

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIEL MARTINS FERREIRA

**ANÁLISE ESPAÇO-TEMPORAL DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA
NAS PRINCIPAIS REGIÕES PRODUTORAS DOS ESTADOS DE SÃO PAULO E
PARANÁ**

CURITIBA

2016

GABRIEL MARTINS FERREIRA

**ANÁLISE ESPAÇO-TEMPORAL DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA
NAS PRINCIPAIS REGIÕES PRODUTORAS DOS ESTADOS DE SÃO PAULO E
PARANÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Louise Larissa May De Mío
Co-orientador: Paulo Justiniano Ribeiro Junior

CURITIBA

2016

F383 Ferreira, Gabriel Martins

Análise espaço-temporal da escaldadura foliar da ameixeira nas principais regiões produtoras dos estados de São Paulo e Paraná. Gabriel Martins Ferreira. / Curitiba: 2016.

80 f. il.

Orientadora: Louise Larissa May De Mio
Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

1. Ameixa - Cultivo. 2. Ameixa – Doenças e pragas.
3. Fitopatologia. I. May De Mio, Louise Larissa. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 632:634.22



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL

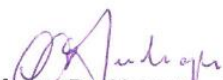


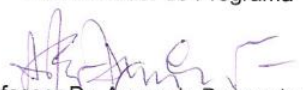
PARECER

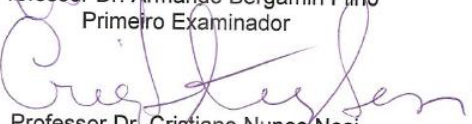
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pelo candidato **GABRIEL MARTINS FERREIRA**, sob o título **“ANÁLISE ESPAÇO-TEMPORAL DA ESCALDADURA DAS FOLHAS DA AMEIXEIRA NAS PRINCIPAIS REGIÕES PRODUTORAS DE SÃO PAULO E PARANÁ”**, para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

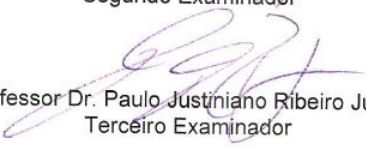
Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Tese.


Curitiba, 19 de Agosto de 2016.


Professor Dr. Cícero Deschamps
Coordenador do Programa


Professor Dr. Armando Bergamin Filho
Primeiro Examinador


Professor Dr. Cristiano Nunes Nesi
Segundo Examinador


Professor Dr. Paulo Justiniano Ribeiro Júnior
Terceiro Examinador


Professor Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte
Quarto Examinador


Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Presidente da Banca e Orientadora

AGRADECIMENTOS

Ao colega Renato Rezende Young Blood pela iniciativa do trabalho, início das avaliações e redação do pré-projeto.

Aos proprietários e funcionários das áreas experimentais pela cessão do espaço e pela colaboração.

A todos os professores, colaboradores, estagiários, colegas de curso, colegas de laboratório e técnicos que contribuíram de alguma forma, mesmo que só com a convivência para a realização deste trabalho.

À professora Maristella Dalla Pria pelo apoio e iniciativa da parte burocrática do projeto.

À professora Louise Larissa May De Mio pela oportunidade e pela confiança para realização do doutorado.

À minha família e esposa pelo apoio e companheirismo de sempre.

À Fundação Araucária como financiadora dos primeiros anos da pesquisa.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

A fruticultura é uma atividade econômica importante do ponto de vista social nas regiões onde é desempenhada, por gerar renda a todos os estratos da sociedade, devido a participação dos produtores que a exercem, aos comerciantes de insumos, técnicos, agrônomos e principalmente trabalhadores rurais, diante da forte exigência de mão de obra ao longo de todo ciclo. Os Estados de São Paulo e Paraná se destacam dentro desta atividade como importantes produtores de frutas, e por serem Estados populosos e por isso importantes consumidores. Neste universo, o cultivo de ameixeiras ainda se mostra incipiente apesar de seu grande potencial mercadológico, devido principalmente a problemas fitossanitários, dos quais se destaca a Escaldadura Foliar da Ameixeira (EFA). Com o objetivo de compreender o avanço espaço-temporal de EFA, visando nortear futuras estratégias de controle, foram avaliados quanto a incidência três pomares de ameixeiras no Estado de São Paulo no período de três a quatro anos (2000 a 2004), e quatro pomares no Estado do Paraná por períodos de três a seis anos (2010 a 2015) quanto à incidência e severidade. Foram utilizados métodos estatísticos e descritivos de análise espacial, sendo utilizados em um primeiro momento aos dados de São Paulo: Suavização por kernel, índice de dispersão binomial, lei de Taylor modificada, função K de Ripley, método da distância mínima média e modelo autologístico. Nos dados de EFA avaliados no Paraná foram usados os seguintes métodos: Suavização por Kernel, Distância Mínima Média e Modelo autologístico. Como resultados, no Estado de São Paulo, apesar de alguma variabilidade nas respostas dos métodos que utilizavam divisões artificiais das áreas de estudo (quadrats), padrões agregados foram detectados por diferentes métodos, exceto para as avaliações com incidência inferior a 10%. O modelo autologístico selecionado mostrava aumento de probabilidade da ocorrência de vizinhas a partir de plantas infectadas na mesma linha de plantio no mesmo momento da avaliação, enquanto que os efeitos entre as linhas foram detectadas apenas para as maiores incidências. Conclusões semelhantes ao que verificou-se no Paraná, onde havia prevalência da agregação de EFA, com início aleatório da epidemia pelos métodos estatísticos testados, ainda que com padrão de início pelas bordas dos pomares pela análise descritiva e também maior probabilidade de aumento em plantas de uma mesma linha de plantio, apresentando avanço da epidemia muito em função de infecções secundárias. Concluiu-se que EFA apresenta padrão espacial agregado quanto à incidência, com avanço da epidemia semelhante nos diferentes pomares avaliados, indicando que os resultados deste estudo podem possibilitar boa eficiência no planejamento do controle químico e cultural de vetores e de manejo das plantas com sintomas.

Palavras-chave: *Prunus salicina*, Manejo Integrado de Doenças, *Xylella fastidiosa*.

ABSTRACT

The fructiculture is an important economic activity from the social point of view in the regions where it is performed, to generate income not only to producers who exercise and inputs traders, but also requiring manpower over the cycle, employing rural workers, technicians and agronomists, thus generating income for all segments of society in places that exploit. The states of São Paulo and Paraná stand out within this activity as important producers, and because they are populous states, as well as important states consumers of fruit. In this context, the plum trees growing still shows low exploration despite its large market potential, mainly due to disease problems faced long time ago, among which the Plum Leaf Scald (PLS). In order to understand the EFA spatiotemporal pattern, aiming to develop future control strategies were evaluated for the incidence three plum orchards in the state of São Paulo in the period from three to four years (2000-2004), and four orchards in Paraná State for periods from three to six years (2010-2015) by the incidence and severity. To these data were used descriptive and statistical methods of spatial analysis, being used at first the data of São Paulo: smoothing by kernel, binomial dispersion index, Taylor modified power law, K Ripley's function, average distance method and autologistic model, selecting those easier to understand and also using the EFA data assessed in Paraná, the following methods: Smoothing by Kernel, Average distance method and autologistic model. As results, the state of São Paulo, aggregated patterns were detected by different methods except for evaluations with lower incidence to 10%. The autologistic model selected has consistently shown an increased risk of incidence with the occurrence of infected neighbourhood on the same row at the same time of the evaluation, while the effects of the rows were detected only to the highest incidences. Conclusions similar to that were found in Paraná, where was observed prevalence of EFA aggregation with random beginning of the epidemic by statistical methods tested, though with start pattern by the edges of orchards by descriptive analysis and also more likely to increase in plant of the same rows, with spread of the epidemic much due to secondary infections. It was concluded that the EFA has spatial pattern, which probably allows good efficiency of chemical and cultural methods of control vectors and management of symptomatic plants based on the site that it occurs.

Key-words: *Prunus salicina*, Diseases Integrated Management, *Xylella fastidiosa*.

LISTA DE FIGURAS

2 REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1. EVOLUÇÃO DOS SINTOMAS DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA CAUSADA POR <i>Xylella fastidiosa</i>	19
--	----

3 SPATIAL ANALYSIS OF PLUM LEAF SCALD IN SÃO PAULO STATE, BRAZIL

FIGURE 1. MAPS OF THE INTENSITY OF PLUM LEAF SCALD INCIDENCE IN FOUR YEARS OF EVALUATIONS, BY KERNEL SMOOTHING METHOD.	48
FIGURE 2. FREQUENCY OF AVERAGE MINIMUM DISTANCES BETWEEN PLANTS AND ITS NEIGHBOORS WITH PLUM LEAF SCALD SYMPTOMS, MEAN OBSERVED SHOWED BY THE VERTICAL SINGLE LINE AND THEORICAL FREQUENCIES BY THE BARS.....	49
FIGURE 3. RIPLEY'S K FUNCTION FITTED TO PLUM LEAF SCALD INCIDENCE DATA IN ORCHARD 1. THE DASHED LINE INDICATES THE FUNCTION'S CONFIDENCE ENVELOPE. VALUES WITHIN THIS RANGE INDICATE RANDOMNESS AND VALUES ABOVE IT INDICATE AGGREGATION.....	50

4 EPIDEMIOLOGIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM POMARES NO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

FIGURA 1. CARACTERIZAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DAS PLANTAS (PONTOS) E DO ENTORNO DOS POMARES DE QUATRO MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL. ESCALAS DOS GRÁFICOS EM METROS, COM PLANTAS EM UMA MESMA LINHA NO EIXO "Y" E DIFERENTES LINHAS DE PLAN.....	72
FIGURA 2. PORCENTAGENS DE INCIDÊNCIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM POMARES COMERCIAIS SITUADOS EM QUATRO	

	MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.	73
FIGURA 3.	MAPAS DE DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA INCIDÊNCIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM QUATRO MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.	74
FIGURA 4.	MAPAS DE INCIDÊNCIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA PELO MÉTODO DA SUAVIZAÇÃO POR KERNEL, EM QUATRO POMARES SITUADOS EM QUATRO DIFERENTES MUNICÍPIOS NA PORÇÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL.	75
FIGURA 5.	FREQUÊNCIAS DE PLANTAS NAS DIFERENTES NOTAS DE SEVERIDADES DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM PORCENTAGENS, EM QUATRO POMARES SITUADOS EM QUATRO DIFERENTES MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL. AVALIAÇÃO REALIZADA EM MARÇO DE 2015.	76
FIGURA 6.	FREQUÊNCIAS DAS DISTÂNCIAS MÍNIMAS MÉDIAS ENTRE PLANTAS COM SINTOMAS DE ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA, EM POMARES SITUADOS EM QUATRO DIFERENTES MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.	77
FIGURA 7.	NÚMERO DE CIGARRINHAS MÉDIO EM DUAS ALTURAS, BAIXO (0,5 M DO SOLO) E ALTO (1,9 M DO SOLO) EM POMARES SITUADOS EM QUATRO MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.	78

LISTA DE TABELAS

3 SPATIAL ANALYSIS OF PLUM LEAF SCALD IN SÃO PAULO STATE, BRAZIL

TABLE 1. DESCRIPTION OF COMMERCIAL PLUM ORCHARDS ASSESSED ABOUT THEIR SPATIAL DISTRIBUTION OF PLUM LEAF SCALD, IN THE MUNICIPALITY OF PARANAPANEMA, SÃO PAULO STATE, BRAZIL.....	45
TABLE 2. DIFERENT PARAMETRIZATIONS TESTED OF THE AUTOLOGISTIC MODEL CONSIDERING TEMPORAL AND SPATIAL COVARIATES ASSESSING INCIDENCE OF PLUM LEAF SCALD, CAUSED BY XYLELLA FASTIDIOSA.....	45
TABLE 3. BINOMIAL DISPERSION INDEX OF PLANTS WITH PLUM LEAF SCALD SYMPTOMS CAUSED BY XYLELLA FASTIDIOSA FOR DIFFERENT COMBINATIONS OF QUADRATS SIZES. MUNICIPALITY OF PARANAPANEMA, SÃO PAULO STATE, BRAZIL.....	46
TABLE 4. PARAMETERS ESTIMATED BY FITTING THE DATA OF PLUM LEAF SCALD INCIDENCE TO THE AUTOLOGISTIC MODEL ON FOUR PARAMETERIZATIONS. MUNICIPALITY OF PARANAPANEMA, SÃO PAULO STATE, BRAZIL.	47

4 EPIDEMIOLOGIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM POMARES NO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS DOS POMARES AVALIADOS QUANTO À DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA, POMARES EM QUATRO MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.	68
TABELA 2. PARÂMETROS ESTIMADOS PELO AJUSTE DO MODELO AUTOLOGÍSTICO AOS DADOS DE INCIDÊNCIA DE ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA, SOB QUATRO PARAMETRIZAÇÕES, EM QUATRO MUNICÍPIOS DA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.....	69

TABELA 3. MÉDIAS DE CIGARRINHAS POR ANO SAFRA, MÊS DE COLETA, PROPRIEDADE E ALTURA DA ARMADILHA, MONITORAMENTO REALIZADO POR 3 ANOS EM QUATRO MUNICÍPIOS NA REGIÃO LESTE DO ESTADO DO PARANÁ, REGIÃO SUL DO BRASIL..... 71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	O CULTIVO DA AMEIXEIRA	16
2.2	ESCALDADURA DAS FOLHAS DE AMEIXEIRA (EFA)	17
2.2.1	Etiologia e sintomatologia da EFA.....	18
2.2.2	Epidemiologia da EFA	20
2.3	ANÁLISE ESPACIAL E TEMPORAL DE DOENÇAS DE PLANTAS	22
2.3.1	Análise temporal e espacial da Escaldadura Foliar da Ameixeira	24
2.4	REFERÊNCIAS	26
3	SPATIAL ANALYSIS OF PLUM LEAF SCALD IN SÃO PAULO STATE, BRAZIL.....	32
	ABSTRACT¹	32
	RESUMO	33
3.1	INTRODUCTION.....	34
3.2	MATERIALS AND METHODS	36
3.2.1	Study area description.....	36
3.2.2	Data analysis.....	36
3.3	RESULTS	38
3.4	DISCUSSION	39
3.5	REFERENCES.....	42
4	EPIDEMIOLOGIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM POMARES NO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL¹	51
	RESUMO	51
	ABSTRACT	52
4.1	INTRODUÇÃO	53
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	55
4.2.1	Descrição das áreas experimentais	55
4.2.2	Avaliações de incidência e severidade de EFA	55
4.2.3	Análise espacial de EFA	56
4.2.4	Monitoramento de cigarrinhas	57
4.3	RESULTADOS.....	58

4.4	DISCUSSÃO	60
4.5	REFERÊNCIAS	64
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

A ameixeira pertence à família *Rosaceae*, à subfamília *Prunoideae* e ao gênero *Prunus*, que compreende mais de 20 espécies (WEINBERGER, 1975). Esta frutífera é cultivada sob diversas condições climáticas, em virtude das espécies existentes e do resultado de hibridações ocorridas ao longo do desenvolvimento da cultura, com plantios espalhados por todo o Hemisfério Norte, com exceção de zonas onde o calor dos trópicos ou o frio da Zona Polar são obstáculos ao seu desenvolvimento (CASTRO; NAKASU; PEREIRA, 2008). Dados da produção mundial de ameixas projetavam colheita de 115,9 milhões de toneladas, cultivadas em 2,66 milhões de hectares (Food and Agriculture Organization - FAO, 2013).

No Brasil a maior parte das cultivares produzidas pertencem à espécie *Prunus salicina* (Lindl), destacando-se a Amarelinha, América, Irati, Gulf Blaze, Letícia, Pluma 7, Santa Rosa, Reubennel e Harry Pickstone (MULLER, 2008). O último levantamento nacional de área plantada e produção de ameixeiras foi realizado em 2006, com área plantada projetada em 2.657 hectares, resultando em uma colheita naquele ano de 56.308 toneladas. A região Sul do país era a maior produtora nacional, compreendendo 56,9% da área cultivada (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2006). Há relatos de que a Região Sudeste já foi a maior produtora nacional, porém problemas fitossanitários reduziram a exploração da cultura naquela região (ALVARENGA *et al.*, 2007). No Paraná, levantamento mais recente realizado em 2013 indicou que a produção de ameixas compreendia uma área de 760 hectares, com produção de 12,3 mil toneladas (Departamento de Economia Rural - DERAL/ Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná - SEAB-PR, 2015).

