralmente, nesses casos, a taxa de crescimento da doença é baixa (ZADOKS; SCHEIN, 1979). Alguns autores (NUTTER JUNIOR, 1997) relacionam modelo monomolecular com doença monocíclica, onde cada planta infectada não serve como fonte de inóculo para novas infecções no mesmo ciclo de cultivo. No entanto, isso nem sempre ocorre, de acordo com Pfender (1982) deve-se fazer distinção entre formato de curvas de progresso e a natureza do ciclo da doença. Pois, seria prematuro caracterizar uma doença como mono ou policíclica observando apenas o formato da curva de progresso da doença (PFENDER; 1982).

O ajuste dos dados da incidência de ramos com CVC no período de 2006 a 2008 segundo o modelo monomolecular, para todos os tratamentos, possibilitou a comparação dos parâmetros desse modelo entre os tratamentos. No entanto, a comparação ficou restrita apenas à comparação da quantidade máxima da doença (parâmetro $b1$) e do inóculo inicial (parâmetro y_0), uma vez que, a taxa não é um bom

parâmetro a ser comparado quando a assíntota é variável (MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007).

Dessa forma, as plantas irrigadas a 100% da ETc apresentaram significativamente menor valor de assíntota, comparadas às plantas sem irrigação ou irrigadas a 50% da ETc, quando inoculadas artificialmente (Tabela 1). O mesmo efeito da irrigação foi observado ao analisar a área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC). Resultados semelhantes foram encontrados no Mal de Pierce, onde plantas sem irrigação apresentaram maior incidência e severidade da doença, que plantas bem irrigadas, quando todas as plantas foram submetidas à inoculação artificial (THORNE et al., 2006). Em videira silvestre inoculada artificialmente, a maior severidade e propagação de *X. fastidiosa* foi associada a plantas em condições de déficit hídrico (MCELDRONE; SHERALD; FORSETH, 2001). Mais recentemente também foi observada correlação positiva entre severidade da doença e população de *X. fastidiosa* em plantas de videira submetidas ao déficit hídrico, mas essa correlação não foi observada em plantas bem irrigadas (CHOAT et al., 2009).

No presente estudo, não foi detectada diferença estatística, entre as assíntotas, dos diferentes tratamentos, quando a inoculação ocorreu de forma natural. Provavelmente, isso ocorreu em função do ajuste das curvas. A curva do progresso da doença do tratamento com irrigação a 100% (Figura 3E) apresenta assíntota clara, condizente com o modelo monomolecular, proporcionando um erro de ajuste baixo (0,04). Por outro lado, a curva do tratamento sem irrigação (Figuras 3A) ainda não está estabilizada, com tendência aumentar, o que levou a um erro maior no ajuste dessa curva. O elevado valor do erro impediu a constatação de diferença estatística pelo teste *t* entre os dois tratamentos. Talvez, com mais uma avaliação da incidência, seria observada diferença significativa entre os tratamentos. De acordo com Jesus Junior et al. (2004), a exploração gráfica deve ser incluída na análise de uma epidemia e informações importantes podem ser obtidas através dessa análise. Utilizando desse recurso, é possível observar ainda que a curva do progresso do tratamento irrigado a 100% da ETc combinado com inoculação natural (Figura 3F), estranhamente apresentou redução da intensidade da doença na última avaliação. Esse fato está associado ao grande número de brotações emitidas pelas plantas desse tratamento,

proporcionado pela irrigação. Assim, no momento das avaliações desses ramos novos não foram detectados sintomas visuais da doença fazendo com que a intensidade da doença diminuísse.

Foi possível observar também que a irrigação não interferiu na quantidade de inóculo inicial, ou seja, a irrigação não impediu o estabelecimento das infecções oriundas tanto de inoculações naturais como das artificiais, ao final de nove anos de experimento. Esse resultado era esperado em função do tempo decorrido desde a instalação do experimento e da ausência de controle dos insetos vetores na área. Além disso, foi comprovado que cigarrinhas vetoras tem nítida preferência por plantas que não estão sob estresse, tanto em condições controladas (PEREIRA et al., 2005) como em condições de campo (KRUGNER et al., 2009). A mesma explicação pode ser usada para justificar o fato da ausência de diferença estatística nos valores de assíntota entre os métodos de inoculação natural e artificial.

A observação das curvas de progresso da doença dos ramos superiores, medianos e inferiores ressaltam, ainda mais, o efeito da irrigação na redução da incidência de CVC em todos os setores da planta, principalmente no setor inferior (Figura 5). Observa-se ainda, um gradiente decrescente significativo de sintomas, em todos os tratamentos, da região superior para inferior da planta, corroborando, em parte, Feichtenberger et al. (2005), que descrevem que o início do sintomas da CVC preferencialmente ocorre na parte superior da planta. Pelo menos dois fatores devem estar associados à maior incidência da CVC nessa região da planta: maior número de vetores devido ao maior número de brotações, e maior temperatura nas folhas em função radiação solar direta. Se cigarrinhas têm nítida preferência por hastes e ramos que estão emitindo brotações (LOPES, 1999; MARRUCCI et al., 2004) maior quantidade de bactéria encontra-se nessa região, conseqüentemente, maior incidência da doença deve ser esperada nesse local, ao contrário de locais mais distantes dos pontos de infecção. Soma-se a isso, um estresse adicional proporcionado por temperaturas mais elevadas nos ramos da região superior da planta. Krugner et al. (2009) observaram que a temperatura das folhas de laranjeira 'Valência' são significativamente maiores nas plantas irrigadas a 60% da ETc que em plantas irrigadas a 100% da ETc. De acordo com Hopkins (1989), estresses adicionais como elevadas temperaturas e déficit hídrico

entres outros, favorecem o desenvolvimento de doenças provocadas por *X. fastidiosa*. Assim, os fatores aqui discutidos podem explicar a maior incidência da doença na parte superior da planta.

Além do efeito positivo na redução da incidência de CVC, a irrigação teve efeito positivo na redução da produção frutos com sintomas ($\varnothing < 50$ mm) da doença. Esse efeito é visualizado tanto na curva de progresso, construída a partir da proporção de frutos com sintomas, quanto no número de frutos sintomáticos produzido por planta. Ao analisar essa curva (Figura 15) pode-se notar que ambos os tratamentos com irrigação a 100% da ETc proporcionaram menor produção de frutos com sintomas de CVC. No entanto, o valor da assíntota foi significativamente inferior aos demais tratamentos, somente quando a irrigação a 100% da ETc foi combinada com inoculação artificial da *X. fastidiosa*. Por outro lado, o efeito da irrigação é mais pronunciado ainda, quando compara-se o número de frutos por planta, independentemente do método de inoculação. Nesse caso, as plantas dos tratamentos irrigados a 100% da ETc chegaram a produzir até 83% a menos de frutos com sintomas da doença quando comparado a plantas não irrigadas.

A significativa redução tanto na incidência, quanto na produção de frutos com sintomas de CVC, em função da irrigação, pode ser explicada, em parte, pelo estresse hídrico que plantas não irrigadas são submetidas. De acordo com Boyer (1995), plantas nessas condições apresentam redução na quantidade de fotoassimilados causada pela falta de água, impossibilitando assim a defesa da planta contra o fitopatógeno pela redução na síntese protéica. Somando-se a isso, o autor comenta que o crescimento da planta sob estresse hídrico é reduzido, sem, no entanto, ocorrer o mesmo com o patógeno, ocasionando assim o progresso da doença e da severidade no hospedeiro. Além disso, plantas sob estresse hídrico apresentam redução na condutividade hidráulica dos vasos do xilema, no potencial de água nas folhas, na taxa de fotossíntese (MCELTRONE; SHERALD; FORSETH, 2003). Assim, a maior incidência de CVC nas plantas sem irrigação deve ser resultado da ação conjunta dos efeitos deletérios do déficit hídrico e da colonização dos vasos do xilema pela *X. fastidiosa*. No caso do mal de Pierce da videira há vários exemplos (CHOAT et al., 2009; MCELTRONE; SHERALD; FORSETH, 2001; 2003; THORNE et al., 2006) mostrando

que o déficit hídrico aumenta a severidade e a incidência da doença. Para outra bactéria (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*) habitante do xilema de cana-de-açúcar parece ocorrer o mesmo, os sintomas da doença, podem ser aumentados ou mascarados em função da disponibilidade de água na planta (TOKESHI; RAGO, 2005). Em citros foi observado redução na atividade fotossintética em função da colonização dos vasos do xilema por *X. fastidiosa*, tanto em plantas irrigadas (HABERMANN et al., 2003), como em plantas sem irrigação (MACHADO et al., 2007), no último caso, os autores concluíram que o déficit hídrico aumenta gravidade dos sintomas fisiológicos nas plantas com CVC, quando comparado com planta irrigadas.