A importação brasileira de ameixas em 2015 foi de 31.516 toneladas, mantendo a média dos últimos três anos em 32.000 toneladas. Neste ano, São Paulo foi o maior estado importador com 18.843 toneladas (Secretaria de Comércio Exterior - SECEX, 2016). Isso caracteriza um mercado deficitário, indicando bom potencial de exploração à cultura no Brasil (EIDAM, PAVANELLO, AYUB, 2012), já que zoneamento agroclimático mostra que as ameixeiras (*Prunus salicina* e seus híbridos) são frutíferas adaptadas às diferentes condições climáticas encontradas no Sul e Sudeste do Brasil (ALFONSI *et al.*, 2009).

O principal limitante ao longo dos anos da expansão da cultura no país vem sendo a Escaldadura Foliar da Ameixeira (EFA), doença causada pela bactéria gram negativa *Xylella fastidiosa* (Wells) que se desenvolve e habita os vasos de xilema dos ramos, raízes e folhas (WELLS *et al.*, 1987). Os sintomas clássicos de EFA são clorose na região apical das folhas, prolongando-se pelas bordas das mesmas. As regiões afetadas tornam-se necróticas e os

sintomas avançam para o interior do limbo. As áreas necróticas assumem uma cor acinzentada ou marrom-escuro conferindo aos ramos infectados o aspecto de queima, daí o nome “escaldadura”. Com o passar do tempo as folhas sintomáticas, secam totalmente e caem (DUCROQUET; ANDRADE; HICKEL, 2001; MULLER, 2008). Dentre as hospedeiras de *X.fastidiosa* estão listadas 309 espécies vegetais em 63 famílias, porém a maioria destas espécies não desenvolvem a doença, conferindo alguma especificidade quanto à patogenicidade, apesar de servirem como fonte de inóculo (ALMEIDA; NUNNEY, 2015; EFSA, 2015).

Os principais agentes de transmissão do patógeno são insetos pertencentes à subordem Homoptera, família Cicadellidae. Popularmente conhecidos como cigarrinhas, estes insetos sugam a seiva das plantas diretamente dos vasos do xilema, transmitindo propágulos da bactéria de planta a planta. O tipo de transmissão é do tipo semi-persistente e não circulativa, já que os vetores não possuem propágulos da bactéria logo após a aquisição, porém esta coloniza o aparelho bucal dos insetos em poucos dias, tornando-os novamente infectivos. A eficiência desta transmissão varia quanto às espécies (vetores e hospedeiros) entre 0 e 50% para a maioria das interações, mas pode chegar até a 100% (REDAK *et al.*, 2004).

Destaca-se também o plantio de material vegetativo doente, que pode levar a doença a longas distâncias, cruzando fronteiras de estados e países, caso não passe por inspeção quarentenária (Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI, 2009; JANSE; OBRADOVIC, 2010). Como exemplo desta forma de transmissão em longas distâncias tem-se a EFA no Brasil, com genótipos pertencentes à subespécie *multiplex*, subespécie comum na América do Norte, indicando provável introdução via material doente como forma de sua origem (ALMEIDA; RETCHLESS, 2013) e mais recentemente a introdução de *X. fastidiosa* na Itália em oliveiras, carvalho e amendoeiras (SAPONARI *et al.*, 2013), sendo que não havia relatos de doenças causadas pela bactéria no continente europeu. Outra forma de transmissão foi relatada por Krell *et al.* (2007) que verificaram 5% de eficiência na transmissão do patógeno por tesouras de poda em videiras. Esta eficiência pode ser considerada baixa, porém presente, o contrário do que concluíram Laranjeira *et al.* (2004) na cultura do citrus. A influência de tratamentos culturais na disseminação da bactéria em alguns patossistemas ainda permanece desconhecido e é uma lacuna para futuros estudos.

Não há manejo químico ou mesmo cultural recomendado para EFA, sendo apenas preconizados métodos empíricos baseados em exemplos de monitoramento de vetores em outras culturas, ainda que sem eficiência comprovada para ameixeira (MULLER, 2013). Entre

as estratégias clássicas de manejo integrado que poderiam ser recomendadas, destacam-se o plantio de mudas sadias, o monitoramento a campo, a erradicação de material contaminado, evitar implantar áreas comerciais próximas de áreas infectadas e a busca pelo controle dos vetores (ANDRADE, 1995). A partir da década de 90, o surgimento de cultivares que se mantêm produtivas por mais tempo com a doença tem possibilitado a extensão da vida útil dos pomares, permitindo que os agricultores convivam com o problema em algumas regiões. Entretanto, há exigência de maior conhecimento para nortear o manejo mais eficiente no pomar, incluindo adubação equilibrada, disponibilidade hídrica, retirada de material doente e principalmente, controle dos insetos vetores (DALBÓ; FELDBERG, 2009), dentre outros que envolvam estudos epidemiológicos sobre o patossistema.

O padrão espacial em fitopatologia denota a distribuição de plantas doentes, umas em relação às outras e à arquitetura do hospedeiro (GILLIGAN, 1982). Nos estudos epidemiológicos a distribuição espacial de uma doença no campo é dividida didaticamente em três tipos de padrões: regular, aleatório e agregado. Em doenças de plantas, os arranjos aleatórios e agregados são mais comumente observados, sendo rara a presença de arranjos regulares, já que por definição isso significaria que as plantas doentes teriam de estar em iguais distâncias entre si, algo que somente ocorre em caso de altas incidências. A distribuição agregada de uma doença indica que há uma correlação entre indivíduos sintomáticos, ou seja, há uma alta probabilidade de que indivíduos sintomáticos estejam próximos uns dos outros. No caso da aleatoriedade, as plantas tem igual probabilidade de se tornarem doentes, sendo assim pouco influenciadas pela distância com relação às fontes de inóculo (MADDEN *et al.*, 2007; SPOSITO *et al.*, 2007).

As análises espaciais de doenças de plantas buscam encontrar padrões que conduzam a inferências sobre as características da epidemia, e o desenvolvimento de hipóteses sobre fatores ambientais e biológicos para a associação entre propágulos de patógenos e plantas doentes (MADDEN *et al.*, 2007), podendo servir como ferramenta para a compreensão do avanço da epidemia e assim nortear com embasamento científico estratégias de controle.

Este trabalho tem como justificativas a viabilidade mercadológica e climática do cultivo da ameixa no país, sendo necessária a geração de conhecimento da doença uma vez que EFA é o principal entrave à expansão do cultivo de ameixeiras no Brasil, particularmente em dois grandes potenciais estados produtores: o Estado de São Paulo e o Estado do Paraná. O objetivo geral do trabalho é gerar conhecimento sobre o avanço espaço-temporal das epidemias de EFA para nortear a elaboração de estratégias de controle. Para tanto, o primeiro capítulo teve como objetivos: i) caracterizar a dinâmica espacial da doença em pomares

comerciais de ameixeiras cultivadas em clima subtropical do Estado de São Paulo. O segundo capítulo utilizou os métodos de análise que geraram melhor compreensão da epidemia de EFA em São Paulo para analisar a epidemia no Paraná, com acréscimo de informações dos potenciais vetores (*Cicadellidae*, *Cicadellinae*) e considerando seu avanço temporal, objetivando caracterizar a dinâmica espaço-temporal da doença em pomares comerciais de ameixeiras cultivadas na região e em um maior tempo de avaliação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.10 CULTIVO DA AMEIXEIRA

A ameixeira pertence à família *Rosaceae*, à subfamília *Prunoidae* e ao gênero *Prunus*, que compreende mais de 20 espécies (WEINBERGER, 1975). A diplóide *Prunus salicina* Lindl. ($2n=16$), conhecida como ameixa japonesa, originária do Extremo Oriente e a hexaplóide *Prunus domestica* L. ($2n=48$), também conhecida como ameixa européia, originária do Cáucaso, da Turquia e da Pérsia são as principais espécies cultivadas (CASTRO; NAKASU; PEREIRA, 2008). A maior parte das cultivares produzidas no Brasil pertence à espécie *Prunus salicina*, destacando-se a Amarelinha, América, Irati, Gulf Blaze, Letícia, Pluma 7, Santa Rosa, Reubennel e Harry Pickstone (MULLER, 2008).

Esta frutífera é cultivada em diferentes condições climáticas, por todo o Hemisfério Norte, com exceção de zonas onde o elevado calor dos trópicos ou o extremo frio da Zona Polar são obstáculos ao seu desenvolvimento (CASTRO; NAKASU; PEREIRA, 2008). A produção mundial de ameixas está estimada em 115,9 milhões de toneladas, cultivadas em 2,66 milhões de hectares (FAO, 2013). No Brasil, o último levantamento de produção nacional de ameixeiras foi realizado em 2006, com a área plantada projetada em 2.657 hectares e colheita de 56.308 toneladas (IBGE, 2006). A região Sul do país era a maior produtora nacional, compreendendo 56,9% da área cultivada (IBGE, 2006), cabendo destaque ao fato de que a Região Sudeste foi na década 70 e parte de 80 a maior produtora nacional, perdendo este *status* por problemas fitossanitários (ALVARENGA *et al.*, 2007). No Paraná, levantamento realizado em 2013 indicou que a produção de ameixas compreendia uma área de 760 hectares, com produção de 12,3 mil toneladas naquela safra (DERAL/SEAB-PR, 2015).

A importação brasileira de ameixas em 2015 foi de 31.516 toneladas, mantendo a média dos últimos três anos em 32.000 toneladas. O maior estado importador em 2015 foi São Paulo com impressionantes 18.843 toneladas no ano, seguido por Santa Catarina, outro potencial Estado produtor, com 2.895 toneladas. Ainda sobre as importações, destaque aos 48% de origem chilena e 43,2% de origem espanhola, um país com alto custo logístico de envio ao mercado brasileiro (SECEX, 2016). As importações caracterizam um mercado deficitário, indicando bom potencial de exploração à cultura no Brasil (EIDAM, PAVANELLO, AYUB, 2012).

Apesar de as ameixeiras (*Prunus salicina* e seus híbridos) serem frutíferas de clima temperado e plenamente adaptadas às condições do Sul e Sudeste do Brasil (ALFONSI *et al.*, 2009), ainda há necessidade de novas variedades para superação das limitações ao avanço dessa cultura (GRELLMANN *et al.*, 2008). Neste contexto se inserem pesquisas para lançamento de novas cultivares, ou adaptação das já utilizadas em determinadas regiões, como exemplos destes observamos: o lançamento de duas cultivares resistentes à EFA (Camila e Piuna), que apresentaram posteriormente problemas de rachamento de frutos e tiveram que ser retiradas do mercado. Trabalho com o lançamento da cultivar América Tardia testada no Rio Grande do Sul; o teste de novas seleções e cultivares para expansão da produção na Serra da Mantiqueira-SP; a avaliação dos entraves às cultivares no Sul do país e a avaliação de cultivares em diferentes regiões produtoras (DUCROQUET; DALBÓ, 2007; GRELLMAN *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2011; SIMONETTO *et al.*, 2013; FIORAVANÇO; ALVES; CARDOSO, 2015)

2.2. ESCALDADURA DAS FOLHAS DE AMEIXEIRA (EFA)

No Brasil a EFA foi primeiramente identificada em ameixeiras a partir de material coletado no município de Cascata Estado do Rio Grande do Sul em 1978. Entretanto na época foi atribuída a um organismo semelhante às riquetsias, provavelmente sendo introduzida a partir do Delta do Rio Paraná na Argentina, onde já era conhecida desde 1935 (FRENCH; KITAJIMA, 1978; LOPES *et al.*, 2003). Na década de 70 a doença foi responsável pela erradicação de pomares do Rio Grande do Sul até o Paraná (EIDAM; PAVANELLO; AYUB, 2012), bem como em Minas Gerais, que chegou a ser o principal estado produtor nacional naquele período (ALVARENGA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A partir da década de 90, o surgimento de cultivares que se mantêm produtivas por mais tempo mesmo infectadas tem possibilitado a extensão da vida útil dos pomares, permitindo que os agricultores convivam com o problema em algumas regiões. Entretanto, há exigência de maiores investigações para nortear o manejo mais eficiente no pomar, incluindo adubação equilibrada, disponibilidade hídrica, retirada de material doente, e principalmente, controle dos insetos vetores (DALBÓ; FELDBERG, 2009).

2.2.1 Etiologia e sintomatologia da EFA

A EFA é causada pela bactéria gram negativa *Xylella fastidiosa* (Wells) (*Xanthomonadales: Xanthomonadaceae*), que se desenvolve restrita nos vasos do xilema de ramos, raízes e folhas. Quanto às principais características morfológicas e biológicas destacam-se: forma de bastonete reto e ligeiramente curvo, 3-5 µm de comprimento por 0,3-0,5 µm de diâmetro, não móvel (atríquio), estritamente aeróbia e que somente cresce em meios especiais, pois exigem vários aminoácidos, micronutrientes e macronutrientes para garantir o desenvolvimento pleno (WELLS *et al.*, 1987). As colônias em meios artificiais, a 26-28°C e pH entre 6,5 e 6,9, apresentam-se lisas ou rugosas, opalescentes e circulares, e são capazes de hidrolisar gelatina e utilizar hipurato, não fermentam glicose, apresentam reação negativa para os testes de indol, H₂S, β-galactosidade, lípase amilase, coagulase e fosfatase, a maioria das estirpes produz β-galactamase (HOLT, 1994).

Esta bactéria é habitante dos vasos de xilema de várias espécies de plantas com interesse econômico, como videira, pessegueiro, amendoeira, ameixeira, carvalho, amoreira, citrus e cafeeiro (HARTUNG *et al.*, 1994). Por muito tempo *X. fastidiosa* foi uma espécie causadora de doenças em várias espécies de plantas apenas no continente americano, com relatos ainda não devidamente confirmados de organismos semelhantes encontrados em Taiwan, no Irã e Turquia. Porém, a recente confirmação da introdução de *X. fastidiosa* na Itália em oliveiras, carvalho e amendoeiras representou uma mudança importante na distribuição geográfica do patógeno (GULDUR *et al.*, 2005; SAPONARI *et al.*, 2013; SU *et al.*, 2013; AMANIFAR *et al.*, 2014; ALMEIDA; NUNNEY, 2015).

Esta espécie apresenta certa diversidade filogenética, com cinco subespécies conhecidas atualmente, sendo elas: *fastidiosa*, *pauca*, *multiplex*, *sandyi* e *morus*, estando estas relacionadas à sua localização geográfica. A subespécie *morus* foi recentemente proposta, ainda não sendo aceita por toda a comunidade científica. Isolados relacionados à EFA no Brasil pertencem à subespécie *multiplex*, sendo o único caso desta subespécie na América do Sul, indicando provável introdução de material doente como forma de origem (ALMEIDA; RETCHLESS, 2013).

O sintoma clássico de EFA é a clorose na região apical das folhas, prolongando-se pelas bordas das mesmas. As regiões afetadas tornam-se necróticas e os sintomas avançam para o interior do limbo. As áreas necróticas assumem uma cor acinzentada ou marrom-escura conferindo aos ramos infectados o aspecto de queima, daí o nome “escaldadura”. Com o passar do tempo (FIGURA 1A), as folhas sintomáticas secam totalmente e caem (FIGURA

1B), causando até a morte da planta (FIGURA 1C) (DUCROQUET; ANDRADE; HICKEL, 2001; MULLER, 2008). A visualização de sintomas da doença geralmente ocorre após vários meses de incubação da bactéria, quando a mesma aumenta sua população e se distribui sistemicamente na planta (MCGAHA *et al.*, 2007). Em resposta à aglomeração de propágulos da bactéria dentro dos vasos a planta produz tiloses e gomas, com a união destes fatores impedindo o fluxo de seiva pelo xilema (MOLLENHAUER; HOPKINS, 1976; FRY; MILHOLLAND, 1990).

Considerando a distribuição sazonal de *X. fastidiosa*, em cafezais, no período de seca, a média da proporção de obstrução dos vasos é maior do que no período chuvoso em ramos com e sem sintoma externo o que prova que o estresse hídrico maximiza a obstrução dos vasos do xilema aumentando os sintomas externos. Estudos realizados em cafeeiros mostraram que o órgão que apresenta maior obstrução de elementos de vaso de xilema, no período de seca é o caule, seguido do pecíolo, limbo foliar e raiz (QUEIROZ-VOLTAN; CABRAL; PARADELA FILHO, 2004). Em doenças causadas por esta espécie há um gradiente decrescente da intensidade dos sintomas da base para o ápice de folhas, sendo que para ameixeiras e cafeeiros, quanto mais intenso o sintoma foliar maior é a concentração de vasos colonizados nos pecíolos (ALVES, 2004).



FIGURA 1. EVOLUÇÃO DOS SINTOMAS DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA CAUSADA POR *Xylella fastidiosa*. INICIALMENTE EM FOLHAS (A), SECA DOS RAMOS (B) E POSTERIOR MORTE DA PLANTA (C) DE AMEIXEIRA *Prunus salicina*. FOTOS: FERREIRA, G.M., 2016.

2.2.2 Epidemiologia da EFA

Não existe manejo químico ou mesmo cultural bem estabelecido para recomendação no controle de EFA. Diante disso, as medidas de prevenção se mostram mais eficientes no manejo desta doença, destacando-se a aquisição de mudas sadias, monitoramento a campo de plantas doentes e vetores, erradicação de material vegetal com sintomas, evitar a implantação de pomares próximos a áreas infectadas e a busca pelo controle efetivo dos vetores (ANDRADE, 1995; DALBÓ *et al.*, 2009).

As mudas doentes podem levar a doença a longas distâncias, cruzando fronteiras de estados e países, caso não passem por inspeção quarentenária. Assim, borbulhas para enxerto e mudas contaminadas, salvo novos estudos que comprovem o contrário, seriam as únicas formas de introdução da doença em regiões novas no cultivo de ameixeiras livres da escaldadura (CATI, 2009).

Ao todo 62,5% das amostras coletadas em viveiros na Região Serrana do Rio Grande do Sul mostraram resultados positivos quanto à presença de patógenos que causam degenerescência e/ou morte de plantas de ameixas (incluindo *X. fastidiosa*) destacando-se entre as localidades nas quais foram realizados levantamentos em viveiros nos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Pelotas-RS, Região Serrana-RS, Videira-SC e São Joaquim-SC). Os autores realizaram levantamento também em pomares nas mesmas regiões, observando o maior número de pomares com amostras positivas também na região Serrana do Rio Grande do Sul, com 52,7%, confirmando assim a importância das mudas na disseminação da doença, e seu provável efeito na distribuição espacial da doença a campo (CASTRO; NAKASU; PEREIRA, 2008).

Diversas espécies de cigarrinhas (Cicadellidae) sugam a seiva das plantas diretamente dos vasos do xilema, caracterizando-se como a principal forma de disseminação da bactéria nos diferentes hospedeiros (REDAK *et al.*, 2004). A grande capacidade de transmitir a bactéria que algumas espécies de cigarrinhas possuem, faz deste inseto uma praga de importância significativa para a cultura da ameixeira (MULLER, 2008).

A transmissão nos patossistema relacionados à *X. fastidiosa* é do tipo semi-persistente e não circulativa, já que os vetores não possuem propágulos da bactéria logo após a aquisição, porém esta coloniza o aparelho bucal dos insetos em poucos dias, tornando-os novamente infectivos. A eficiência desta transmissão varia quanto às espécies (vetores e hospedeiros) entre 0 e 50% para a maioria das interações, ainda que podendo chegar até a 100% (REDAK *et al.*, 2004).

No Meio-Oeste catarinense foram encontradas 112 espécies de Cicadellidae após 2 anos de coleta, sendo que destas, pelo menos 10 espécies apresentaram resultado positivo quanto à presença da bactéria segundo confirmação pelo teste de ELISA (HICKEL *et al.*, 2001).

Em pomares de ameixeira nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul foram encontradas 10 e 27 espécies de cicadélídeos respectivamente. Quanto à sazonalidade de ocorrência das espécies, observou-se janeiro a março no Rio Grande do Sul e outubro a janeiro em São Paulo como meses predominantes. Neste trabalho não foram realizados testes serológicos para detecção da bactéria nas espécies amostradas (MULLER, 2008).

Em contrapartida, Schneider *et al.* (2016) encontraram 8 espécies diferentes de cigarrinhas em monitoramento realizado por uma safra em pomar comercial no Estado de São Paulo, porém indicando o mês de julho como o de maior presença do vetor. Todos os autores acima observaram maior porcentagem na menor altura de coleta (0,5m distante do solo), portanto mais próxima às plantas espontâneas e os meses mais secos como os de maior frequência.

Duas décadas atrás, Hill e Purcell (1995) concluíram que 29 famílias botânicas foram hospedeiras da bactéria. Um estudo mais recente listou 309 espécies vegetais em 63 famílias como hospedeiros de *X. fastidiosa*, porém a maioria destas espécies não desenvolvem a doença, conferindo alguma especificidade quanto à patogenicidade, apesar de servirem de fonte de inóculo (ALMEIDA; NUNNEY, 2015; EFSA, 2015).

Teste em espécies de plantas espontâneas inoculadas mecanicamente com isolado de *X. fastidiosa* oriundo de ameixeiras mostrou que em 10 espécies testadas apenas 2 espécies (*Brachiaria plantaginea* e *Echinochloa crus-galli*) mostraram a presença da bactéria após 60 dias de inoculação. Isolados oriundos de laranjeira e cafeeiro mostraram 70 e 45% de eficiência respectivamente. Isso mostra que estas espécies podem ser também fontes de inóculo à doença em períodos sem o tecido verde da cultura, devendo ser considerado o manejo de plantas espontâneas no controle da doença (LOPES *et al.*, 2003).

Além destas formas mais aceitas, Krell *et al.* (2007) verificaram 5% de eficiência na transmissão do patógeno por tesouras de poda em videiras, considerada baixa, porém presente, o contrário do que muitos pesquisadores sinalizam, podendo os tratos culturais servirem também como fonte de disseminação de *X. fastidiosa* em alguns patossistemas. Na região metropolitana de Curitiba-PR, é comum os fruticultores realizarem a poda dos ramos abaixo do ponto onde os sintomas são observados em uma determinada perna, não sendo esta prática comprovadamente eficaz cientificamente ou mesmo do ponto de vista prático, já

que os sintomas voltam a ocorrer nas plantas onde esta técnica é utilizada (comunicação pessoal).

2.3 ANÁLISE ESPACIAL E TEMPORAL DE DOENÇAS DE PLANTAS

A epidemiologia é o estudo de populações de patógenos em populações de hospedeiros e da doença resultante da interação sob a influência do ambiente e a interferência humana (KRANZ, 1974). A curva de progresso da doença, usualmente expressa pela proporção de doença *versus* o tempo é a melhor representação do avanço de uma epidemia (BERGAMIN FILHO, 2007).

Assim como a avaliação no tempo, os dados espaciais binários aparecem frequentemente em diversas ciências, como a ecologia, agricultura, epidemiologia, geografia e a análise de imagens (HUGHES; HARAN; CARAGEA, 2011). Por definição, padrão espacial em fitopatologia denota a distribuição de plantas doentes umas em relação às outras e à arquitetura do hospedeiro (GILLIGAN, 1982). Juntos, a análise dos padrões espaço-temporais permite conduzir inferências sobre as características da epidemia, permitindo o desenvolvimento de hipóteses sobre fatores ambientais e biológicos para a associação entre propágulos de patógenos e plantas doentes (MADDEN *et al.*, 2007).

Em estudos para detectar o padrão espacial de plantas doentes são usadas técnicas predominantemente descritivas, que visam diagnosticar se há agregação nos padrões de doença. Exemplos de tais técnicas são as análises por quadrats, variogramas, e o uso de diversos índices de associação (LIMA *et al.*, 2006).

Para efeito didático da compreensão da distribuição espacial de doenças são considerados três tipos de padrões: regular, aleatório ou agregado. Em doenças causadas por patógenos de plantas, os arranjos aleatórios e agregados são mais comumente observados, sendo rara a presença de arranjos regulares. A distribuição agregada de uma doença indica que há uma correlação entre indivíduos sintomáticos, ou seja, há uma alta probabilidade de que indivíduos sintomáticos estejam próximos uns dos outros. A distribuição aleatória indica que a distância para a fonte de inóculo é menos importante para a explicação do avanço da epidemia e a distribuição regular indica iguais distâncias entre plantas doentes (MADDEN *et al.*, 2007; SPOSITO *et al.*, 2007).

A análise do padrão pontual, a média e variância da incidência de uma amostra da população em estudo pode ser usada para calcular índices de dispersão, os quais indicam a

existência de aleatoriedade ou agregação e quantificam o grau de agregação das plantas doentes.

O Índice de dispersão binomial (Id) representa a razão da variância observada (Vobs) em relação à variância teórica (Vteor) para dados binários, esta última estimada a partir de um conjunto de dados simulados com padrão aleatório. A incidência de plantas sintomáticas foi estimada por $p = \sum x_i/nN$, onde X_i é o número de plantas sintomáticas em um determinado quadrat, n é o número de plantas por quadrat e N é o número total de quadrats. A variância teórica (Vteor) foi determinada por $Vteor = p(1 - p)/n$ e a variância observada (Vobs) foi calculada por $Vobs = \frac{\sum (x_i - np)^2}{n^2(N - 1)}$. Sob a fórmula: $Id = Vobs/Vteor$, se Id maior do que 1 e significativo pelo teste de χ^2 a 0,05 de probabilidade indica agregação e valores que não diferem estatisticamente de 1 ou menores do este valor indicam aleatoriedade (MADDEN *et al.*, 2007; SPÓSITO *et al.*, 2007).

Há também técnicas descritivas para análise espacial de doenças de plantas, como a suavização por kernel. Este método é uma técnica não paramétrica que promove a suavização estatística, permitindo filtrar a variabilidade de um conjunto de dados, retendo as características essenciais no espaço (BAILEY; GATRELL, 1995). Este método é muito utilizado para mapear e estimar a distribuição dos pontos no espaço e seu objetivo é interpolar um valor de intensidade para cada ponto de um talhão considerando uma função simétrica, centrada na célula, utilizando-se para o cálculo os pontos situados em um raio fixo a partir de cada ponto (BARBOSA *et al.*, 2014).

Além dos métodos de compreensão da distribuição da doença (agregação ou aleatoriedade) baseados em eventos como a presença ou não de plantas doentes e sua densidade no espaço, há métodos que fazem o mesmo, porém com acréscimo de uma informação contínua, na maioria dos casos à distância. Nesta linha há diversas técnicas, como a análise de vizinhos próximos, o método da distância mínima média (DMM) e a função K de Ripley. A DMM consiste na média das distâncias entre cada planta e a planta doente mais próxima desta. A este valor calculado, compara-se uma média obtida por um teste de simulação de Monte Carlo, considerando-se uma população com distribuição aleatória como hipótese nula, de onde se obtém um p-valor (0 a 1). A representação gráfica do método mostra a distância em metros no eixo x, em função da frequência de plantas doentes no eixo y (MADDEN *et al.*, 2007).

A função K de Ripley (RIPLEY, 1981) indica padrões de agregação ou aleatoriedade em diferentes distâncias (raios) em função da variância, na qual o método apresenta efeitos cumulativos de diferentes distâncias entre os eventos, e não só a média como

no método da DMM. A função pode ser descrita como $K(h) = \lambda^{-1} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N I_h(E_i, E_j) / n$ para $i \neq j$ e $h > 0$; onde I_h é o indicador da função e n o número de eventos. Sendo que I_h é 1 se E_j está dentro da distância h de E_i ; Se E_j não está dentro da distância h de E_i , então I_h é 0 (SPÓSITO *et al.*, 2007). Isso facilita a representação gráfica do método, que mostra as distâncias no eixo x, e no eixo y o resultado da função ajustada aos dados analisados e um envelope de confiança (superior e inferior), com valores enquanto dentro deste intervalo (envelope) apresentando padrão aleatório (MADDEN *et al.*, 2007).

A regressão logística é amplamente usada para análise de dados binários. Neste contexto, se insere o modelo autologístico, que estende o modelo logístico usual, construindo covariáveis a partir da resposta observada na vizinhança de cada planta. Este modelo supre a necessidade de quantificar padrões e não só apresentar se há ou não dependência espacial dos fenômenos, também estabelecendo relações entre os fatores que os afetam (FRANCISCON *et al.*, 2008). O modelo autologístico é um método com estrutura flexível para estudar o caso com doenças de plantas nas quais o espaçamento entre linhas é diferente do espaçamento dentro das linhas, já que expressa de forma independente a probabilidade de plantas se tornarem doentes nestas sequências de linhas e entrelinhas (BESAG, 1972), portanto interessante na compreensão de EFA.

2.3.1 Análise temporal e espacial da Escaldadura Foliar da Ameixeira

Não existem estudos espaço-temporais específicos sobre a EFA no Brasil, porém alguns estudos de patossistemas correlatos já foram realizados.

A Atrofia dos Ramos do Cafeeiro, também causada por *X. fastidiosa* apresentou agregação das plantas doentes, com a disseminação da doença preferencialmente nas linhas de plantio, com base nas análises de *ordinary runs*, estrutura de focos e a lei de Taylor modificada, em estudo realizado na Região Sudeste do Brasil, Estado de Minas Gerais (ROCHA *et al.*, 2010)

Pelo método de *ordinary runs* e também pelo método de randomização comum a incidência de Enrolamento da Folha da Amendoeira (EFAm) apresentou agregação em três dos quatro pomares avaliados no Estado americano da Califórnia, com clusters de EFAm mais frequentes nas bordas externas dos pomares. Este não era o padrão da doença até então, que apresentava de forma geral padrão aleatório em testes anteriores em outras regiões americanas (GROVES *et al.*, 2005), sendo esta divergência atribuída à diferença nas espécies de vetores em cada região.

Em outra epidemia causada por *X. fastidiosa* em frutíferas, a clorose variegada do citrus (CVC), os primeiros estudos de Gottwald *et al.* (1993) usando o método de *ordinary runs* mostraram a maior prevalência de incremento da doença em plantas nas diagonais e entrelinhas, ou seja, podendo ocorrer também em distâncias maiores de disseminação do que a distância entre plantas vizinhas de uma mesma linha. Roberto *et al.* (2002) também estudaram a dependência espacial da CVC e verificaram distribuição agregada da doença no campo, com um alcance de dependência espacial das plantas doentes de 10 a 14 m.

A avaliação do padrão espacial de CVC em três regiões do Estado de São Paulo mostrou que nas regiões Nordeste e Centro do Estado, observou-se prevalência de agregação na linha de plantio entre 40% até 70% de incidência nestas regiões. Na região Sul do Estado de São Paulo, não se verificou diferença entre aumento da doença na linha ou na entrelinha pelo método de *ordinary runs*. Pelo uso simultâneo de outros métodos concluiu-se que considerando o observado nas três regiões, não se pode considerar que *X. fastidiosa* tenha uma disseminação predominante ao longo ou entre linhas de plantio, descartando a influência do homem e de meios mecânicos para sua disseminação. Ainda assim, os autores ponderaram que em outros patossistemas envolvendo *X. fastidiosa*, não havia informações sobre o uso desse tipo de análise ou mesmo de influência dos tratos culturais na disseminação da bactéria (LARANJEIRA *et al.*, 2004).