Os sintomas de *X. fastidiosa* nas plantas, na maioria das vezes (ALVES et al., 2004; MACHADO et al., 2006; 2007; NEWMAN et al. 2003; PURCELL; HOPKINS 1996), são atribuídos à oclusão dos vasos do xilema em decorrência da formação de polissacarídeos extracelulares (biofilme) produzidos pelas próprias bactérias. Por outro lado, trabalhos recentes (CHOAT et al., 2009; GAMBETTA et al., 2007; PÉREZ-DONOZO et al., 2007; THORNE et al., 2006) questionam essa teoria e associam a sintomatologia de *X. fastidiosa* à formação de gomas e tiloses sintetizados pela própria planta numa resposta de defesa sistêmica mediada por hormônios. Possivelmente, a maior incidência de CVC nas plantas sem irrigação, observada nesse estudo, foi resultado de uma ação conjunta do efeito negativo do déficit hídrico nas plantas e dos mecanismos de patogenicidade de *X. fastidiosa*. Cabe ainda ressaltar que ambos os mecanismos de patogenicidade da *X. fastidiosa* sugeridos seriam agravados em plantas sob estresse hídrico.

Em relação às variáveis relacionadas com o crescimento e desenvolvimento, que refletem o vigor da planta (altura de planta, diâmetro da copa e do tronco, índice de área foliar e volume de copa), todas responderam significativamente em relação à irrigação, principalmente ao nível 100% da ETc. Esse resultado era esperado, pois é comumente citado na literatura o aumento dessas variáveis com o uso da irrigação para a cultura do citros (CASTEL, 1993; FARIAS et al., 2003; ALVES JUNIOR et al., 2005). Entretanto, com exceção da variável diâmetro de copa, não foram observadas interações significativas entre os fatores níveis de irrigação e método de inoculação de *X. fastidiosa*. Os métodos de inoculação, artificial ou natural, que aqui representam a

infecção da bactéria na planta mais cedo ou mais tarde, nada interferiram na variável diâmetro de tronco. Nas demais houve redução significativa quando a bactéria foi inoculada de forma artificial. Porém, as diferenças observadas, aparentemente, têm pouca importância prática.

Embora a irrigação tenha proporcionado aumentos significativos dessas variáveis, apenas o volume de copa, apresentou correlação com a produção de frutos sem sintomas da CVC. Provavelmente, a correlação, embora pequena, observada nessa variável, deve-se ao fato de o cálculo do volume englobar outras duas variáveis (altura de planta e diâmetro de copa). Em plantas de citros sadias, alta correlação entre produção e volume de copa tem sido relatada (QUAGGIO et al., 2004; ZAMAN; SCHUMANN; HOSTLER, 2006). Por outro lado, Ye et al. (2008a) observaram baixa correlação ($R= 0,31$) entre produção e tamanho de copa (m^2) e concluíram que somente o tamanho da copa não é uma boa variável para estimar produção devido a alternância de produção que ocorre em citros, sugerindo o uso conjunto do índice vegetal da cultura com o tamanho da copa.

Os índices de área foliares (IAF) médios obtidos no presente estudo (2,7 a 2,9) considerando todos os tratamentos, foram próximos aos encontrados por Behlau (2006). Mesmo nas plantas com maior incidência de CVC, os valores de IAF pouco ou nada alteraram em relação às plantas com menor incidência (dados não apresentados). Talvez, isso tenha ocorrido pelo elevado volume de copa de todas as plantas, e por não ser uma característica marcante da CVC, a queda de folhas, para chegar a ponto de interferência significativa no valor do IAF. Nesse sentido, o trabalho de Li; Syvertsen e Dunlop (2006) ilustra bem o caso, os autores observaram que mesmo uma desfolha de 15% em plantas adultas (13 e 14 anos) de laranjeira 'Valência' e 'Hamlin' não resulta em mudança do valor do IAF. Assim, a CVC precisaria causar desfolha superior a 15% nas plantas para talvez apresentar redução no IAF.

Os dados de produção não mostram interação significativa entres os fatores níveis de irrigação e métodos de inoculação, possivelmente em função da grande variabilidade dos dados coletados planta a planta. Entretanto, de maneira geral, na maioria das safras, as plantas submetidas à irrigação 100% da ETc combinados com inoculação natural de *X. fastidiosa* tiveram maior produção (peso de frutos por planta),

principalmente nas safras iniciais. Provavelmente, isso foi reflexo principalmente da baixa quantidade de inóculo na planta, uma vez que, plantas do tratamento complementar (irrigação a 100% da ETc + inoculação artificial) não tiveram a mesma produção (Figura 13). De acordo com Bergamin Filho e Amorim (1996), uma epidemia tropical ou a gravidade da doença depende do inóculo inicial, seja qual for o patossistema. Para CVC isso ficou claro, comparando plantas inoculadas de forma natural e artificial, desconsiderando os níveis de irrigação. Assim, o efeito do atraso na infecção de *X. fastidiosa*, ou na menor quantidade de inóculo inicial, nas plantas inoculadas de forma natural, foi claramente evidenciado na produção total ao longo de oito safras (Figura 13). As plantas desse tratamento (inoculação natural) produziram na média um equivalente a oito toneladas por hectare a mais que plantas que receberam inoculação artificial. Isso comprova e justifica a importância do uso de muda sadia, prática que é lei no Estado de São Paulo. Cabe ressaltar que esse resultado é subestimado, pois as mudas que foram sadias ao campo foram plantadas ao lado de mudas inoculadas com *X. fastidiosa*. Assim, se duas áreas distintas fossem comparadas as diferenças nas produções seriam ainda maiores.

É possível observar que em 2005 a produção foi atípica, quando comparada às demais. Provavelmente, esse fato deveu-se a ausência de estresse hídrico no ano de 2004 (dados não apresentados). Nesse ano, com exceção do mês de agosto, todos os meses do inverno apresentaram precipitação acima da média. De acordo com Ribeiro; Machado e Brunini (2006) a produção de plantas cítricas é determinada primariamente pelo florescimento, e o estresse hídrico é a principal variável ambiental para indução do florescimento na região Norte do Estado de São Paulo.

Nas três últimas safras, agora considerando apenas produção de frutos assintomáticos, plantas irrigadas a 100% da ETc tiveram produção significativamente maior somente em uma delas, nas demais não houve diferença alguma. Embora a maioria dos estudos mostre aumento de produção com o uso da irrigação (FARIAS et al., 2003; LAURINDO, 2004) esses resultados nem sempre ocorrem (DUENHAS et al., 2002; SILVA et al., 2006;) além disso, nem sempre as maiores lâminas de irrigação proporcionaram os maiores aumento na produção (CALZAVARA et al., 2000; BERTONHA et al., 2004; KANBER et al., 1999). Já, o número médio de frutos

assintomáticos foi sempre maior nas plantas não irrigadas em relação às irrigadas a 100% da ETc. Mesmo com esse resultado, as plantas irrigadas a 100% da ETc tiveram a produção maior que as plantas não irrigadas, em duas das três safras estudadas. Palazzo e Carvalho (1992) observaram que plantas afetadas pela CVC produzem maior número de frutos que plantas saudáveis, mas para produção, em Kg/planta, ocorre o inverso. Assim, é possível concluir que as plantas do tratamento irrigado se aproximam mais de plantas saudáveis, quanto à produção, e provavelmente produziram frutos de maior tamanho e/ou qualidade que plantas não irrigadas. Porém, Duenhas et al. (2002) e Alves Junior (2006), não observaram melhora na qualidade do fruto com o uso de irrigação em diferentes níveis. Como observado, fica difícil comparações entre produções e ou qualidade de fruto de um trabalho para o outro, pois a resposta do citros depende de numerosos fatores como idade da planta, combinação copa porta-enxerto, tratamentos culturais, tipo de solo, tipo de irrigação, região de cultivo, estado fitossanitário do pomar entre outros (PIRES et al., 2005). Além disso, no presente estudo, a intensidade da CVC foi alta, diferente dos outros trabalhos, realizados em pomares em bom estado fitossanitário. Dessa forma, os resultados aqui observados são satisfatórios, principalmente, considerando que a alta intensidade da CVC afetou diretamente a produção das plantas em todos os tratamentos.