No Huanglongbing ou HLB (*Candidatus liberibacter*), um patossistema correlato, apesar da diferente gama de vetores verificou-se que a dependência espacial de plantas de citros com sintomas de greening apresentou distribuição agregada. O foco inicial de plantas doentes ocorreu nos limites da fazenda de estudo, com posterior expansão do greening por toda a área (LEAL *et al.*, 2010). Há outros relatos de que os efeitos de borda de HLB são uma característica significativa da doença e tem sido observado especialmente em grandes plantações (BASSANEZI *et al.*, 2005; GOTTWALD; FREY, 2008).

Outro padrão semelhante de HLB em relação ao comportamento das doenças causadas por *X. fastidiosa* é o agrupamento da doença entre as árvores doentes adjacentes. Aglomerados de árvores com a doença foram encontrados, associados a conjuntos secundários distantes de 25 a 50 m do foco inicial, o que sugere um movimento em escala local do vetor, tanto de uma árvore para a vizinhança imediata, bem como em uma escala de distância maior (GOTTWALD *et al.*, 1989; GOTTWALD *et al.*, 1991; BASSANEZI *et al.*, 2008).

2.4 REFERÊNCIAS

ALFONSI, W.M.V.; ALFONSI, R.R.; BOSCHI, R.S.; JÚNIOR, J. Z.; PINTO, H.S.; BONIDE, A. G. Zoneamento agrícola de risco climático da cultura da ameixa no estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 16., 2009, Belo Horizonte, MG. Anais...Sociedade Brasileira de Agrometeorologia, 2009.

ALVARENGA A.A.; ABRAHAO E.; CARVALHO V.L.; SILVA R.A.; FRAGUAS J.C.; CUNHA R.L.; SANTA CECILIA L.V.C.; SILVA V.J. Pêssego, nectarina e ameixa (*Prunus* spp.). In: TRAZILBO J.P.Jr., MADELAINE V. (ed.). **101 Culturas - Manual de tecnologias agrícolas**, p.p.611-624. EPAMIG, Belo Horizonte, Brasil, 2007.

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*. **Phytopathology**, v.152, p. 291–297. 2004.

ALMEIDA, R.P.P.; RETCHLESS, A.C. *Xylella fastidiosa* diversity. **Plant Pathology Bulletin**, 22, 107-116, 2013.

ALMEIDA, R.P.P.; NUNNEY, L. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? **Plant Disease**, v.99, p. 1457-1467, 2015.

AMANIFAR, N.; TAGHAVI, M.; IZADPANAH, K.; BABAEI, G. Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* from grapevine and almond in Iran. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 53, p.318-327, 2014.

ANÁLISE DAS INFORMAÇÕES DE COMÉRCIO EXTERIOR VIA INTERNET – **ALICEWEB**. Secretaria de Comércio Exterior, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior 2014. Disponível em: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br>. Acesso 14 abr 2016.

ANDRADE, E.R. **Doenças do pessegueiro e da ameixeira e seu controle em Santa Catarina**. EPAGRI, Florianópolis, 52p. 1995 (Boletim Técnico, 71).

BARBOSA, N.F.M.; STOSIC, B.D.; STOSIC, T.; LOPES, P.M.O.; MOURA, G.B. de A.; Melo, J.S.P. Kernel smoothing dos dados de chuva no Nordeste. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 18, n.7, p. 742-747, 2014.

BASSANEZI, R. B. **Epidemiology of Huanglongbing and its implications on disease management**, v. 2, p. 37-43, 2008. In Memoria del 2º Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos, Hermosillo, Sonora, Mexico.

BASSANEZI R.B.; BUSATO L.A.; BERGAMIN FILHO A., AMORIM L.; GOTTWALD T.R. Preliminary spatial pattern analysis of Huanglongbing in São Paulo, Brazil. p. 341-355, 2005. In Hilf ME, Duran-Vila N.; Rocha-Peña MA (eds.) **Proc. 16th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.**, Univ. California, Riverside.

BAILEY T.C.; GATRELL A.C.; **Interactive spatial data analysis**. Longman, Essex, United Kingdom, 1995.

BERGAMIN FILHO, A. **Epidemiologia: Conceitos e Objetivos**. In: Armando Bergamin Filho. (Org.). Manual de Fitopatologia Vol. 1: Princípios e Conceitos. 3ªEd. São Paulo SP. Ceres, 1995.

BESAG, J. Nearest-neighbour systems and the auto-logistic model for binary data. **Journal of the Royal Statistics Society**, v.34, p. 75-83, 1972.

CASTRO, L.A.S.; NAKASU, B.H.; PEREIRA, J.F.M. Ameixeira: Histórico e Perspectivas de Cultivo, Embrapa Clima Temperado- Outubro, 2008 - Pelotas, RS

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CATI, 2009. A CATI no combate à escaldadura das folhas na ameixeira: Disponível em <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_4/ameixa/index.htm>. Acesso em 20 mar 2013.

DALBÓ, M.A.S.; DUCROQUET, J.P. Novas cultivares de ameixeira. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 10., 2007, Fraiburgo, SC. Anais...Cacador: Epagri, 2007.p. 61-67.

DALBÓ, M.A.S.; FELDBERG, N.P. Novas cultivares de ameixeiras, Características e Polinização. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTEIRAS DE CLIMA TEMPERADO, 11., 2009, Fraiburgo, SC. Anais...Caçador: EPAGRI, vol 1 (Palestras), 2009. 226p. p. 23- 27.

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL - DERAL / SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO DO ESTADO DO PARANÁ – SEAB - FRUTICULTURA. 2015. Disponível em: <http://http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2014_15.pdf>. Acesso em: 17 de jun 2016.

DUCROQUET, J. H. J; DALBÓ, M. A. SCS 409 Camila e SCS 410 Piuna: novas cultivares de ameixeira com resistência à escaldadura das folhas. Agropecuária Catarinense, Florianópolis, v. 20, n. 1, p. 67-70, 2007.

DUCROQUET J-P.H.J, ANDRADE E.R., HICKEL E.R., 2001. A escaldadura das folhas da ameixeira em Santa Catarina. Epagri, Florianópolis, Brasil.

EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. EFSA Journal, v.13, n.1, p.3989, 2015.

EIDAM, T.; PAVANELLO, A.P.; AYUB, R. Ameixeira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 1-2, 2012.

Food and Agriculture Organization of United Nations - FAO (2013) FAOSTAT. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/>>. Acessado 25 mai 2016.

FIORAVANÇO, J.C.; ALVES, S.A.M; CARDOSO, A.G.F. **Avaliação Agronômica da Ameixeira ‘América Tardia’, em Vacaria/RS**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2015. 9 p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 120).

FRANCISCON, L.; RIBEIRO JUNIOR P.J.; KRAINSKI, E.T.; BASSANEZI, R.B.; CZERMAINSKI, A.B.C. Modelo autológico espaço-temporal com aplicação à análise de padrões espaciais da leprose-dos-citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1677-1682, 2008.

FRENCH, W.J.; KITAJIMA, E.W. Occurrence of Plum leaf scald in Brazil and Paraguay. **Plant Disease Reporter**. Beltsville, v. 62, n. 12, p. 1035-1038, 1978.

FRY, S.M; MILHOLLAND, R.D. Multiplication and translocation of *Xylella fastidiosa* in petioles and stems of grapevines resistant, tolerant and susceptible to Pierce's disease. *Phytopathology*, v. 80, p.61-65, 1990.

GILLIGAN, C.A. Statistical analysis of the spatial pattern of *Botrytis fabae* on *Vicia faba*: a methodological study. **Transactions of the British Mycology Society**, v. 79, p. 193-200, 1982.

GOTTWALD, T.R.; AUBERT, B.; ZHAO X-Y. Preliminary analysis of citrus greening (Huanglongbing) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. **Phytopathology**, v. 79, p.687-693, 1989.

GOTTWALD, T.R., AUBERT, B.; HUANG, K.L. Spatial pattern analysis of citrus greening in Shantou, China. p. 421-427, 1991. In: Brlansky RH, Lee R.F.; Timmer L.W. (eds.) **Proceedings of the 11th Conference of the International Organization of Citrus Virologist**, Univ. California, Riverside.

GOTTWALD, T.R.; GIDTTI F.B., SANTOS J.M., CARVALHO A.C., 1993. Preliminary spatial and temporal analysis of citrus variegated chlorosis in Brazil. In: **Proceedings of the 12th Conference of International Organization of Citrus Virologists**, Riverside 1993: 327-335.

GRELLMANN, E.O.; SIMONETTO, P.R.; RODRIGUES, L.R. Comunicado Técnico América Tardia: nova variedade de ameixeira. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.14, n.1, p.53-56, 2008.

GROVES, R.L.; CHEN, J.; CIVEROLO, E.L.; FREEMAN, M.W.; VIVEROS, M.A. Spatial analysis of almond leaf scorch disease in the San Joaquin Valley of California: Factors affecting pathogen distribution and spread. **Plant Disease**, v. 89, p.581-589, 2005.

GULDUR, M.E; CAGLAR, B.K.; CASTELLANO, M.A.; ULNU, L.; GURAN, S.; YILMAZ, M.A.; MARTELLI, G.P. First report of almond leaf scorch in Turkey. **Journal of Plant Pathology**, v.87, p.246, 2005.

HARTUNG, J.S.; BERETA, J.; BRLANSKY, R.H.; SPISSO J.; LEE R.F. Citrus variegated chlorosis bacterium. Axenic culture, pathogenicity, and serological relationships with other strains of *Xylella fastidiosa*. **Phytopathology**, v. 84, p. 591-597, 1994.

HICKEL, E.R.; DUCROQUET, J.P.H.J.; LEITE JUNIOR, R.P.; LEITE, R.M.V.B.C. Fauna de Homoptera: Auchenorrhyncha em pomares de ameixeira de Santa Catarina. **Neotropical Entomology**, v. 30, n.4, p. 725-729, 2001.

HILL, B.L.; PURCELL, A.H. Acquisition and retention of *Xylella fastidiosa* by an efficient vector, *Graphocephala atropunctata*. **Phytopathology**, v. 85, n. 2, p. 209-212, 1995.

HOLT, J. G. *Xylella*. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, p. 100-115, 1994.

HUGHES, J.; HARAN, M.; CARAGEA, P.C. Autologistic models for binary data on a lattice. **Environmetrics**, v. 22, p. 857-871, 2011.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Sistema IBGE de Recuperação Automática. 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso: 24/06/2016.

KRANZ, J. **Epidemics of plant diseases: Mathematical Analysis and Modeling**. Springer-Verlag, Berlin, 1974.

KRELL, R.; BOYD, E.; NAY, J.; PARK, Y.; PERRING, T. Mechanical and insect transmission of *Xylella fastidiosa* to *Vitis vinifera*. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.58, n2, p.211-216, 2007.

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; GOTTWALD T.R.. Dinâmica espacial da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.56-65, 2004.

LEAL, R.M.; Barbosa, J.C.; Costa, M. G.; Belasque, J.; Yamamoto, P.T.; Dragone, J. Spatial distribution of Huanglongbing (Greening) on citrus using geostatistic. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p.808-818, 2010.

LIMA, R.R.; DEMETRIO, C.G.B.; RIBEIRO JR, P. J.; RIDOUT, M. Uma comparação de técnicas baseadas em quadrats para caracterização de padrões espaciais em doenças de plantas. **Revista de Matemática e Estatística**, v.24, p.7-26, 2006.

LOPES S.A., MARCUSSI S., TORRES S.C.Z., SOUZA V., FAGAN C., FRANÇA S.C., FERNANDES N.G., LOPES J.R.S.. Weeds as alternative hosts of the citrus, coffee, and plum strains of *Xylella fastidiosa* in Brazil. **Plant Disease**, v. 87, p. 544-549, 2003.

MADDEN L.V.; HUGHES G.; ELLIS M.A. Spatial heterogeneity of the incidence of grape downy mildew. **Phytopathology**, v.85, p. 269-275, 1995.

MADDEN, L.V.; HUGHES, G.; BOSCH, F. **The study of plant disease epidemics**. American Phytopathological Society (APS Press), 2007.

MCGAHA, L.A.; JACSON, B.; BEXTINE, B.; MCCULLOUGH, D.; MORANO, L. Potential plant reservoirs for *Xylella fastidiosa* in south Texas. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.58, n. 3, p. 398-401, 2007.

MOLLENHAUER, H.H.; HOPKINS, D.L. Xylem morphology of Pierce's disease-infected grapevines with different levels of tolerance. **Physiology Plant Pathology**, v.9, p. 95-100, 1976.

MULLER C., 2008. **Análise faunística e flutuação populacional de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) potenciais vetoras de *Xylella fastidiosa* em pomares de ameixeiras nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, Brasil**. MSc. Dissertation. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.

MULLER C., 2013. ***Xylella fastidiosa* de ameixeira: transmissão por cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) e colonização de plantas hospedeiras**. Ph.D. Thesis. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.

OLIVEIRA, M.C.; PIO, R.; RAMOS, J.D.; ALVARENGA, A.A.; SANTOS, V..A.; FANTE, C. Seleção de ameixeiras promissoras para a Serra da Mantiqueira. **Revista Ceres**, v.58, p 531-535, 2011.

QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; CABRAL, L.P.; PARADELA FILHO, O. Severidade do sintoma da bactéria *Xylella fastidiosa* em cultivares de cafeeiro. **Bragantia**, v.63, n.3, p. 395-404, 2004.

REDAK, R.A.; A.H. PURCELL; J.R.S. LOPES; M.J. BLUA; R.F. MIZELL; P.C., ANDERSEN. 2004. The biology of xylem fluid feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. **Annual Reviews in Entomology**, v. 49, n. 1, p. 243-270, 2004.

RIPLEY, B.D. Spatial Statistics. John Wiley & Sons, New York, USA, 1981.

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

ROCHA, J.G.; ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E.M.; RIBEIRO DO VALE, F.X. Temporal and spatial dynamics of coffee leaf scorch caused by *Xylella fastidiosa*. **Australasian Plant Pathology**, v.239, p. 234-240, 2010.

SAPONARI, M.; BOSCIA, D.; NIGRO, F.; MARTELLI G.P. Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (Southern Italy). **Journal of Plant Pathology**, v.95, p. 668, 2013.

SCHNEIDER, N.A.; AZEVEDO FILHO, W.; MULLER, C.; LOPES, J.; BOTTON, M. Flutuação populacional e análise faunística de cigarrinhas (Cicadellidae) em pomar de ameixeira em Paranapanema, São Paulo, Brasil. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, v.1, 26-30, 2016.

SIMONETTO, P. R.; ANZANELLO, R.; FOGAÇA, C. M.; JUNGES, A. H. Potential for Japanese plum (*Prunus salicina* L.) cultivation in Southern Brazil. **Acta Horticulturae**, n. 985, p. 229-233, 2013.

SPÓSITO, M.B., AMORIM, L., RIBEIRO JR, P.J., BASSANEZI, R.B., KRAINSKI, E.T.. Spatial pattern of trees affected by black spot in citrus groves in Brazil. **Plant Disease**, v.91, p. 36-40, 2007.

SU, C.-C.; CHANG, C.J.; CHANG, C.M.; SHIH, H.T.; TZENG, K.C.; JAN, F.J.; KAO, C.W.; DENG, W.L. Pierce's disease of grapevines in Taiwan: isolation, cultivation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. **Journal of Phytopathology**, v.161, p.389-396, 2013.

WEINBERGER, J.H. Plums. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. (Ed.). **Advances in fruit breeding**. West Lafayette: Purdue University, 1975.

WELLS, J.M.; RAJU, B.C.; HUANG, H.Y.; WEISBURG, W.G.; MANDELCO, P.L.; BRENNER, D.J. *Xylella fastidiosa* gen. nov.; gram negative, xylem limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. **International Journal Systematic Bacteriology**, v.37, p.130-143, 1987.