No presente estudo foram observadas todas as condições desejáveis, para estabelecer uma relação entre dano e doença (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007). Plantas sem sintomas visuais ao lado de plantas exibindo diferentes níveis de doença, inoculação tanto natural como artificial do patógeno, condução da cultura e colheita iguais às adotados pelos produtores, ao longo de pelo menos três anos. Assim, foram estabelecidas três relações entre doença e dano (Figuras 23, 24 e 25), duas pelo método da planta individual e uma utilizando a variável integral AUDPC. O modelo exponencial negativo foi utilizado para descrever a relação entre a produção e a incidência da doença, tanto para os dados de cada tratamento individualmente, como para o somatório de dados de todos os tratamentos. Esse modelo também foi utilizado para descrever a relação entre dano e severidade de Huanglongbing (HLB) em citros (BASSANEZI et al., 2008). De acordo com essa função, a redução na produção é proporcionalmente maior que o incremento na intensidade da

doença. Por outro lado, um resíduo na produção sempre será observado, mesmo que 100% dos ramos apresentem sintomas da doença. Isso ocorre porque a CVC, dificilmente mata a planta, e em condições naturais sempre será observada alguma produção. Como não houve diferença entre a taxa de redução da produção entre os tratamentos e apenas um dos cinco tratamentos apresentou diferença em relação ao parâmetro a (intercepto do eixo y) um único modelo ($y=114,067*\exp(-0,017555)*x$) pode ser usado para descrever a função de dano. A função obtida considerando todos os tratamentos prevê redução de 16% na produção por planta (frutos assintomáticos) quando a incidência de CVC nos ramos passa de 0 para 10% ($p<0,01$). Outros estudos já relacionaram intensidade de CVC com dano na produção (AYRES et al., 2001; PALLAZO, 1993). No entanto, nesses estudos os autores descreveram a quantidade média do dano, impossibilitando a comparação com o estudo presente. Além disso, nenhum deles utilizou algum modelo para descrever o dano provocado pela CVC, provavelmente em função da metodologia de avaliação da doença.

A relação doença-dano, com a função exponencial negativa, foi altamente significativa ($p<0,01$), no entanto, os coeficientes de determinação foram relativamente baixos ($R^2= 0,18$ a $0,60$). No estudo de dano causado pelo HLB em citros Bassanezi et al. (2008), utilizando o mesmo modelo, também observaram baixo coeficiente de determinação ($R^2= 0,33$) mesmo com relação altamente significativa ($p< 0,01$). Esse fato deve-se a grande variabilidade na produção nas plantas com a mesma quantidade de doença, mesmo naquelas que não apresentam sintomas. A variabilidade na produção já foi observada tanto em plantas com CVC (PALAZZO; CARVALHO, 1992) quanto com morte súbita dos citros (BASSANEZI et al., 2007). Além disso, alternância de produção em citros é comumente citado na literatura (YE et al., 2008a; 2008b), principalmente na fase adulta em variedades tardias (TAZIMA et al., 2008).

Na tentativa de ajustar um modelo que proporcionasse maiores coeficientes de determinação o modelo linear múltiplo foi utilizado. Esse modelo relaciona produção em função de duas variáveis, (doença e volume de copa) e talvez devido a isso, para todos os tratamentos foram observados coeficientes de determinação maiores quando comparados ao modelo exponencial. Entretanto, houve algumas diferenças significativas entres os tratamentos para o parâmetro da função relacionado ao volume

de copa (Tabela 12), o que em teoria dificulta o ajuste de um único modelo para todos os tratamentos. Uma função ideal que relacione dano e doença, nesse caso dano relacionado com doença e volume, teria que proporcionar o mesmo dano sob diferentes condições. Por outro lado, a taxa de aumento da doença foi praticamente a mesma em todos os tratamentos, já a diferença observada na taxa de aumento do volume entre os tratamentos parece não ter uma explicação biológica clara, uma vez que o tratamento irrigado a 50% da ETc apresentou a maior taxa diferindo significativamente do tratamento com irrigação a 100% da ETc, ambos inoculados artificialmente. Analisando essa função é possível observar que quanto maior a intensidade da doença e menor o volume de copa maior será o dano. Assim um aumento de 10% na incidência de CVC, proporciona redução na produção de frutos sadios que varia de 5 a 18 Kg planta, dependendo de cada tratamento, para um mesmo volume de copa. De forma inversa, ou seja, uma redução de 5 m³ no volume de copa, proporciona redução na ordem de 8 a 28 Kg planta, variando de acordo com o tratamento e mantendo-se fixo o valor da incidência. Quaggio et al. (2004) observaram que uma redução de 5m³ no volume de copa promove queda de 14,75 Kg por planta. No estudo presente, utilizando o modelo linear múltiplo e considerando 0% de incidência a redução média considerando todos os tratamentos seria de 18 Kg por planta. Como observado, os valores são próximos, entretanto, a variação entre os tratamentos é alta. Não foram encontrados na literatura estudos que relacionassem o dano a essas duas variáveis de forma conjunta em citros. Porém, modelos que utilizem duas variáveis independentes são mais comuns para plantas anuais (MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007), e nesses casos são relacionados períodos específicos de desenvolvimento que a planta é mais suscetível a infecção pelo patógeno, o que não é o caso da CVC.

A função de dano utilizando a variável integral área abaixo da curva do progresso da doença (AUDPC) como variável independente é comumente citada na literatura para diversos patossistemas, como por exemplo, trigo com manchas foliares (BHATHAL; LOUGHMAN; SPEIJERS, 2003), girassol com mancha de *Alternaria* (LEITE; AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2006), milho e *Helminthosporiose* comum (PERKINS; PEDERSEN, 1987). Porém, para citros não foram encontrados estudos utilizando essa variável para estimar dano. A relação entre AUDPC e produção de frutos assintomáticos também foi

descrita pelo modelo exponencial negativo, proporcionando bom ajuste ($R^2 = 0,66$) numa relação altamente significativa ($p < 0,01$). Outros autores (LEITE; AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2006), utilizaram AUDPC como variável independente nesse modelo, para estimar dano na produção da cultura do girassol e obtiveram bons ajustes ($R^2 = 0,60$ a $0,70$) para duas de três safras avaliadas. No presente estudo, de acordo com a função, considerando os dados de todos os tratamentos, na ausência da doença a produção estimada seria de 143,05 Kg/ por planta, superior a produção estimada (114 Kg/planta) utilizando como variável independente incidência de ramos com sintomas. Ainda conforme o modelo, um incremento, de duas unidades de AUDPC proporcionaria uma redução de 19% na produção de frutos assintomáticos por planta. Utilizando-se dessa variável é possível caracterizar o efeito acumulativo da doença na produção (MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007). Por outro lado, o principal inconveniente da utilização da AUDPC como variável independente é a dificuldade na obtenção de sua estimativa, que só poderá ser feita após diversas avaliações num longo período de tempo (LEITE; AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2006), o que inviabiliza uma rápida tomada de decisão em função do dano ocorrido. Esse problema não ocorre quando a avaliação é feita através da incidência de ramos com sintomas, nesse caso, a estimativa do dano pode ser feita desde o início do aparecimento da doença. Assim também é fundamental na estimativa de dano a metodologia empregada na avaliação da doença, tanto no sentido de facilidade quanto da subjetividade da avaliação.

A escala descritiva com quatro notas utilizada com frequência nas avaliações de CVC no campo (AYRES et al., 2001; FRANCO et al., 2008; SALVA; ROBERTO; CARLOS, 1995; SOUZA et al., 2006; STUCHI et al., 2004;), parece não ser a mais adequada para esse fim. Ela foi imprecisa e muito subjetiva, mostrando correlação inferior a 0,51 entre os três avaliadores, podendo levar a conclusões errôneas em relação à quantificação da doença. A escolha arbitrária da quantidade de doença é a maior desvantagem do uso de escalas descritivas na avaliação de doenças (MADDEN; HUGHES; BOSCH, 2007). Nesse aspecto, Shah e Madden (2004) comentam que as diferenças entre os valores de nota (por exemplo, 1 e 2) não são interpretáveis pelo menos no sentido quantitativo. Além disso, os métodos paramétricos de análises estatísticas baseados em média, como ANOVA, são inadequados para a avaliação

desses dados, necessitando, portanto, de avaliações não paramétricas (SHAH; MADDEN, 2004). No entanto, para outros patossistema, há casos de sucesso com o uso de escalas descritivas, como para a planta ornamental poinsetia (*Euphorbia pulcherrima* Wild), infectada com *Rhizoctonia solani* Kühn (KRAUSE; MADDEN; HOITINK, 2001) e tomate infectado com *Tomato mottle virus* (MURPRHY et al., 2000). Ao contrário da escala descritiva, a avaliação da incidência é de maior simplicidade e não é subjetiva (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Nesse sentido a incidência de ramos sintomáticos apresentou correlação acima de 0,80 entres os avaliadores. Porém esse método é mais trabalhoso quando comparado com a escala descritiva. Obviamente, a avaliação da incidência da CVC como foi realizada nesse estudo deve ser feita para fins de pesquisa. Já o uso da escala descritiva é cabível nas avaliações de áreas com grande número de plantas, como as realizadas pelo fundo de defesa da citricultura (Fundecitrus). Assim, os dois métodos de avaliação de doença podem ser bem empregados, dependendo do patossistema e dos objetivos em questão. Porém, a sugestão, para a padronização da quantificação da CVC, é o uso da incidência como variável, pelo menos para fins experimentais.

3 CONCLUSÕES

- A irrigação reduz significativamente os sintomas foliares e a quantidade de frutos com sintomas da CVC ($\varnothing < 50$ mm).
- Os sintomas foliares ocorrem predominantemente na parte superior da planta.
- A escala descritiva comumente utilizada na avaliação da CVC não permite quantificação precisa da doença. A incidência de ramos e de frutos sintomáticos representam a intensidade de CVC de forma mais precisa.
- Os parâmetros relacionados ao vigor não correlacionam-se com a produção das plantas.
- A redução na produção, ocasionada pela doença, é proporcionalmente maior que o aumento na intensidade dos sintomas e esta relação pode ser descrita pelo modelo exponencial negativo.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, E.; VILLALOBOS, W.; MOREIRA, L.; ROGRIGUEZ, C.M.; KITAJIMA, E.W.; RIVERA, C. First report of *Xylella fastidiosa* infecting citrus in Costa Rica. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 687, 2005.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; PALAZZO, D.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C.V.; TORRES, G.A.M. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 174-180, 1993.

AMORIM, L. Avaliação de doenças de plantas. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia** 3. ed. Piracicaba: Ceres, 1995. cap. 32, p. 647-671.

ALVES, E.; MARUCCI, C.R.; LOPES, J.R.S.; LEITE, B. Leaf symptoms on plum, coffee and citrus and the relationship with the extent of xylem vessels colonized by *Xylella fastidiosa*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, p. 291-297 2004.

ALVES, E.; LEITE, B.; PASCHOLATI, S.F.; ISHIDA, M.L.; ANDERSEN, P.C. *Citrus sinensis* leaf petiole and blade colonization by *Xylella fastidiosa*: details of xylem vessel occlusion. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 2, p. 218-224, 2009.

ALVES JÚNIOR, J.; SILVA, C.R.; RIBEIRO, R.V.; SILVA, T.J.A.; FOLEGATTI, M.V. Crescimento de plantas jovens de limeira ácida 'tahiti' sob lâminas de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p.170-178, 2005.

ALVES JÚNIOR, J. **Necessidade hídrica e resposta da cultura de lima-ácida 'Tahiti' a diferentes níveis de irrigação**. 2006. 100p. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

AYRES, A.J.; GIMENES-FERNANDES, N.; BARBOSA, J.C. Intensidade da clorose variegada dos citros no Estado de São Paulo e Sul do Triângulo Mineiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 27, p.189-197, 2001.

BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L.H.; AMORIM, L.; GASPAROTO, M.C.G.; BERGAMIN FILHO, A. Yield reduction caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. In: IOCV CONFERENCE, 18., 2008, Orlando. **Proceedings...** Orlando: International Organization of Citrus Virologists, 2008. p. 270-273.

BASSANEZI, R.B.; MONTESINO, L.H.; SANCHES, A.L.; SPÓSITO, M.B.; BARBOSA, J.C. Effect of citrus sudden death on yield and quality of sweet orange cultivars in Brazil. **Plant Disease**. Saint Paul, v. 91, p. 1407-1412, 2007.

BEHLAU, F. **Epidemiologia do cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) em laranja 'Pêra' (*Citrus sinensis*) sob condições de controle químico e cultural**. 2006. 100 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BERETTA, M.J.G.; DERRICK, K.S.; LEE, R.R.; LARANJEIRA, F.F. Observation on the spread of Citrus Variegated Chlorosis and Declinio/Blight in São Paulo State, Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, p. 866, 1994.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. Historia da fitopatologia. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. 3.ed. Piracicaba: Ceres, 1995. cap. 1, p. 2-12.

BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia** 3. ed. Piracicaba: Ceres, 1995. cap. 30, p. 602-626.

BERGAMIN FILHO, A.; LOPES, D.B.; AMORIM, L.; GODOY, C.V. Avaliação de danos causados por deonças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 3, p. 133-184, 1995.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1996. 289 p.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Doenças com período de incubação variável em função da fenologia do hospedeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, p. 561-565, 2002.

BERTONHA, A.; GONÇALVES, A.C.A.; PAULO SÉRGIO LOURENÇO DE FREITAS, P.C.L.; REZENDE, R. Resposta da laranjeira pêra em níveis de irrigação. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 185-191, 2004.

BHATHAL, J.S.; R. LOUGHMAN, R.; SPEIJERS, J. Yield reduction in wheat in relation to leaf disease from yellow (tan) spot and septoria nodorum blotch. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, p. 435–443, 2003.

BIERAS, A.R.; SANTOS, M.J Z. Variabilidade e tendência da precipitação pluviométrica anual e mensal do município de Bebedouro (SP), no período de 1983 a 2003. **Climatologia e Estudos da Paisagem**, Rio Claro, v. 1, p. 63-75, 2006.

BIERAS, A.R.; SANTOS, M.J Z. Comportamento climático e incidência do cancro cítrico, na cultura de citros, nos municípios de Limeira e Bebedouro (SP). **Estudos Geográficos**, Rio Claro, v. 1, n. 1, p. 41-53, 2003.

BI, J.L.; CASTLE, S.J.; TOSCANO N.C. Amino acid fluctuations in young and old orange trees and their influence on glassywinged sharpshooter (*Homalodisca vitripennis*) population densities. **Journal of Chemical Ecology**, Lexington, v. 33, p. 1692– 1706, 2007.

BOYER, J.S. Biochemical and biophysical aspects of water deficits and the predisposition to disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 251-274, 1995.

BOVÉ. J.M.; AYRES, AYRES, A.J. Etiology of three recente diseases of citrus in São Paulo State: Sudden Death, Variegated Chlorosis and Huanglongbing. **IUBMB Life**, Oxford, v. 59, n. 4/5, p. 346-354, 2007.