3 SPATIAL ANALYSIS OF PLUM LEAF SCALD IN SÃO PAULO STATE, BRAZIL

ABSTRACT¹

This study characterizes the spatial dynamics of Plum Leaf Scald on three commercial orchards located in Sao Paulo State - Brazil. All trees from each orchard were evaluated during four consecutive years (one orchard), and for three consecutive years (two orchards). The incidence and characteristics of spatial patterns were assessed by the modified Taylor's power law, binomial dispersion index, Ripley's K-function and average minimum distance. Autologistic models were fitted for different neighboring structures with model selection guided by the Akaike Information Criteria (AIC). The autologistic model relates the probability of an infection with the presence of the disease on neighboring trees within and between the rows and also on the diagonals, on the same and/or previous time of assessment. Aggregated patterns were detected by different methods, except for the evaluations with incidence below 10%. The selected autologistic model consistently showed an increased risk of disease for trees with infected neighboring in the same row on the same time of assessment, whereas effects between rows were only detected for the higher incidences. Overall, the Plum Leaf Scald epidemic shows random patterns at the beginning and aggregation on later stages.

Keywords: Prunus salicina, Xylella fastidiosa, epidemiology.

¹ Artigo aceito para publicação pela revista Journal of Plant Pathology

ANÁLISE ESPACIAL DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM SÃO PAULO, BRASIL

RESUMO

Este estudo caracteriza a dinâmica espacial da Escaldadura Foliar da Ameixeira em três pomares comerciais localizados no Estado de São Paulo - Brasil. Todas as árvores de um dos pomares foram avaliadas por quatro anos consecutivos, e nos outros dois pomares durante três anos consecutivos. A incidência e as características dos padrões espaciais foram avaliadas pelos métodos da lei da potência de Taylor modificada, índice de dispersão binomial, função K de Ripley e distância mínima média. Modelos autolagísticos foram ajustados para diferentes estruturas de vizinhanças e comparados pelo critério de informação de Akaike. O modelo autolagístico relaciona a probabilidade de infecção com a presença de plantas doentes na vizinhança dentro e entre as filas e também nas diagonais, no tempo atual ou no tempo da avaliação anterior. Padrões agregados foram detectados por diferentes métodos, exceto para as avaliações com incidência inferior a 10%. O modelo autolagístico selecionado consistentemente mostrou um risco aumentado de incidência com a ocorrência de vizinhas infectadas na mesma linha no mesmo momento da avaliação, enquanto que os efeitos entre as linhas foram detectados apenas para as maiores incidências. No geral, a Escaldadura Foliar da Ameixeira mostra padrões aleatórios no início e agregação em fases posteriores da epidemia.

Palavras-chave: *Prunus salicina*, *Xylella fastidiosa*, epidemiologia.

3.1 INTRODUCTION

The Plum Leaf Scald (PLS) is a disease caused by the bacterium *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987) that inhabits exclusively the xylem vessels of various plant species (Hartung *et al.*, 1994). Symptoms associated with PLS are initially chlorotic spots at the tip of the leaves, which develop into necrotic, and then extend towards leaf blades. Necrotic areas assume gray or dark brown color, giving to the affected branches a burned aspect, hence the name "scald" (Ducroquet *et al.*, 2001).

From 2008 to 2013, the amount of plums imported by the Brazilian market increased by 75%, amounting 32,219 tons of imported fruit costing US\$ 46 million in 2013 (Aliceweb, 2014). Demand for imports is mainly a result of disease problems occurrence in Brazil's main producing regions. Minas Gerais State, on Southeastern Brazil, was once considered the largest Brazilian state producer of plums in the 70s, with a significant decrease in planting due to the occurrence of PLS. Also in the 70s and 80s, the disease was responsible for the eradication of orchards on Brazilian Southern States, Rio Grande do Sul to Paraná (Alvarenga *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011; Eidam *et al.*, 2012).

The main agents of bacteria transmission are insects belonging to the suborder Homoptera, family *Cicadellidae*. Popularly known as leafhoppers, these insects suck plant sap directly from the xylem vessels, transmitting bacteria propagules from plant to plant (Redak *et al.*, 2004). Another important way of disease introduction is the use of infected seedlings, especially in newly deployed orchards (Roberto *et al.*, 2002). Seedlings or other propagative infected material, often asymptomatic, can carry the disease to long distances, crossing borders of states and countries. As examples, reports of seedling introductions infected with *X. fastidiosa* in various species in the American states of California, Arizona and even in island territories such as French Polynesia and Hawaii (Janse and Obradovic, 2010). Saponari *et al.* (2013) reported the occurrence of *X. fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in southeastern Italy. According to EFSA (2015), *X. fastidiosa* presents a major risk to the European Union territory due to its potential to cause disease in the risk assessment area once it establishes, as hosts are present and the environmental conditions are favorable. *X. fastidiosa* may affect several crops in Europe, such as citrus, grapevine and stone fruits (almond, peach, plum).

In Brazil, since the 90s the emergence of cultivars that allow the time extension of the orchards exploration, allowing farmers to produce besides the disease occurrence in some

regions. However, more knowledge is needed to guide more efficient management in the orchard, including balanced fertilization, water availability, and removal of diseased material and especially, control of insect vectors (Dalbó and Feldberg, 2009). Difficulty in using these techniques has limited the permanence of small farmers or those with low levels of technology.

For similar pathosystems, such as Huanglongbing (HLB), Citrus Variegated Chlorosis (CVC) and Coffee Leaf Scorch (CLS), the management is based on the epidemiology of diseases in the field, including temporal and spatial dynamics of the disease (Gottwald *et al.*, 1993; Nunes *et al.*, 2001, Tubajika *et al.*, 2004, Rocha *et al.*, 2010), vector behavior (Redak *et al.*, 2004; Ott *et al.*, 2006; Muller, 2008; Muller, 2013) and regional management (Bassanezi *et al.*, 2005). Therefore, the study of the spatial distribution of a particular disease depends on the pathogen dispersion characteristics, plants architecture and plants spatial arrangement (Gilligan, 1982; Redak *et al.*, 2004; Spósito *et al.*, 2007). Knowledge of this spatial distribution can be an important tool to assist the development of disease control strategies such as to PLS in Brazil and worldwide.

There are no epidemiological studies on PLS in Brazil, and the works that have been made with this pathogen focus mainly on the pathogen's interaction with the vector and alternative hosts (Muller, 2008; Muller, 2013). This highlights the importance of those studies to develop strategies of disease management in the field, considering especially the dispersion model of the disease. Other relevant information from the literature is that there are different strains of the bacteria in different regions and specializations between cultures (Lopes *et al.*, 2003; Janse and Obradovic, 2010). Therefore, regionalized studies to better understanding the pathosystem and for the recommendation of disease management are relevant.

This study aims to: i) characterize the spatial dynamics of the disease in commercial orchards of plum cultivated in subtropical climate in São Paulo state, Brazil, ii) evaluate results provided by different spatial statistical methods to the understanding of PLS development over the time.

3.2 MATERIALS AND METHODS

3.2.1 Study area description

The PLS incidence data were collected in commercial orchards in the municipality of Paranapanema, São Paulo State, Southeastern Brazil, located at the geographical coordinates 23°23'19 "S and 48°43'22" W, altitude of 610 meters. The climate belongs to the type Cwa, warm temperate climate, with dry winter and hot summer, according to the Köppen climate classification. The city's average temperature of the coldest month is 17.3°C and average temperature of the warmest month is 24.3°C. The average annual temperature is 21.1°C. Average annual rainfall in Paranapanema is 1407 mm, being 40.1 mm the average in the driest month and 203.8 mm in the rainiest month.

Three orchards were evaluated (Table 1) in two selected properties in São Paulo State. Orchard 1 was evaluated for four years (2000-2003) and the other two orchards (orchards 2 and 3) for three years (2005-2007). All trees of each orchard were inspected, being recorded the presence or absence of the typical symptoms of the disease (incidence) in summer time, between January and March. The assessment in the study region was carried out 3-4 months after harvest, when the symptoms are more evident and easily identified in the field.

3.2.2 Data analysis

Exploratory analyzes were performed observing the ratio between diseased and healthy plants over time and the amount of missing data (NA's), which means plants that were cut or died. Kernel smoothing was used to filter the main features of the spatial variability of the data whilst still retaining the essential characteristics of the fields (Bailey and Gatrell, 1995).

Spatial patterns of aggregation or randomness were firstly inspected by the analysis of quadrat counts with quadrats sizes of 2 by 4, 3 by 6 t, 4 by 8 e 5x10 trees. ($Id = Vobs/Vteor$). The binomial dispersion index Id is the ratio between the observed variance (Vobs) and variance (Vteor) expected under randomness. A t-test was used and conclusions are reported under 0.01 and 0.05 significance levels.

Quadrat based methods rely on arbitrary choices of quadrat sizes. Further evidence on aggregation was then gathered from two continuous distances based methods, the average

minimum distance test (AMD) and Ripley's K function. Such methods were used, for instance, in detecting spatial patterns of citrus black spots by Spósito *et al.* (2007). For the AMD the distances between each tree and the nearest symptomatic tree are averaged and the value is compared with a reference distribution obtained by Monte Carlo simulations under randomness. Observed averages below the 0.01 or 0.05 quartiles of the distribution obtained by randomization indicate aggregated patterns.

The Ripley's K function (Ripley, 1981) is widely used in the analysis of point patterns to detect aggregated or random patterns. The function computes the average density of points on a sequence of circles with increasing radius in the vicinity of each the events (here a symptomatic tree). The empirical function is compared with bands (envelopes) obtained by the functions computed from simulation under randomness. The result is typically given as a plot of scaled densities against the radius. Empirical curves showing parts outside the bands indicates deviation from the random pattern. The method only considers the diseased plants ignoring the spacing and the empirical curves should be interpreted only for distance values above the spacing between plants.

Additional insight can be gained by fitting models which relates the status of the disease with the status on neighborhood of the trees, as the autologistic model. Such models not only allow for detecting spatial patterns, identifying plausible neighborhood structure but also quantify the odds of disease in relation of its presence in such neighborhoods. Inference must be carried out accounting for the fact that data are used as response and also defining the neighboring status (Gumpertz *et al.*, 1997). Different neighborhood structures can be defined and tested, such as within and between rows and diagonal effects. The neighboring structures can be fitted separately or jointly, depending on the interest and the spacing between the trees. Disease status on such neighborhoods can be considered at the same or previous times of assessment. Such models were used for instance in Franciscon *et al.* (2008) in citrus sudden death disease and Kaiser *et al.* (2014) in bean pod mottle virus. The neighborhoods considered here are given in Table 2, accounting separately for influences of diseased tree within the rows, between the rows, on diagonals and on current and previous times. The Akaike Information Criterion (AIC) was employed to determine which submodel better fit to the data and coefficients for neighboring structures assessed for $p < 0.01$, 0.05 and 0.10 significance levels.

All the data analysis were performed using the add-on package Rcitrus (Krainski and Ribeiro Jr, 2006) for the R software (R Development Core Team, 2015).

3.3 RESULTS

The incidence of PLS varied from 0.48 to 9.2% in Orchard 1; from 27.3 to 80.3% in Orchard 2 with increasing incidence over time; in orchard 3, the incidence varied from 14.1 to 23.3% and it was observed a decrease in the number of failures (absence of plants) throughout the study period, from 287 in 2006 to 282 in 2007, due to substitution of dead plants.

Kernel smoothing (Fig. 1), shows borders of the evaluated areas with higher concentration of infected plants, especially in orchards 1 and 3. In Orchard 2 (second line Fig. 1) there was a large concentration of diseased plants spreaded over the area, with no obvious pattern.

The dispersion index (Table 3) showed random distribution pattern of the disease in the first assessment, and aggregated in the last evaluation for all quadrats sizes tested for Orchard 1. In the second and third evaluations, only the larger quadrats (4x8 and 5x10) had pointed to aggregated spatial pattern. In Orchard 3, there was also wide prevalence of the random pattern, except for the 3x6 arrangement, which presented aggregated pattern across all assessments dates, and the 2x4 arrangement, which showed aggregation in the last assessment. Orchard 2 showed prevalence of aggregate patterns, except in the latest assessments of the intermediate sized quadrats (3x6 and 4x8) and also the largest quadrats arrangement (5x10), the latter presenting random pattern in for the first two reviews, and regular pattern, characteristic of high incidences, for the last evaluation.

The AMD method (Fig. 2) patterns of randomness of PLS incidence ($p > 0.05$) in the first 3 evaluations in Orchard 1 (Figs. 2A, 2B and 2C), with aggregation in the last assessment (Fig. 2D). The AMD observed between diseased plants in Orchard 1 ranged from 48.8 to 8.2 meters in the first and last assessment respectively. In Orchards 2 and 3 (Fig. 2, from E to J), there was prevalence of aggregate pattern ($p < 0.05$), except on the second evaluation in Orchard 3. Average distances observed ranged from 4.8 to 4.0 meters between the assessments made in Orchard 2, and from 6.5 to 5.2 meters in Orchard 3.

The plots of Ripley's K functions (Fig. 3) show that aggregated patterns prevails for different evaluations at the different orchards, with exception to the first evaluation of the Orchard 1 (Fig. 3A).

The best fitted autologistic models (Table 4) for Orchards 1 and 3 include effects of diseased plants on rows, between rows and the diagonals on the same assessment (Model 2). However, estimated parameters for the first orchard were not significant ($p > 0.05$) in any of the dates, not significantly differing, at this probability level, from simulated populations with

random pattern. The parameter considering plants on the same row was significant only at the $p < 0.10$ significance level at the fourth year of evaluation, repeating the aggregated pattern observed in the methods above.

In Orchard 2, the best adjustment was also observed in Model 2 for the first and third assessments, evidencing the influence of diseased plants presence in the same assessment date and considering the influence of the diagonals. For the second assessment, Model 4 was better adjusted, thus also indicating influence of the previous stage of the disease on the neighboring plants within the rows, between rows and diagonals. Diseased plants on same row neighboring plants increase the odds of disease for all assessment dates and assessed orchards (Table 4).

3.4 DISCUSSION

In this work, the aggregated pattern in the spatial distribution of PLS incidence was prevalent for different fields and methods used, beside a random start. The methods that divided the fields in different quadrats sizes brought divergent conclusions. It was found the prevalence of disease onset at the borders of the orchards. The disease increase was more likely to occur among plants within the same row planting, regardless of geographic orientation of orchards.

The highest concentration of diseased plants on the borders of orchards 1 and 3 is shown according to the description of Redak et al. (2004) for Pearce's disease (*X. fastidiosa*) in vines, which the authors attributed to the entrance pattern in the field of vectors that inhabit the vegetation in the edge of orchards. Laranjeira et al. (2004) also observed pattern of higher concentration of the disease from the borders of the three citrus orchards evaluated for CVC incidence, using an isopath area determination method, visually similar to Kernel smoothing, used in this study.

As well as on data from PLS, the pattern of higher concentration on the orchards borders in papaya sticky disease was attributed to the presence of isolated outbreaks within the lots. In this case, the internal outbreaks could be explained by the formation of vectors colonies into the orchard, and the subsequent transmission from secondary inoculum (Vidal et al., 2004).

The presence of isolated foci can also be explained by the action of more than one spread agent, for example, the use of infected seedlings in the implementation of the orchard

(Cati, 2009, Janse and Obradovic, 2010), being this aggravated by the endemic nature of the disease in the study region, in different cultures and alternative hosts (Muller, 2013).

In Orchard 2 it was not observed this pattern of concentration on the border due to the high incidence of disease since the beginning of the assessments, with a maximum of 80% and dispersion index equal to the regular distribution pattern of incidence in the last evaluation date.

The aggregation patterns in higher incidences and randomness in the lower ones were confirmed by the different methods used in this study (dispersion index, modified Taylor law, AMD and Ripley's K function). The dispersion index indicates whether in a given evaluation the diseased plants were aggregated or not, however, the quadrats sizes may interfere with the biological interpretation of the test results (Laranjeira et al., 2004).

Therefore, as for HLB in citrus, the random beginning of the epidemic can be assigned to the initial contribution by vectors. Thus, in low incidences, the distribution pattern of the disease would be random, due to dependence on the erratic arrival of the vector to the study area. Later, with the increased incidence, the pattern would become aggregated because diseased plants serve as the source of inoculum (secondary) to other plants in the study area and the presence of the vector within the orchard (Gottwald et al., 2007).