BRLANSKY, R.H.; DAVIS, C.L.; TIMMER, L.W.; HOWD, D.S.; CONTRERAS, J. Xylem limited bacteria in citrus from Argentina with symptoms of citrus variegated chlorosis. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81, n. 10, p. 1210, 1991.

CALZAVARA, S.A.; PEREIRA, O.C.N.; BERTONHA, A.; GONÇALVES, A.C.A. Número de frutos de laranja em função da frequência de irrigação complementar. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 4, p.1125-1128, 2000.

CARVALHO, S.A. A produção de mudas fiscalizadas e certificadas de citros. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 2, p. 8-10, 2004.

CASTEL, J.R. Response of young Clementine citrus trees to drip irrigation. **Acta Horticulturae**, Leuven , v. 335, p. 313-321, 1993.

COELHO, E.F.; MAGALHAES, A.F.de.J; COELHO FILHO, M.A. **Irrigação e Fertirrigação em Citros**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2004. 16p, (Circular Técnica, 72.)

CHOAT, B.; AMBETTA, G.A.; WADA, H.; SHACKLI, K.A.; MATTHEWS, M.A. The effects of Pierce's disease on leaf and petiole hydraulic conductance in *Vitis vinifera* cv. Chardonnay. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 136, p. 384–394, 2009.

COLETTA-FILHO, H.D. **Diversidade e estrutura genética de populações de *Xylella fastidiosa* analisadas através de RAPD e VNTR**. 2002... 88p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Instituto de biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

CHANG, C.J.; GARNIER, M.; ZREIK, L.; ROSSETI, V.; BOVÉ, J.M. Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. **Current Microbiology**, New York, v. 27, p. 137-142, 1993.

DOORENBOS, J.; PRUITT, W.O. **Necessidades hídricas das culturas**. Campina Grande: UFPB, 1997. 204p. (Estudos FAO: Irrigação e Drenagem.)

DUENHAS, L.H.; VILLAS BÔAS, R.L.; SOUZA, C.M.P.; RAGOZA, C.R.A.; BULL, L.T. Fertirrigação com diferentes doses de npk e seus efeitos sobre a produção e qualidade de frutos de laranja (*Citrus sinensis* O.) 'valência'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 214-218, 2002.

DUENHAS, L.H.; SAAD, J.C.C. Economic viability and selection of irrigation systems using simulation and stochastic dominance. **Irriga**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 422-430, 2009.

FARIAS, P.R.S.; NOCITI, L.A.S.; BARBOSA, J.C.; PERECIN, D. Agricultura de precisão: mapeamento da produtividade em pomares cítricos usando geoestatística. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 235-41, 2003.

FARIAS, P.R.S.; ROBERTO, S.R.; LOPES, J.R.S.; PERECIN, D. Geostatistical characterization of the spatial distribution of *Xylella fastidiosa* sharpshooter vectors on citrus. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 13-20, 2004.

FEICHTENBERGER, E.; BASSANEZI, R.B.; SPÓSITO, M.B.; BELASQUE JUNIOR, J. Doenças dos citros (*Citrus* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia**, 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. v. 4, cap. 28, p. 239-269.

FEIL, H.; PURCELL, A.H. Temperature-Dependent Growth and Survival of *Xylella fastidiosa* in Vitro and in Potted Grapevines. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 12, p. 1230-1234, 2001.

FEIL, H.; FEIL, W.S.; PURCELL, A.H. Effects of date of inoculation on the within-plant movement of *Xylella fastidiosa* and persistence of pierce's disease within field grapevines. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 93, n. 2, 2003.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In... REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45. , 2000, São Carlos **Anais...** São Carlos: SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO **Agrianual** 2010: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, 2010. 520 p.

FRANCO, D.; STUCHI, E.S.; SILVA, S.R.; MARTINS, A.B.G.; LARANJEIRA, F.F. Citrus variegated chlorosis damage assessment in six sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. In: IOCV CONFERENCE, 18., Orlando. **Proceedings...** Orlando: International Research Conference on Huanglongbing, Orlando, 2008. p. 391-392.

FRIZONE, Z.A. **Irrigação por aspersão**: uniformidade e eficiência. Piracicaba: ESALQ, DER, 1992. 53p. (Série didática, 3).

FUKUI, Y.; NAKANISHI, K.; OKAMURA, S. Computer evaluation of sprinkler irrigation uniformity. **Irrigation Science**, New York, v. 2, n. 1, p. 23-32, 1980.

FUNDECITRUS. **Fundo de Defesa da Citricultura**. 2009. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br>>. Acesso em: 20 dez. 2009.

FUNDECITRUS. **Manual de CVC**. Araraquara: Centro de Pesquisas Citrícolas, 2006, 11p.

GAMBETTA, G.A.; FEI, J.; ROST, T.L.; MATTHEWS, M.A. Leaf scorch symptoms are not correlated with bacterial populations during Pierce's Disease. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 4037-4046, 2007.

GARCIA JUNIOR, A.; LOPES, J.R.S.; BERETTA, M.J.G. Population survey of leafhopper vector of *Xylella fastidiosa* in citrus nurseries in Brazil. **Fruits**, Paris, v. 52, p. 371-374, 1997.

GRAVENA, S.; LOPES, J.R.S.; PAIVA, P.E.B.; YAMAMOTO, P.T.; ROBERTO, S.R. Os vetores da *Xylella fastidiosa*. In: DONADIO, L.C.; MOREIRA, C. S. (Ed.). **Clorose variegada dos citros**. Bebedouro: Fundecitrus, 1997. cap. 3, p.37-53.

GOTTWALD, T.R.; GIDTTI, F.B.; SANTOS, J.M.; CARVALHO, A.C. Preliminary spatial and temporal analysis of citrus variegated chlorosis (CVC) in São Paulo, Brazil. In: IOCV CONFERENCE, 12., 1993, Riverside. **Proceedings...**Riverside: International Organization of Citrus Virologists, 1993. p. 327-335.

HABERMANN, G.; MACHADO, E.C.; RODRIGUES, J.D.; MEDINA, C.L. CO₂ assimilation, photosynthetic light response curves, and water relations of 'Pêra' sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 15, n. 2, p. 79-87, 2003.

HOPKINS, D.L. *Xylella fastidiosa* - Xylem limited bacterial pathogen of plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, p. 271-290, 1989.

JAMES, W.C. Assessment of plant disease and losses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.12, p. 27-48, 1974.

KANBER, R.; KÖKSAL, H.; YAZAR, A. ÖZEKICI, B.; ÖNDER, S. Effects of different irrigation programs on fruit, trunk growth rates, quality and yield of grapefruit trees. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 23, p. 401-411, 1999.

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

KRAUSE, M.S.; MADDEN, L.V.; HOITINK, H.A.J. Effect of potting mix microbial carrying capacity on biological control of *Rhizoctonia damping-off* of radish and *Rhizoctonia crown and root rot* of poinsettia. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 11, p. 116-1123, 2001.

KRIVANEK, A.F.; WALKER, M.A. Vitis resistance to Pierce's disease is characterized by differential *Xylella fastidiosa* populations in stems and leaves. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, p. 44-52, 2005.

KRUGNER, R.; GROVES, R. L.; JOHNSON, M. W.; FLORES, A. P.; HAGLER, J. R.; MORSE, J. G. Seasonal Population Dynamics of *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae) in Sweet Orange Trees Maintained Under Continuous Deficit Irrigation. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 3, p. 960-973, 2009.

JESUS JUNIOR, W.C.; POZZA; E.A.; VALE, F.X.R.; MORA-AGUILERA, G. Análise temporal de epidemias. In: VALE, F.X.R.; JESUS JUNIOR, W.C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. cap. 4, p. 188-191.

LAI, 2000. Plant canopy analyzer, **Instruction Manual**. Nebraska: Lincoln, 1992 14p.

LARANJEIRA, F.F.; POMPEU JUNIOR, J.; HARAKAVA, R. Seleção de variedades resistentes e/ou tolerantes a clorose variegada dos citros (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 324, 1995. Suplemento.

LARANJEIRA, F.F. **Dinâmica Espacial e Temporal da Clorose Variegada dos Citros**. 1997. 144 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN-FILHO, A.; AMORIM, L.; BERGER, R. Aspectos práticos da epidemiologia da Clorose Variegada dos Citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 19, n. 1, p. 79-90, 1998a.

LARANJEIRA, F. F.; POMPEU JUNIOR, J.; HARAKAVA, R.; FIGUEIREDO, J.O.; CARVALHO, S. A. ; COLETTA FILHO, H D. Cultivares e espécies cítricas hospedeiras de *Xylella fastidiosa* em condição de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 147-154, 1998b.

LARANJEIRA, F.F; POMPEU JÚNIOR, J. Comportamento de quinze cultivares de laranja-doce afetadas pela clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 23, n. 2, p. 401-411, 2002.

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

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN-FILHO, A.; AMORIM, L.; BERGER, R.; GOTTWALD, T. R. Dinâmica Temporal da Clorose Variegada dos Citros em Três Regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 481- 488, 2003a.

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN-FILHO, A.; AMORIM, L.; LOPES, J.R.S. Comportamento sazonal da Clorose Variegada dos Citros em Três Regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 633- 641, 2003b.

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN-FILHO, A.B.; AMORIM, L.; GOTTWALD, T.R. Dinâmica Espacial da Clorose Variegada dos Citros em Três Regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 56-65, 2004.

LARANJEIRA, F.F. Quantificação de danos causados por doenças em citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v.27, n. 1, p. 131-146, 2006.

LARANJEIRA, F.F.; SILVA, L.G.; FONSECA, E.L.; SILVA, S.X.B.; ROCHA, J.B.; SANTOS-FILHO, H.P.; LEDO, C.A.S.; HAU, B. Prevalence, incidence and distribution of citrus variegated chlorosis in Bahia, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 33, n. 5, p. 339-347, 2008.

LAURINDO, V.T. **Resultados dos pomares citros irrigados**. 2004 Disponível em: http://www.gtacc.com.br/simposio/II_simposio/palestras/valerio.pdf. Acesso em 11 maio 2007.

LEDO, A.S.; LEDO, F.J.S.; RITZINGER, R., SOBRINHO, A.P.C. Porta-enxertos para laranjeiras-doces (*Citrus sinensis* (L.) Osb.), em Rio Branco, Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.7, p.1211-1216, 1999.

LEE, R.F.; BERETTA, M.J.G.; HARTUNG, J.H.; HOOKER, M.E.; DERRICK, K.S. Citrus variegated chlorosis: confirmation of a *Xylella fastidiosa* as the causal agent. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 19, n. 2, p.123-125, 1993.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO. Relationships of disease and leaf area variables with yield in the *Alternaria helianthi*-sunflower pathosystem. **Plant Pathology**, Oxford, v. 55, p. 73-81, 2006.

LI, K.T.; SYVERTSEN, J.P.; DUNLOP, J. Defoliation after harvest with a trunk shaker does not affect canopy light interception in orange trees. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v. 119, p. 187-189, 2006.

LI, W.; DONADIO, L.C.; HE, C.; SEMPIONATO, O.R. Método de avaliação de resistência à clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeiropolis, v. 17, n. 1, p. 41-54, 1996.

LI, W.; AYRES, A.J.; HE, C.X.; DONADIO, L.C. Susceptibility of tangerines to citrus variegated chlorosis. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 535, p. 253-258, 2000.

LOPES, D.B.; BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A. Absorção da área foliar sadia (HAA): uma nova abordagem para quantificação de dano e para o manejo integrado de doença. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 20, n. 3/4, p. 143-151, 1994.

LOPES, J.R.S. Estudo com vetores de *Xylella fastidiosa* e implicações no manejo da clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeiropolis, v. 20, n. 2, p. 329-344, 1999.

LOPES, J.R.S. Mecanismos de transmissão de *Xylella fastidiosa* por cigarrinhas. **Laranja**, Cordeiropolis, v. 17, n. 1, p. 79-92, 1996.

LOPES, S.A.; TEIXEIRA, D.C.; FERNANDES, N.G.; AYRES, A.J.; TORRES, S.C.Z.; BARBOSA, J.C. An experimental inoculation system to study citrus-*Xylella fastidiosa* interactions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 250-254, 2005.

MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F.; RIBEIRO, R.V.; MEDINA, C.L.; STUCHI, E.S.; MARIN, F.R.; SILVA, J.A.B.; SILVA, S.R. Fluxo de seiva e fotossíntese em laranja 'Natal' com clorose variegada dos citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 911-918, 2006.

MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F.; RIBEIRO, R.V.; MEDINA, C.L.; STUCHI, E.S.; PAVANI, L.C. Deficiência hídrica agrava os sintomas fisiológicos da Clorose Variegada dos Citros em laranja 'Natal'. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 3, p. 373-379, 2007.

MADDEN, L.V., HUGHES, G., VAN DEN BOSH, F. **The study of plant disease epidemics**. Saint Paul: APS Press, 2007. 421p.

MARUCCI, R.C.; LOPES, J.R.S.; VENDRAMIM, J.D.; CORRENTE, J.E. Feeding site preference of *Dilobopterus costalimai* Young and *Oncometopia facialis* (Signoret) (Hemiptera: Cicadellidae) on citrus plants. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v. 33, n. 6, p. 759-768, 2004.

MARUCCI, R.C.; LOPES, J.R.S.; VENDRAMIM, J.D.; CORRENTE, J.E. Influence of *Xylella fastidiosa* infection of citrus on host selection by leafhopper vectors. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 117, n. 2, p. 95-103, 2005.

MCELTRONE, A.J.; SHERALD, J.L.; FORSETH, I.N. Effects of water stress on symptomatology and growth of *Parthenocissus quinquefolia* infected by *Xylella fastidiosa*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 11, p. 1160-1164, 2001.

MCELTRONE, A.J.; SHERALD, J.L.; FORSETH, I.N. Interactive effects of water stress and xylem-limited bacterial infection on water relations of a host vine. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.54, p.419-430, 2003.

MCELTRONE, A.J.; FORSETH, I.N. Photosynthetic response of a temperate liana to *Xylella fastidiosa* infection and water stress. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.152, p.9-20, 2004.

MIRANDA, M. P.; VIOLA, D.N.; MARQUES, R.N.; BONANI, J.P.; JOÃO ROBERTO SPOTTI LOPES, J.R.S. Locais e período de alimentação da cigarrinha vetora de *Xylella fastidiosa*, *Bucephalogonia xanthophis* (berg) (hemiptera: cicadellidae), em mudas cítricas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 913-918, 2008.

MONTEIRO, C.A. de F. **Dinâmica climática e as chuvas no Estado de São Paulo** (estudo geográfico sob a forma de Atlas). São Paulo: Instituto de Geografia – USP, 1973.

MONTESINO, L.H.; COELHO, J.H.C.; FELIPPE, M.R.; YAMAMOTO, P.T. Ingestão de seiva do xilema de laranjeiras ‘pêra’ e ‘valência’ (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) sadias e infectadas por *Xylella fastidiosa*, pelas cigarrinhas vetoras *Oncometopia facialis* e *Dilobopterus costalimai* (Hemiptera: Cicadellidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, p. 199-204, 2006.

MURPHY, J.F.; ZEHNDER, G.W.; SCHUSTER, D.J.; SIKORA, E. J.; POLSTON, J. E.; KLOEPPER, J.W. Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against Tomato mottle virus. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 779-784, 2000.

NADEL, H.; SELIGMANN, R.; JOHNSON, M.W.; HAGLER, J.R.; STENGER, D.C.; GROVES, R. L. Effects of citrus and avocado irrigation and nitrogen-form soil amendment on host selection by adult glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 37, p. 787-795, 2008.

NEVES, M.F.; LOPES, F.F.; ROSSI, R.M.; MELO, P.A.O. **Metodologias de análise de cadeias agroindustriais: aplicação para citros**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 468-473, 2004.