The graphics of the Ripley's K function didn't detect aggregation pattern of the disease in distances less than 10 meters in all evaluations. This weakness in the detection of the aggregation by this method in smaller rays agrees with Spósito et al. (2007), who commented that this method does not consider spacing between plants, but a fixed radius, and so has better applicability to large areas of study or at greater distances within the cultivated areas. The same authors remarked that the method of AMD is very useful for determining the aggregation patterns, considering the area as it is and not dividing the area arbitrarily.

The autologistic parameterization model that uses the same evaluation date as a covariate (Models 1 and 2) are those that have better descriptive capacity of epidemics. The models containing parameterization using the previous evaluation (models 3 and 4), however, give the model a predictive power (Franciscon et al., 2008). The best fit of the models with parameterization considering the same evaluation date (Models 1 and 2) in this work, showed that the comparison between different years bumped into the possibility of any plants being infected but asymptomatic. It agrees with Nunes et al. (2001) that concluded incidence detection by serological method was more efficient than the visual observation of symptoms in CVC.

The results of the autologistic model adjustments are in accordance with the descriptive comments, with the orchards 1 and 2 distribution of diseased plants increasing in both directions over time (within the rows and between rows), but with prevalence of developments in the y-axis, i.e., between plants of the same row planting. The increase in the number of symptomatic plants with CVC in two orchards in São Paulo in the row direction, by the Foci Form Index method, was observed by Nunes et al. (2001) in agreement with the PLS data of this work.

The pattern of increased likelihood of disease in the same row disagrees with Gottwald et al. (1993) conclusion, which highlighted the largest increase in the Citrus Variegated Chlorosis towards northeast to southeast, so diagonally in the studied Orchard. Because of this diagonal effect, the authors cited above completely ruled out any mechanical transmission effect by cultural practices in that pathosystem.

By ordinary runs method, Laranjeira et al. (2004) found the spatial pattern of disease increase in citrus plants in the Northeast, Central and South of the São Paulo State. In the Northeast and State Center, prevalence of aggregated pattern was observed in the planting row up to 40% and 70% of incidence in the regions, respectively. In the southern region of São Paulo, there was no difference between increases of disease within the row or between rows. In spite of the above results, Laranjeira et al. (2004) concluded that considering the observed in the three regions, it cannot be said that *X. fastidiosa* has a predominant spread within or between rows, discarding the influence of man and mechanical means for the bacteria's dissemination. Furthermore, the authors reasoned that for other pathosystems involving this pathogen, there was no information on the use of this type of analysis or even influence of cultural practices, such as pruning, in the spread of the bacteria. Using pruning shears, Krell et al. (2007) had a low efficiency (4.7%) in the *X. fastidiosa* inoculation test in vine plants (*Vitis vinifera*), but showing that this modality is possible.

The mechanical transmission ability should be better studied, particularly in the case of PLS, due to the higher intensity of pruning on this culture when compared to citrus or grapevine, and also because either on different orientations of the orchards, trees of the same rows were the preferential direction of increase of the disease in this study.

The findings of this study may help the producers to develop strategies of the disease management, focusing on the most efficient methods to control vectors on the edges of the orchards, as soil applied insecticides and regular aerial sprays of insecticides on all plants before the onset of symptoms. After that, with the pathogen entrance, measures could be made

on plants on the same rows of diseased ones, as pruning, eradication and replant, and local control of vectors with application of insecticides.

3.5 REFERENCES

ALICEWEB. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet – Secretaria de Comércio Exterior, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior 2014: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br>

Alvarenga A.A., Abrahao E., Carvalho V.L., Silva R.A., Fraguas J.C., Cunha R.L., Santa Cecilia L.V.C., Silva V.J., 2007. Pêssego, nectarina e ameixa (*Prunus* spp.). In: Trazilbo J.P. Jr., Madelaine V. (ed.). 101 Culturas - Manual de tecnologias agrícolas, pp.611-624. EPAMIG, Belo Horizonte, Brasil.

Bailey T.C., Gatrell A.C., 1995. Interactive spatial data analysis. Longman, Essex, United Kingdom.

Coordenadoria de Assistência Técnica Integral do Estado de São Paulo – CATI, 2009. A CATI no combate à escaldadura das folhas na ameixeira: http://www.infobibos.com/Artigos/2009_4/ameixa/index.htm.

Dalbó M.A.S., Feldberg N.P., 2009. Novas cultivares de ameixeiras, Características e Polinização. In: *Proceedings of 11th Encontro Nacional sobre Fruteiras de Clima Temperado, Fraiburgo 2009*: 23- 27.

Ducroquet J-P.H.J, Andrade E.R., Hickel E.R., 2001. A escaldadura das folhas da ameixeira em Santa Catarina. Epagri, Florianópolis, Brasil.

Eidam T., Pavanello A.P., AYUB R., 2012. Ameixeira no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34: p. 1-2.

EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), 2015. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal* 2015,13(1):3989.

Franciscon L., Ribeiro Junior P.J., Krainski E.T., Bassanezi R.B., Czermainski A.B.C., 2008. Modelo autológico espaço-temporal com aplicação à análise de padrões espaciais da leprose-dos-citros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43: 1677-1682.

Gilligan C.A., 1982. Statistical analysis of the spatial pattern of *Botrytis fabae* on *Vicia faba*: a methodological study. *Transactions of the British Mycology Society* 79: 193-200.

Gottwald T.R., Gidtti F.B., Santos J.M., Carvalho A.C., 1993. Preliminary spatial and temporal analysis of citrus variegated chlorosis in Brazil. In: *Proceedings of the 12th Conference of International Organization of Citrus Virologists, Riverside 1993*: 327-335.

Gottwald T.R., Da Graça J.V., Bassanezi R.B., 2007. Citrus Huanglongbing: the pathogen and its impact. *Plant Health Progress* 6 September 2007. Online (doi: 10.1094/PHP-2007-0906-01-RV).

Gumpertz M.L., Graham J.M., Ristaino J.B., 1997. Autologistic Model of Spatial Pattern of *Phytophthora* Epidemic in Bell Pepper: Effects of Soil Variables on Disease Presence. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 2: 131-156.

Hartung J.S., Bereta J., Brlansky R.H., Spisso J., Lee R.F., 1994. Citrus variegated chlorosis bacterium. Axenic culture, pathogenicity, and serological relationships with other strains of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology* 84: 591-597.

Janse J.D., Obradovic A., 2010. *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. *Journal of Plant Pathology* 92: s1.35-s1.48.

Kaiser M., Pazdernik K., Hoeksema A., Nutter F., 2014. Modeling the Spread of Plant Disease Using a Sequence of Binary Random Fields with Absorbing States, *Spatial Statistics* 9: 38-50.

Krainski E.T., Ribeiro Júnior P.J., 2006. Software para análise estatística de dados de incidência de doenças em plantas. Available in: <<http://www.leg.ufpr.br/Rcitrus/>>. Accessed: 18 jan. 2010.

Krell R.K., Boyd E.A., Nay J.E., Park Y.L., Perring T.M., 2007. Mechanical and insect transmission of *Xylella fastidiosa* to *Vitis vinifera*. *American Journal of Enology and Viticulture* 58: 211-216.

Laranjeira F.F., Bergamin Filho A., Amorim L., Gottwald T.R., 2004. Dinâmica espacial da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 29: 56-65.

Lopes S.A., Marcussi S., Torres S.C.Z., Souza V., Fagan C., França S.C., Fernandes N.G., Lopes J.R.S., 2003. Weeds as alternative hosts of the citrus, coffee, and plum strains of *Xylella fastidiosa* in Brazil. *Plant Disease* 87: 544-549.

Madden L.V., Hughes G., Ellis M.A., 1995. Spatial heterogeneity of the incidence of grape downy mildew. *Phytopathology* 85: 269-275.

Muller C., 2008. Análise faunística e flutuação populacional de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) potenciais vetoras de *Xylella fastidiosa* em pomares de ameixeiras nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, Brasil. MSc. Dissertation. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.

Muller C., 2013. *Xylella fastidiosa* de ameixeira: transmissão por cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) e colonização de plantas hospedeiras. Ph.D. Thesis. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.

Nunes W.M.C., Machado M.A., Corazza-Nunes M.J., Furtado E.L., 2001. Dinâmica espacial de foco da Clorose Variegada dos Citros (CVC) avaliada por meio da sintomatologia e serologia. *Acta Scientiarum* 23: 1215-1219.

Oliveira M.C., Pio R., Ramos J.D., Alvarenga A.A., Santos V.A., Fante C., 2011. Seleção de ameixeiras promissoras para a Serra da Mantiqueira. *Revista Ceres* 58: 531-535.

Ott A.P., Azevedo-Filho W.S., Ferrari A., Carvalho G.S., 2006. Abundância e sazonalidade de cigarrinhas (Hemiptera, Cicadellidae, Cicadellinae) em vegetação herbácea de pomar de laranja doce, no município de Montenegro, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia* 96: 9-18.

R Development Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria: <http://www.R-project.org>.

Redak R.A., Purcell A.H., Lopes J.R.S., Blua M.J., Mizell III R.F., Andersen P.C., 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology* 49: 243-270.

Ripley B. D., 1981. *Spatial Statistics*. John Wiley & Sons, New York, USA.

Roberto S.R., Farias P.R.S., Bergamin Filho A., 2002. Geostatistical analysis of spatial dynamics of citrus variegated chlorosis. *Fitopatologia Brasileira* 27: 599-604.

Rocha J.G., Zambolim L., Zambolim E.M., Ribeiro do Vale F.X., 2010. Temporal and spatial dynamics of coffee leaf scorch caused by *Xylella fastidiosa*. *Australasian Plant Pathology* 239: 234-240.

Saponari M., Boscia D., Nigro F., Martelli G.P., 2013. Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (Southern Italy). *Journal of Plant Pathology* 95: 668.

Spósito, M.B., Amorim, L., Ribeiro JR, P.J., Bassanezi, R.B., Krainski, E.T., 2007. Spatial pattern of trees affected by black spot in citrus groves in Brazil. *Plant Disease* 91: 36-40.

Tubajika K.M., Civerolo E.L., Ciomperlik M.A., Luvisi D.A., Hashim J.M., 2004. Analysis of the spatial patterns of Pierce's disease incidence in the lower San Joaquin Valley in California. *Phytopathology* 94: 1136-1144.

Vidal C.A., Laranjeira F.F., Nascimento A.S., Habibe T.C., 2004. Distribuição espacial da meleira do mamoeiro em zonas de trópico úmido e trópico semi-árido. *Fitopatologia Brasileira* 29: 276-281.

Wells J.M., Raju B.C., Huang H.Y., Weisburg W.G., Mandelco P.L., Brenner D.J., 1987. *Xylella fastidiosa* gen. nov., gram negative, xylem limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. *International Journal Systematic Bacteriology* 37: 130-143.

Table 1. Description of commercial plum orchards assessed about their spatial distribution of Plum Leaf Scald, in the municipality of Paranapanema, São Paulo State, Brazil.

Orchard	Cultivars ¹	Orchard Orientation	Number of trees	Year of planting	Evaluation period	Spacing (m)
1	Gulf Blaze	North-Northeast (NNE)	1338	1998	2000 to 2003	6,0 x 4,0
2	Reubennel	Northeast (NE)	375	1996	2005 to 2007	6,0 x 4,0
3	Reubennel	East(E)	298	1998	2005 to 2007	6,0 x 4,0

¹ *Prunus salicina* Lindl.

Table 2. Different parametrizations tested of the autologistic model considering temporal and spatial covariates assessing incidence of Plum Leaf Scald, caused by *Xylella fastidiosa*.

Models	Covariates
M1	Current Time: row and row spacing.
M2	Current Time: row, row spacing and diagonal.
M3	Former time: row and row spacing
M4	Former time: row, row spacing and diagonal.

Table 3. Binomial dispersion index of plants with Plum Leaf Scald symptoms caused by *Xylella fastidiosa* for different combinations of quadrats sizes. Municipality of Paranapanema, São Paulo State, Brazil.

Quadrats	Year ^a	N ¹	Orchard 1			Orchard 2				Orchard 3			
			P(%) ²	ID ³		N	P(%)	ID		N	P(%)	ID	
2x4	1	166	0.4	1.0	<i>ns</i>	38	30.0	2.1	*	30	15	1.4	<i>ns</i>
	2	166	2.6	1.1	<i>ns</i>	38	41.6	2.1	*	30	24.1	1.3	<i>ns</i>
	3	166	4.5	1.1	<i>ns</i>	38	88.1	1.9	*	30	23.3	1.7	*
	4	166	8.5	1.3	*	-	-	-	-	-	-	-	-
3x6	1	68	0.4	0.9	<i>ns</i>	13	31.4	2.3	*	11	15.6	1.9	*
	2	68	2.6	1.0	<i>ns</i>	13	42.5	2.4	*	11	24.2	2.6	*
	3	68	4.4	1.0	<i>ns</i>	13	88.4	1.4	<i>ns</i>	11	20.7	2.6	*
	4	68	8.4	1.8	*	-	-	-	-	-	-	-	-
4x8	1	36	0.3	0.9	<i>ns</i>	6	31.6	2.9	*	5	16.8	1.5	<i>ns</i>
	2	36	2.7	1.6	*	6	45.0	2.4	*	5	26.2	2.3	<i>ns</i>
	3	36	4.1	1.8	*	6	89.3	1.4	<i>ns</i>	5	22.5	1.2	<i>ns</i>
	4	36	8.4	1.9	*	-	-	-	-	-	-	-	-
5x10	1	19	0.4	0.8	<i>ns</i>	4	26.5	1.1	<i>ns</i>	3	16	2.8	<i>ns</i>
	2	19	2.5	2.6	*	4	45.0	2.1	<i>ns</i>	3	16.6	4.1	*
	3	19	4.0	2.4	*	4	92.0	0	<i>r</i>	3	18	1.7	<i>ns</i>
	4	19	7.0	2.1	*	-	-	-	-	-	-	-	-

^a Annual evaluations, Evaluation 1 of Orchard 1 = year 2000 and Orchards 2 and 3 = 2005.

¹ Number of complete estimated quadrats.

² Quadrats percentage with at least one diseased plant.

³ Binomial dispersion index: If ID > 1 and significant means aggregate; If ID < 1 or not significant means random. * significant or p < 0.05 and ns = not significant

Table 4. Parameters estimated by fitting the data of Plum Leaf Scald incidence to the autologistic model on four parameterizations. Municipality of Paranapanema, São Paulo State, Brazil.

Orchard	Year ¹	Model ²	Estimated parameters								AIC ⁵	
			Rows		Between trees		Diag. A ³		Diag. B ⁴			
1	2000	M1	0	ns ⁶	0	ns	-	-	-	-	71.12	
		M2	0	ns	0	ns	0	ns	0	ns	63.62	
	2001	M1	-1.14	ns	0.43	ns	-	-	-	-	301.87	
		M2	-1,12	ns	0,47	ns	0,33	ns	0,69	ns	296,80	
		M3	0	ns	0	**	-	-	-	-	303.02	
		M4	0	ns	0	**	0	**	0	**	297.45	
	2002	M1	0.74	ns	0.47	ns	-	-	-	-	440.27	
		M2	0.79	ns	0.25	ns	-0.71	ns	0.19	ns	427.88	
		M3	0.80	ns	0.19	ns	-	ns	-	ns	448.82	
		M4	0.80	ns	0.19	ns	0.15	ns	0.20	ns	444.75	
	2003	M1	0.84	.	0.12	ns	-	-	-	-	717.64	
		M2	0.83	.	0.07	ns	0.04	ns	0.17	ns	703.49	
		M3	0.68	.	0.01	ns	-	-	-	-	721.21	
		M4	0.63	ns	0.17	ns	0.18	ns	0.36	ns	705.33	
	2	2005	M1	1.20	**	0.36	ns	-	-	-	-	314.14
			M2	1.35	**	0.25	ns	0.25	ns	0.01	ns	295.02
2006		M1	0.83	**	0.23	ns	-	-	-	-	365.22	
		M2	0.83	**	0.22	ns	-0.17	ns	0.083	ns	347.67	
		M3	1.26	**	0.16	ns	-	-	-	-	348.68	
		M4	1.27	**	0.01	ns	0.20	ns	0.21	ns	330.24	
2007		M1	1.89	**	0.98	*	-	-	-	-	162.87	
		M2	2.09	**	1.54	**	-0.73	.	0.02	ns	144.50	
		M3	0.89	**	0.38	*	-	-	-	-	195.85	
		M4	0.80	**	0.23	.	0.16	ns	0.11	ns	189.24	
3		2005	M1	1.42	ns	0.17	ns	-	-	-	-	133.72
			M2	1.48	.	0.38	ns	0.08	ns	-0.92	ns	127.64
	2006	M1	1.23	*	0.27	ns	-	-	-	-	161.39	
		M2	1.49	**	0.59	ns	0.16	ns	-0.86	ns	146.81	
		M3	1.42	*	0.69	ns	-	-	-	-	163.88	
		M4	1.44	*	0.96	*	0.17	ns	0.59	ns	158.04	
	2007	M1	1.47	*	0.69	ns	-	-	-	-	146.74	
		M2	1.56	*	0.80	ns	0.44	ns	-0.41	ns	137.27	
		M3	1.12	**	0.83	*	-	-	-	-	150.58	
		M4	1.36	**	1.13	*	0.03	ns	-0.76	ns	138.96	

¹ Annual evaluations, being evaluation 1 of Orchard 1 = 2nd year after planted, Orchards 2 = 9th year and Orchard 3 = 7th year after planted.

² Parametrizations of autologistic model were: M1= Current Time: row and row spacing; M2= Current Time: row, row spacing and diagonal; M3= Former time: row and row spacing; M4= Former time: row, row spacing and diagonal.

³ Diagonal towards (1,1).

⁴ Diagonal towards (-1,1).

⁵ AIC, the lower the value the better fit.

⁶Significance of the coefficients estimated by the Monte Carlo method: "***"p<0.01; "**"p>0.01 and <0.05,

"."p>0.05 and <0.10; "ns" = not significant.

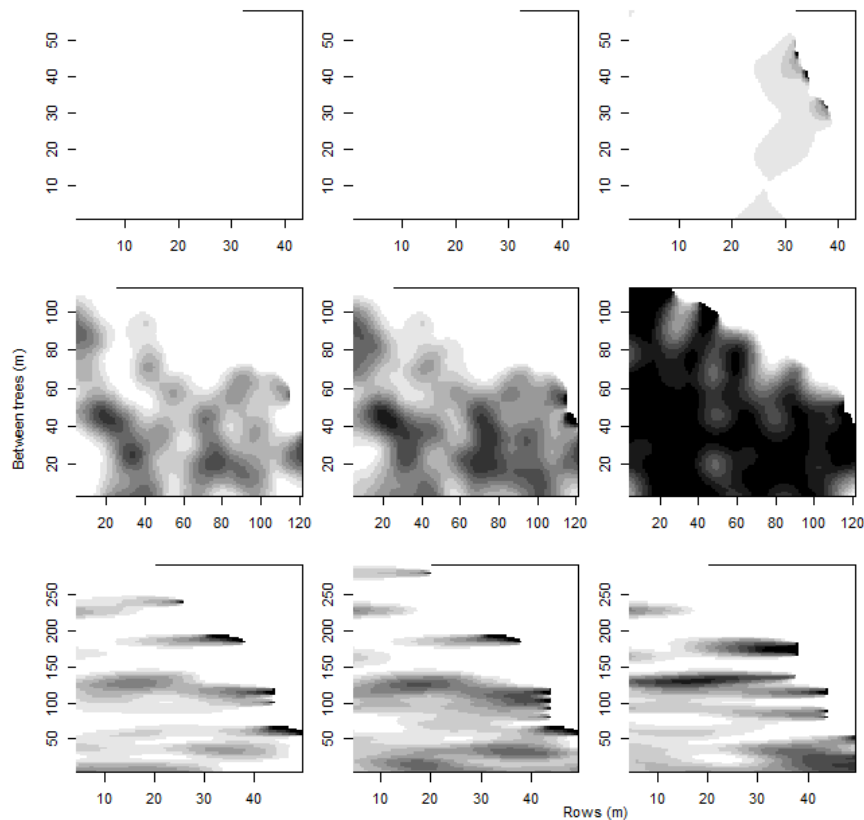


Figure 1. Maps of the intensity of Plum Leaf Scald incidence in four years of evaluations, by kernel smoothing method.

From the left side, Line 1 data in Orchard 1 in different years of evaluations from 2000 to 2003, Line 2 the different years of evaluations in Orchard 2, from 2005 to 2007 and Line 3 the different years of evaluations in Orchard 3, from 2005 to 2007. Municipality of Paranapanema, São Paulo State, Brazil.

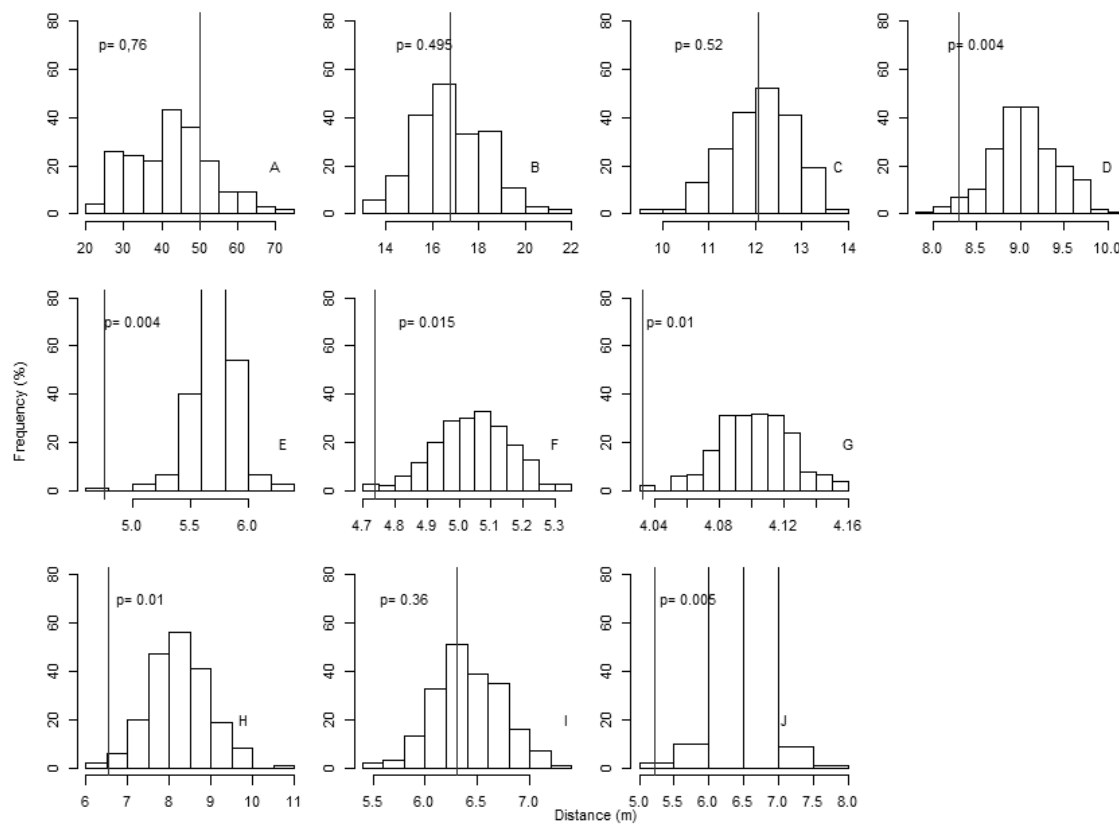


Figure 2. Frequency of average minimum distances between plants and its neighbors with Plum Leaf Scald symptoms, mean observed showed by the vertical single line and theoretical frequencies by the bars.

Orchard 1. A = 2000; B = 2001; C = 2002, D = 2003, Orchard 2. E = 2005; F = 2006; G = 2007, Orchard 3. H = 2005; I = 2006; J = 2007. The probability (p) indicates whether there is a statistical difference between the studied population and a simulated population with random pattern. Municipality of Paranapanema, São Paulo State, Brazil.

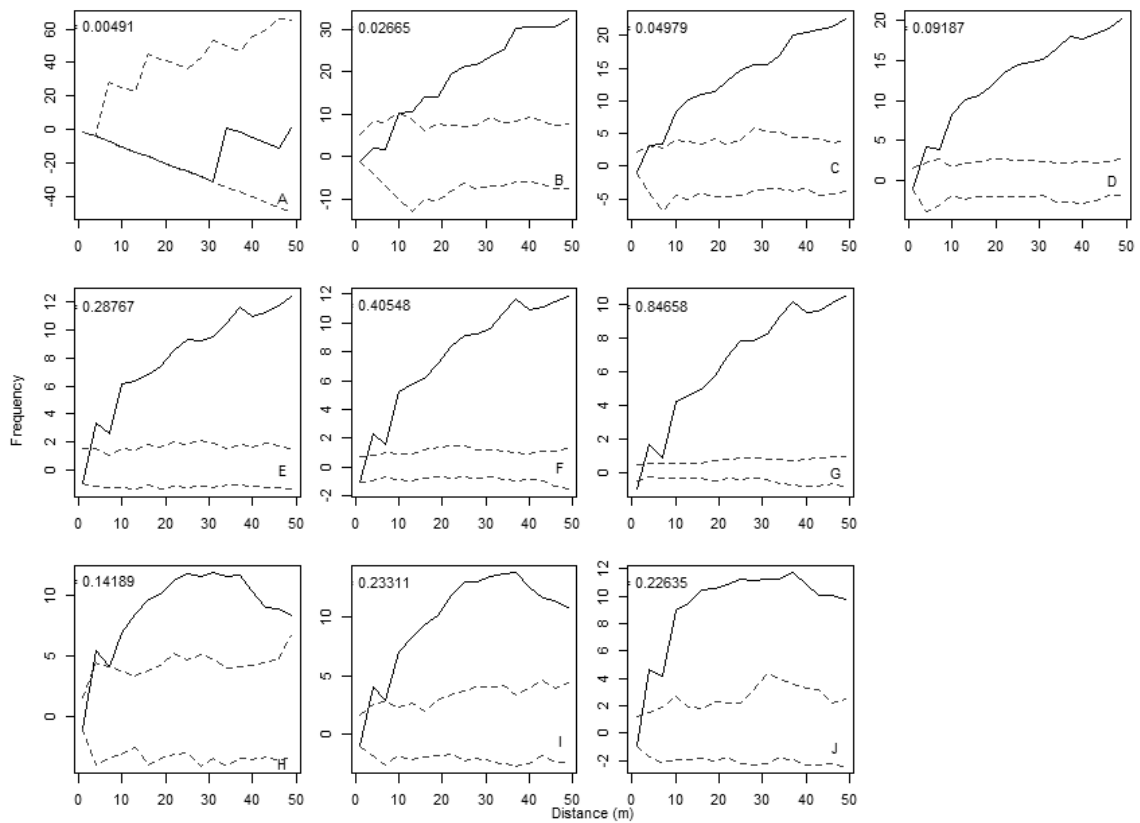


Figure 3. Ripley's K Function fitted to Plum Leaf Scald incidence data in Orchard 1. The dashed line indicates the function's confidence envelope. Values within this range indicate randomness and values above it indicate aggregation.

Orchard 1. A = 2000; B = 2001; C = 2002; D = 2003, Orchard 2. E = 2005; F = 2006; G = 2007, Orchard 3. H = 2005; I = 2006; J = 2007. Municipality of Paranapanema, São Paulo, Brazil.

4EPIDEMIOLOGIA DA ESCALDADURA FOLIAR DA AMEIXEIRA EM POMARES NO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL¹

RESUMO

A Escaldadura Foliar da Ameixeira (EFA) é o principal entrave ao cultivo da ameixeira (*Prunus salicina*) no Brasil. Objetivando compreender o padrão espaço-temporal de avanço da doença a campo, avaliou-se quatro pomares comerciais em municípios da porção Leste do Estado do Paraná, de 2010 a 2015, quanto à incidência e severidade de EFA. As quantidades de cigarrinhas (Cicadellidae) foram monitoradas com armadilhas adesivas amarelas trocadas mensalmente por 3 anos, em duas alturas (0,50 e 1,9m do solo). Foi realizada análise descritiva da incidência pelo método da Suavização por Kernel, de padrão espacial com acréscimo de informação contínua (distância) pelo método da distância mínima média (DMM) e a estrutura de dependência espacial em função das vizinhanças das plantas pelo modelo autológico. Os dados de cigarrinhas foram analisados descritivamente por propriedade e quanto às médias regionais (dados das propriedades juntas) em relação à safra, município, mês de avaliação e altura da armadilha. Verificou-se agregação de EFA, com início aleatório da epidemia pelos métodos testados, ainda que com padrão de início pelas bordas dos pomares pela análise descritiva e maior probabilidade de aumento em plantas de uma mesma linha de plantio. A safra 2014/15 foi a de maior ocorrência de cigarrinhas, assim como as armadilhas na altura a 0,5m solo considerando-se os dados de todos os pomares. Entre os pomares, Lapa apresentou a maior média de cigarrinhas. Concluiu-se padrão espacial agregado de EFA, com aumento preferencial dentro das linhas de plantio e com início preferencial da doença pelas bordas dos pomares.

Palavras-chave: *Xylella fastidiosa*, fruticultura, Manejo Integrado de Doenças, Análise espacial.

¹ Artigo nas normas da revista European Journal of Plant Pathology.

EPIDEMIOLOGY OF PLUM LEAF SCALD ON PARANA STATE, BRAZIL

ABSTRACT

The Plum Leaf Scald (PLS) is the main obstacle to the plum cultivation (*Prunus salicina*) in Brazil. Aiming to describe the spatial pattern of PLS under field conditions, were evaluated four commercial orchards in municipalities of eastern Parana State (South Brazil), from 2010 to 2015, the incidence and severity of PLS, also monitoring with yellow sticky traps quantities of leafhoppers (*Cicadellidae*), changed monthly for 3 years, in two heights (0.50 and 1.9m ground). Descriptive analysis of the incidence was performed by the by Kernel Smoothing method, spatial pattern with increased continuous information (distance) by the Average Distance Method and the spatial dependence structure according to the neighbouring of the plants by autologistic model. The sharpshooters data were analyzed descriptively and regional averages (data of municipalities together) were compared by Tukey test in relation to the year, municipality, month of evaluation and height of the trap. The PLS showed aggregated pattern, with random beginning of the epidemic by statistical methods, eventough with beginning related to the edges by the descriptive analysis and most likely increased in plants of the same row planted by autologistic model. In Lapa there was the highest number of sharpshooters, as in 2014/15 year, with the highest concentration of leafhoppers in the trap at 0.5m ground. It was concluded PLS showed aggregated pattern, with increasing preference in the rows beginning preferentially at the edges of orchards.

Keywords: *Xylella fastidiosa*, fruticulture, Integrated Disease Management, Spatial analysis.

4.1 INTRODUÇÃO

A Escaldadura Foliar da Ameixeira (EFA) é causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* (Wells) (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae), que se desenvolve restrita nos vasos do xilema de ramos, raízes e folhas. Esta bactéria é habitante do xilema de várias espécies de plantas com interesse econômico, como videira, pessegueiro, amendoeira, ameixeira, carvalho, amoreira, citrus e cafeeiro (Hartung et al. 1994).

Por muito tempo, *X. fastidiosa* foi uma espécie causadora de doenças em várias espécies de plantas apenas no continente americano, com relatos ainda não devidamente confirmados de organismos semelhantes encontrados em Taiwan, no Irã e Turquia. Porém, a recente confirmação da introdução de *X. fastidiosa* na Itália em oliveiras, carvalho e amendoeiras representou uma mudança importante na distribuição geográfica do patógeno (Guldur et al. 2005, Saponari et al. 2013, Su et al. 2013, Amanifar et al. 2014, Almeida e Nuney 2015).