NEWMAN, K.L; ALMEIDA, R.P.; PURCELL, A.H.; LINDOW, S.E. Use of a green fluorescent strain for analysis of *Xylella fastidiosa* colonization of *Vitis vinifera*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 7319-7327, 2003.

NUNES, W.M.C. **Epidemiologia da clorose variegada dos citros (CVC) avaliada por sintomas e diagnóstico serológico e molecular de *Xylella fastidiosa***. 1999. 144p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1999.

NUNES W.M.C.; ZANUTTO, C.A.; CORAZZA-NUNES, M.J.; MOLINA, R.O. Análise espaço-temporal da clorose variegada dos citros no Noroeste de Paraná, com uso de PCR para detecção de *Xylella fastidiosa*. **Acta Scientia Agronomica**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 421-425, 2006.

NUNES, W.M.C.; MOLINA, R.O.; ALBUQUERQUE, F.A.; CORAZZANUNES, M.J.; ZANUTTO, C.A.; MACHADO, M.A. Flutuação Populacional de Cigarrinhas Vetoras de *Xylella fastidiosa* Wells *et al.* em Pomares Comerciais de Citros no Noroeste do Paraná. **Neotropical Entomology**. Piracicaba, v. 36, n. 2, p. 254-260, 2007.

NUTTER JUNIOR, F.W. Quantifying the temporal dynamics of plant virus epidemics: a review. **Crop Protection**, Guildford, v. 17, p. 603-618, 1997.

NUTTER JR, F.W.; ESKER, P.D.; COELHO NETTO, R.A. Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 115, p. 95–103, 2006.

PALAZZO, D.A.; CARVALHO, M.L.V. Desenvolvimento e progresso da Clorose Variegada dos Citros (CVC) em pomares de Colina, SP. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 13, n. 2, p. 489-502, 1992.

PALAZZO, D. A. Estimativas de perdas de laranja Natal por clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 14, n. 1, p. 211-226, 1993.

PEREIRA, L.S.; ALLEN, R.G. Novas aproximações aos coeficientes culturais. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 16, n. 4, p. 118-43, 1997.

PEREIRA, É. F. **Estudos de fatores sazonais relacionados à transmissão de *Xylella fastidiosa* em pomares de citros**. 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

PEREIRA, É.F.; LOPES, J.R.S.; TURATI, D.T.; MUNHOZ, C.; CORRENTE, J.E. Influência das condições hídricas do solo e da temperatura na sobrevivência e alimentação de *Oncometopia facialis* (Hemiptera: Cicadellidae) em "seedlings" de citros. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 343-351, 2005.

PEREZ-DONOSO, A.G.; GREVE, L.C.; WALTON, J.H.; SHACKEL, K.A.; LABAVITCH, J.M. *Xylella fastidiosa* infection and ethylene exposure result in xylem and water movement disruption in grapevine shoots. **Plant Physiology**, Washington, v. 143, p. 1024-1036, 2007.

PERKINS, J.M.; PEDERSEN, W.L. Disease development and yield losses associated with northern leaf blight on corn. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, n. 10, p. 940-943, 1987.

PFENDER, W.F. Monocyclic and polycyclic root diseases: Distinguishing between the nature of the disease cycle and the shape of the disease progress curve. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, p. 31-32, 1982.

PIRES, R.C.M.; LUCHIARI, D.J.F.; ARRUDA, F.B.; MOSSAK, I. Irrigação. In: MATTOS JÚNIOR D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico; Fundag, 2005. cap. 13, p. 369-408.

POLTRONIERI, L.S.; CUNHA JR, J.O.; TRINDADE, D.R.; CARDOSO, S.; BRIOSO, P.S.T. Detecção molecular de *Xylella fastidiosa* no Estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 199, 2005.

POOLER, M.R.; HARTUNG, J.S. Specific PCR detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. **Current Microbiology**, New York, v. 31, p. 377-381, 1995.

PURCELL, A. H. Environmental therapy for Pierce's disease of grapevines. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 64, p. 388-390, 1980.

PURCELL, A.H.; HOPKINS, D.L. Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, p. 131-151, 1996.

QIN, X.T.; MIRANDA, V.S.; MACHADO, M.A.; LEMOS, E.G.M; HARTUNG, J.S. An evaluation of the genetic diversity of *Xylella fastidiosa* isolated from diseased citrus and coffee in São Paulo, Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 6, p. 599-605, 2001.

QUAGGIO, J.A.; MATTOS JÚNIOR, D.; CANTARELLA, H.; STUCHI, E.S.; SEMPIONATO, O.R. Sweet orange trees grafted on selected rootstocks fertilized with nitrogen, phosphorus and potassium. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.1, p. 55-60, 2004.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; BRUNINI, O. Ocorrência de condições ambientais para a indução do florescimento em laranjeiras no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, p. 247-253, 2006.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F. Blackwell Publishing, Ltd. Growth- and leaf-temperature effects on photosynthesis of sweet orange seedlings infected with *Xylella fastidiosa*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 53, p. 334-340, 2004.

ROBERTO, S.R.; COUTINHO, A.; LIMA, J.E.O.; MIRANDA, V.S.; CARLOS, E.F. Transmissão de *Xylella fastidiosa* pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*, *Acrogonia terminalis* e *Oncometopia fascialis* em citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 517-518, 1996.

ROBERTO, S.R.; YAMAMOTO, P.T.; Flutuação populacional e controle químico de cigarrinhas em citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 19, p. 269-284, 1998.

ROBERTO, S. R.; FARIAS, P. R. S.; BERGAMIN FILHO, A. Geostatistical analysis of spatial dynamics of citrus variegated chlorosis. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, p. 599-604, 2002.

ROSSETTI, V.; DE NEGRI, J.D. Clorose variegada dos citros – revisão. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 11, n. 1, p. 1-14, 1990.

ROSSETTI, V.; GARNIER, M.; BOVÉ, J.M.; BERETTA, M.J.G.; TEIXEIRA, A.R.; J.A.; GUAGGIO, J.A.; BATAGLIA, O.C.; M.P. GOMES, M.P.; DE NEGRI, J.D. Presence de bacteries dans le xyleme d'oranges atteints de chlorose variegée, une nouvelle maladie des agrumes au Brésil. **Comptes Rendus de Academie Sciences Paris**, Paris, v. 310, p. 345-499, 1990.

ROSSETTI, V.V. **Manual ilustrado de doenças dos citros**. Piracicaba: Fealq/Fundecitrus, 2001. 207p.

SALVA, R.A.; ROBERTO, S.R.; CARLOS, E.F. Situação da Clorose Variegada dos Citros no Estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 16, n. 2, p. 155-164, 1995.

SAMPAIO, J. **A guerra da citricultura**, 2008. Disponível em : <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=24512>>. Acesso em 10 jan. 2010.

SANTOS FILHO, H.P.; BARBOSA, C.J.; MATRANGOLO, W.J.R.; RIBEIRO, J.S.; MESISNER, P. E.; MIRANDA, M.P. Ocorrência da Clorose Variegada dos Citros (Cvc) no Estado da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 190, 1999.

SCHAAD, N.W.; POSTNIKOVA, E.; LACY, G.; Fatmi, Chang CJ. *Xylella fastidiosa* subspecies *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *Multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 27, p. 290-300, 2004.

SHAH, D.A.; MADDEN, L.V. Nonparametric analysis of ordinal data in designed factorial experiments. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, n. 1, p. 33-43, 2004.

SILVA, C.R.; ROCHA, F.J.; ALVES JR, J.; SILVA, T.J.A.; FOLEGATTI, M.V.; MASCHIO, R. Respostas de limeira ácida tahiti à suspensão da irrigação em diferentes períodos fenológicos. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 27, n. 2, p. 321-339, 2006.

SIMPSON, A.J.G.; REINACH, F.C.; ARRUDA, P.; ABREU, F.A.; M. ACENCIO, M.; ALVARENGA, R.; ALVES, L.M.C.; ARAYA, J.E.; BAIA, G.S.; BAPTISTA, C.S.; BARROS, M.H.; BONACCORSI, E.D.; BORDIN, S.; BOVE, J.M.; BRIONES, M.R.S.; BUENO, M.R.P.; CAMARGO, A.A.; CAMARGO, L. E. A.; CARRARO, D.M.; H. CARRER, H.; COLAUTO, N.B.; COLOMBO, C.; COSTA, F.F.; COSTA, M.C.R.; COSTA-NETO, C.M.; COUTINHO, L.L.; M. CRISTOFANI, M.; DIAS-NETO, E.; DOCENA, C.; EL-DORRY, H.; FACINCANI, A.P.; FERREIRA, A.J.S.; FERREIRA, V. C. A. ; FERRO, J.A.; FRAGA, J.S.; FRANÇA, S.C.; FRANCO, M.C.; FROHME, M.; FURLAN, L.R.; GARNIER, M.; GOLDMAN, G.H.; GOLDMAN, M.H.S.; GOMES, S.L.; GRUBER, A.; HO, P.L.; HOHEISEL, J.D.; JUNQUEIRA, M.L.; KEMPER, E.L.; KITAJIMA, J.P.; KRIEGER, J.E.; KURAMAE, E.E.; LAIGRET, F.; LAMBAIS, M.R.; LEITE, L. C. C.; LEMOS, E.G.M.; LEMOS, M.V.F.; LOPES, S.A.; LOPES, C.R.; MACHADO, J.A.; MACHADO, M.A.; MADEIRA, A. M. B. N.; MADEIRA, H. M. F.; MARINO, C.L.; MARQUES, M.V.; MARTINS, E.A.L.; MARTINS, E.M.F.; MATSUKUMA, A.Y.; MENCK, C.F.M.; MIRACCA, E.C.; MIYAKI, C.Y.; MONTEIRO-VITORELLO, C.B.; MOON, D.H.; NAGAI, M.A.; NASCIMENTO, A.L.T.O.; NETTO, L.E.S.; NHANI Jr, A.; NOBREGA, F.G.; NUNES, L.R.; OLIVEIRA, M.A.; DE OLIVEIRA, M.C.; DE OLIVEIRA, R.C.; PALMIERI, D.A.; PARIS, A.; PEIXOTO, B.R.; PEREIRA, G.A.G.; PEREIRA JR, H.A.; PESQUERO, J.B.; QUAGGIO, R.B.; ROBERTO, P.G.; V. RODRIGUES, V.; ROSA, A.J. de M; ROSA Jr, V.E.; de SÁ, R.G.; SANTELLI, R.V.; SAWASAKI, H.E.; da SILVA, A.C.R.; da SILVA, A.M.; da SILVA, F.R.; W. A. SILVA Jr, W.A.; da SILVEIRA, J.F.; SILVESTRI, M. L.Z.; SIQUEIRA, W.J.; de SOUZA, A.A.; de SOUZA, A.P.; TERENCEZI, M.F.; D. TRUFFI, D.; TSAI, S.M.; TSUHAKO, M.H.; H. VALLADA, H.; VAN SLUYS, M.A.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; VETTORE, A.L.; ZAGO, M.A.; ZATZ, M.; MEIDANIS, J.; SETUBAL, J.C. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Nature**, London, v. 406, p. 151- 157, 2000.

SEGNANA, L.R. et al. First report of *Xylella fastidiosa* causing citrus variegated chlorosis (CVC) in Paraguay. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 216, 1998.

SOUZA, P.S.; GOES, A.; STUCHI, E.S.; GONZÁLEZ, E.P.; WICKERT, J.E.; SILVA, S.R.; DONADIO, L.C. Reação de variedades e clones de laranjas a *Xylella fastidiosa*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p.144-147, 2006.

STUCHI, E.S.; DONADIO, L.C.; SEMPIONATO, O.R.; PERECIN, D. Produtividade e qualidade dos frutos da laranjeira ‘pêra’ clone iac em 16 porta-enxertos na região de Bebedouro-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 359-362, 2004.

TAZIMA, Z.H.; AULER, P.A.M.; NEVES, C.S.V.J.; YADA, I.F.U.; LEITE JUNIOR, R.P. Comportamento de clones de laranja ‘valência’ na região norte do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 970-974, 2008.

THORNE, E. T.; STEVENSON, J.F.; ROST, T.L.; JONH, LABAVITCH, J.M.; MATTHEWS, M.A. Pierce's Disease Symptoms: Comparison with Symptoms of Water Deficit and the Impact of Water Deficits. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 57, n. 1, 2006.

TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da cana-de-açúcar. In: KIMATI, H., AMORIN, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**, 4. Ed. São Paulo: Ceres, 2005. cap. 21, v. 4, p. 185-196.

TUBELIS, A.; PRATES, H.S.; MATTOS, M.A.N.; MALAVOLTA, E. Perdas de produção causadas pela clorose variegada dos citros em micropropriedades da DIRA, de São José do Rio Preto. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 14, n.1, p. 227-238, 1993.

USDA - **United States Department of Agriculture**. 2009. Disponível em: http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/CITRUS%20ANNUAL_Sao%20Paulo%20ATO_Brazil_12-15-2009.pdf. Acesso em: 10 jan. 2010.

VALE, F.X.; JESUS JUNIOR.; W.C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004, p. 127-191.

VESCOVE, H.V. **Consumo e custo de energia elétrica na cultura de citros irrigada por gotejamento e microaspersão, com três lâminas de água**. 2009. 56p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2009.

VESCOVE, H.V. **Resposta em produtividade em citros irrigado**. Disponível em: <http://www.agrofit.com.br/portal/templates/netfit/html/artigos/Respostas%20em%20produtividade%20em%20citros%20irrigado.pdf> > Acesso em: dez. 2008.

WAGGONER, P.E.; BERGER, R.D. Defoliation, disease and growth. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, p. 393-398, 1987.

WELLS, J.M.; RAJU, B.C.; HUNG, H.Y.; WEISBURG, W.G.; MANDELCO-PAUL, L.; BRENNER, D.J. *Xylella fastidiosa* new-genus, new-species, Gram-negative xylem-limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas spp*. **International Journal Systematic Bacteriology**, Praga, v. 37, n. 2, p.1 36-143, 1987.

YAMAMOTO, P.T.; ROBERTO, S.R.; PRIA JR, W.D.; FELIPPE, M.R.; MIRANDA, V.S.; TEIXEIRA, D.; LOPES, J.R.S. Transmissão de *Xylella fastidiosa* por cigarrinhas *Acrogonia virescens* E *Homalodisca ignorata* (Hemiptera:Cicadellidae) em plantas cítricas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p.178-181, 2002.

YAMAMOTO, P.T.; LOPES, J.R.S. Cigarrinhas na proliferação da clorose variegada dos citros. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 2, p. 60-63, 2004.

YAMAMOTO, P.T.; FELIPPE, M.R.; CAETANO, A.C.; SANCHES, A.L.; LOPES, J.R.S. First report of *Fingeriana dubia* Cavichioli transmitting *Xylella fastidiosa* to citrus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, p.266, 2007.

YE, X.; SAKAI, K.; ASADA, S.; SASAO, A. Application of narrow-band TBVI in estimating fruit yield in citrus. **Biosystems Engineering**, London, v. 99, p. 179-189, 2008a

YE, X.; SAKAI, K.; SASAO, A.; ASADA, S. Potential of airborne hyperspectral imagery to estimate fruit yield in citrus. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 90, p. 132-144, 2008b.

ZADOKS, J.C. On the conceptual basis of crop loss assessment: the threshold theory: **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 455-473, 1985.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and Plant Disease Management**.Oxford: Oxford University Press, 1979. 427p.

ZAMAN, Q.U.; SCHUMANN, A.W.; HOSTLER, H.K. Estimation of citrus fruit yield using ultrasonically-sensed tree size. **Applied Engineering in Agriculture**, St. Joseph, v. 20, n. 1, p. 39-44, 2006.

ZANINI, J.R.; PAVANI, L.C. Irrigação em citros. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL CITROS: tratos culturais, 5., 1998. Bebedouro. **Anais...**Campinas: Fundação Cargill, 1998. p. 409-442.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)