Esta espécie apresenta certa diversidade filogenética, com quatro subespécies conhecidas atualmente, sendo elas: *fastidiosa*, *pauca*, *multiplex* e *sandyi*, estando estas relacionadas à sua localização geográfica. Além da subespécie *morus* recentemente proposta. Isolados relacionados à EFA no Brasil pertencem à subespécie *multiplex*, sendo o único caso desta subespécie na América do Sul, indicando a introdução de material infectado como provável forma de origem (Almeida e Retchless, 2013).

Ao todo, 62,5% das mudas avaliadas em viveiros na Região Serrana do Rio Grande do Sul mostraram resultados positivos quanto à presença de patógenos que causam degenerescência e/ou morte de ameixeiras (incluindo *X. fastidiosa*), segundo levantamento realizado em viveiros de quatro regiões produtoras, nos Estados brasileiros de Santa Catarina (Videira-SC e São Joaquim-SC) e Rio Grande do Sul (Pelotas-RS e Região Serrana-RS). Os autores realizaram levantamento também em pomares nas mesmas regiões, observando o maior número de pomares com amostras positivas na mesma região acima citada, com 52,7%, confirmando a importância das mudas na disseminação da doença, e seu provável efeito na distribuição espacial da doença a campo (Castro 2008).

Diversas espécies de cicadélíneos, conhecidas popularmente por cigarrinhas (Cicadellidae), sugam a seiva das plantas diretamente dos vasos do xilema, caracterizando-se como o principal vetor na disseminação da bactéria nos diferentes hospedeiros (Redak et al. 2004). A grande capacidade de transmitir a bactéria, que algumas espécies de cigarrinhas

possuem é suficiente para considerar estes insetos como pragas de importância significativa dentro da cultura da ameixeira (Muller 2008).

Além destas formas mais aceitas, Krell et al. (2007) verificaram 5% de eficiência na transmissão do patógeno por tesouras de poda em videiras. Esta eficiência é considerada baixa, porém presente, o contrário do que muitos pesquisadores sinalizam, podendo os tratamentos culturais servir também como fonte de disseminação de *X. fastidiosa* em alguns patossistemas. Na Região Leste do Estado do Paraná, é comum os fruticultores realizarem a poda dos ramos abaixo do ponto onde os sintomas são observados em uma determinada perna, não sendo esta prática comprovadamente eficaz cientificamente (comunicação pessoal). Apesar de todo o conhecimento quanto às formas de disseminação, não há manejo químico ou mesmo cultural recomendado tecnicamente para esta doença. Diante disso, para seu controle recomendam-se a prevenção à entrada do patógeno e o incessante controle dos vetores (Andrade 1995).

Dados espaciais binários, como a incidência de doenças em plantas, aparecem frequentemente em diversas ciências como a ecologia, agricultura, epidemiologia, geografia e a análise de imagens (Hughes et al. 2011). Por definição, padrão espacial em fitopatologia denota a distribuição de plantas doentes, umas em relação às outras e à arquitetura do hospedeiro (Gilligan 1982).

É neste contexto que a detecção de padrões espaciais se faz necessária, visando a possibilidade de foco local das estratégias de controle. A análise desses padrões pode conduzir a inferências sobre as características da epidemia, e permite o desenvolvimento de hipóteses sobre fatores ambientais e biológicos para a associação entre propágulos de patógenos, vetores e plantas doentes (Madden et al. 2007), logo podendo servir juntamente com o monitoramento dos vetores, como subsídio à estratégias mais eficientes de controle. Apesar dos trabalhos com diferentes espécies mostrarem tendência à agregação nas doenças causadas por *X. fastidiosa* (Roberto et al. 2002; Laranjeira et al. 2004; Groves et al. 2005; Rocha et al. 2010), as particularidades climáticas em diferentes regiões, a quantidade e sazonalidade de ocorrência dos vetores, a diversidade dos espaçamentos e dos ciclos das espécies podem interferir no padrão espacial.

No Brasil, a partir da década de 90, o desenvolvimento de cultivares de ameixeiras que possibilitam a extensão da vida útil dos pomares mesmo após a infecção pela bactéria tem permitido que os agricultores convivam com o problema em algumas regiões. Entretanto, há exigência de maior conhecimento para nortear o manejo mais eficiente do pomar nesta condição, incluindo adubação equilibrada, disponibilidade hídrica, retirada de material doente

e principalmente, controle dos insetos vetores (Dalbó e Feldberg 2009). Diante disso, e da ausência de trabalhos epidemiológicos e espaciais específicos sobre EFA, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a presença e caracterizar o padrão espaço-temporal da incidência, com acréscimo de informações de potenciais vetores e da severidade da doença na Região Leste do Estado do Paraná, Região Sul do Brasil.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Descrição das áreas experimentais

O presente estudo foi realizado em 4 pomares comerciais de ameixeira (*Prunus salicina*), situados nos municípios de Araucária, Lapa, Porto Amazonas e Palmeira que pertencem à Região Leste do Estado do Paraná (Tabela 1 e Figura 1). Essa região é denominada de Primeiro Planalto Paranaense, com altitude média de 900 metros. Todos os pomares apresentavam relatos prévios de sintomas de EFA. O clima da região pertence ao tipo Cfb, clima subtropical mesotérmico, segundo a classificação climática de Köppen. Com temperaturas médias dos meses mais frios entre 13°C a 14°C, e temperaturas médias nos meses mais quentes entre 23°C a 24°C. A temperatura média anual encontra-se entre 17°C a 18°C, sem estação seca definida, com pluviosidade anual entre 1400 a 1600 mm, sendo a média nos meses mais secos entre 250 a 350 mm, e nos meses mais chuvosos entre 400 a 500 mm.

As cultivares plantadas nestes pomares foram Irati e Reubennel (Tabela 1), com a primeira sendo considerada altamente suscetível à ocorrência da EFA e a segunda moderadamente suscetível no Sul do país e suscetível na Região Sudeste (Dalbó e Feldberg 2009; Muller 2013).

4.2.2 Avaliações de incidência e severidade de EFA

As avaliações de EFA foram realizadas observando-se as plantas quanto à presença ou não dos sintomas típicos da doença, entre os meses de janeiro a março de cada ano, nos anos de 2010 a 2015 em pomares de Araucária, Porto Amazonas e Palmeira, e nos anos de 2013 a 2015 no pomar de Lapa. Os meses de avaliação denotam o período de pós-colheita na região de estudo, quando são observados os sintomas.

Foram avaliadas as plantas de todos os pomares entre os meses de janeiro a março do ano 2015 quanto à severidade de EFA, com o auxílio de uma escala categórica de notas entre 0 a 5, que denotava a Nota 0: Ausência de sintomas; Nota 1: Sintomas apenas em folhas situadas em pontas de ramos; Nota 2: Sintomas em folhas não só nas pontas de ramos de uma pernada; Nota 3: Sintomas em folhas não só em pontas de ramos, em mais de uma pernada; Nota 4: Sintomas em folhas generalizadas e presença de uma pernada seca; Nota 5: Plantas com seca de ramos generalizada e NA: Plantas mortas ou cortadas.

4.2.3 Análise espacial de EFA

Como método descritivo aos dados da incidência foi utilizado a suavização por kernel. Esta é uma técnica não paramétrica muito utilizada para mapear e estimar a distribuição dos pontos no espaço, tendo como objetivo interpolar um valor de intensidade para cada célula de uma grade considerando uma função simétrica, centrada na célula, utilizando-se para o cálculo os pontos situados em uma raio fixo (Bailey e Gatrell 1995, Barbosa et al 2014). Os parâmetros utilizados para determinação dos mapas neste trabalho foram: o raio considerado para suavização foi de 10 metros, e a escala de cores global entre os mapas nos diferentes anos de avaliação em um mesmo pomar, não permitindo assim a comparação entre mapas dos diferentes pomares.

Foram calculadas as distâncias mínimas médias (DMM) entre plantas doentes, buscando-se a detecção de padrões espaciais (agregação ou aleatoriedade) da incidência da doença, com acréscimo de informação contínua (distância). O cálculo da DMM consiste na média das distâncias entre cada planta doente e a planta doente imediatamente próxima desta, onde espera-se que para padrão agregado a média seja menor do que para padrão aleatório (Sposito et al 2007). A esta média calculada, compara-se uma média obtida por um teste de simulação de Monte Carlo, neste trabalho obtida com 199 simulações, considerando-se populações com distribuição aleatória como hipótese nula.

A representação gráfica do método mostra a distância em metros no eixo x, em função da frequência de plantas doentes (eixo y) para a população simulada na forma de barras e uma linha cheia mostrando o valor médio calculado para a amostra avaliada.

Para a descrição da presença ou não de padrão espacial do avanço da incidência em função de cada indivíduo (planta) e sua estrutura de vizinhança, ajustou-se aos dados o modelo autolístico (Besag 1972). O modelo considera o status da planta como resposta binária, sendo que os parâmetros de regressão estimados em seu ajuste refletem a estimativa

do acréscimo na probabilidade de se observar a doença. Para verificação da significância dos parâmetros estimados, foi realizada a reamostragem via método de Monte Carlo, com 99 simulações, testando-os quanto à hipótese de aleatoriedade (ausência de dependência espacial).

Como covariáveis da estrutura de vizinhança foram consideradas observações em plantas adjacentes de uma mesma fileira ou em fileiras adjacentes (entrelinhas). Considerando vizinhos da mesma fileira e fileiras vizinhas separadamente, obtêm-se o grau da dispersão da doença em diferentes direções (Gumpertz et al 1997).

No presente trabalho o modelo foi testado sob quatro diferentes parametrizações: M1 – dados do tempo atual, com vizinhanças nas linhas e entrelinhas; M2 – dados do tempo atual, com vizinhanças nas linhas, entrelinhas e diagonais; M3 – dados do tempo anterior, com vizinhanças nas linhas e entrelinhas; M4 – dados do tempo anterior, com vizinhanças nas linhas, entrelinhas e diagonais.

A determinação da parametrização que melhor explicava a dispersão da doença foi obtida pela comparação entre os valores do Critério de Informação de Akaike (C.I.A.), para o qual o menor valor denota o melhor ajuste. Todas as análises deste trabalho foram realizadas no software R (R Development Core Team 2015), com o pacote R *Citrus* (Krainski e Ribeiro Jr. 2006).

4.2.4 Monitoramento de cigarrinhas

Nos pomares comerciais avaliados quanto à incidência de EFA, foram monitoradas 10 plantas, distribuídas como 2 plantas em 5 linhas de plantio. Em cada linha amostrada foram monitoradas a 5ª e a 30ª planta a contar do início da linha, sendo que na linha subsequente foram monitoradas as 5ª e 30ª plantas a contar do final da linha de plantas, denotando assim um caminhamento em forma de “Z” em cada pomar. Os tratamentos fitossanitários foram realizados dentro das recomendações de cada um dos responsáveis técnicos.

Foram utilizadas armadilhas adesivas amarelas de tipo cartão (Bio Trap® - Biontrole Métodos de Controle de Pragas Ltda. – Indaiatuba-SP, Brasil) em duas alturas: uma armadilha presa à copa da planta a 1,9 m do solo e uma segunda fixada com pregos a uma estaca de madeira distante 0,5 m do solo. As armadilhas foram instaladas a partir da safra 2012/13 até a safra 2014/15 (3 anos de avaliações) e substituídas a cada 30 dias. Estas armadilhas foram conduzidas ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo Integrado de Doenças (LEMID), no

Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, onde com o auxílio de lupas, pinças e estiletos entomológicos foram quantificadas as cigarrinhas (Hemiptera: *Cicadellidae*).

Os dados médios de coleta foram dispostos de duas formas. Primeiramente nos dados juntos de todas as propriedades (dados gerais da região) os quais foram calculadas as médias por ano de avaliação, por propriedades, por meses de coleta e nas diferentes alturas, não aplicando-se testes de médias em função da inconsistência entre meses de avaliações entre os anos. Também descritivamente, foram divididos os dados coletados em cada propriedade (município) e calculadas as médias de cigarrinhas nas 10 armadilhas em cada data de avaliação, dividindo-se estas entre as duas alturas avaliadas e os anos de avaliação.

4.3 RESULTADOS

A incidência de EFA no período avaliado variou entre 6,4 e 85,7% no pomar situado no município de Araucária; de 14,2 a 25,8% em Lapa; entre 6,5 a 95,5% em Palmeira e de 0 a 13,3% em Porto Amazonas no período avaliado (Figura 2), com forte avanço no último ano de avaliação nos Pomares de Araucária, Palmeira e Porto Amazonas. Nos pomares de Araucária e Lapa observou-se o início e a maior intensidade de EFA pelas bordas destes pomares, de acordo com os mapas de plantas doentes (Figura 3) e da intensidade de plantas doentes gerado pelo método da suavização por kernel (Figura 4). No Pomar de Porto Amazonas, verificou-se também uma maior intensidade em plantas da borda do pomar com o passar dos anos de avaliação, porém sem este padrão no início. Em Palmeira não se observou este padrão de início ou maior concentração nas bordas.

Na Figura 5, observou-se a maior porcentagem de plantas doentes classificadas com a menor nota de severidade (nota 1), apresentando apenas sintomas em folhas nas pontas de ramos. Exceção feita ao pomar de Palmeira, onde 30% das plantas doentes apresentavam sintomas em folhas generalizados entre os quadrantes das copas das árvores (nota 3). Destacou-se também o lento avanço nas plantas dos pomares de Porto Amazonas e Lapa, algo também demonstrado pelos dados de incidência (Figuras 2, 3 e 4).

Foi observado padrão aleatório da doença no primeiro ano de avaliação do pomar em Palmeira, pelo método da distância mínima média (DMM), quando 6,5% das plantas estavam doentes (Figura 6). Ao contrário de Araucária, onde a epidemia apresentou início agregado mesmo com incidência semelhante à Palmeira no primeiro ano de avaliação (6,4%). Os valores de DMM observados nestas duas áreas variaram entre a primeira e a última avaliação

de 6,6 a 1,6 metros em Araucária e 11,0 a 4,0 metros em Palmeira, lembrando que há diferença entre espaçamentos de plantas nestes dois pomares (5,0m x 1,5m e 6,0m x 4,0m respectivamente). Nestes dois pomares, observou-se que a doença evoluiu de tal forma, a ponto de na última avaliação a incidência apresentar padrão espacial aleatório por este método ($p > 0,05$), confirmando-se em ambos os casos as impressões observadas na análise descritiva pela suavização por kernel.

Com incidência entre 14 a 25% (Figura 2), Lapa apresentou agregação da doença nos três anos de avaliações, com valores de DMM entre 2,8 e 2,5m no período avaliado. Enquanto em Porto Amazonas, observou-se início aleatório (0,09 até 4,9% de incidência) e verificou-se agregação das plantas com sintomas apenas no último ano de avaliação com incidência a 13,4%, e valores de DMM entre 27,8 a 3,4 metros nas datas de avaliação (Figura 6).

Não houve ajuste significativo do modelo autologístico aos dados de incidência na primeira avaliação (ano de 2010) nos pomares de Araucária, Palmeira e Porto Amazonas, mostrando que a dependência espacial de plantas nas vizinhanças de mesma linha, entrelinhas e diagonais não explicavam satisfatoriamente as probabilidades de ocorrência da doença na incidência observada naquele momento (Tabela 2). Em Porto Amazonas, somente no último ano de avaliação (2015) o modelo autologístico mostrou parâmetros significativos, reforçando a ausência de padrão espacial da epidemia observada também pelo método da DMM. Em contrapartida, em Lapa as parametrizações do modelo testadas apresentaram pelo menos um parâmetro significativo ($p < 0,05$) em todas as datas de avaliações.

Verificou-se que modelos com parametrização explicativa, ou seja, considerando o tempo atual como covariável (M1 e M2) apresentaram melhor ajuste na maioria dos anos de avaliações nos diferentes municípios, considerando-se o valor do CIA. Exceto às últimas avaliações dos pomares de Araucária e Palmeira, quando a parametrização do modelo autologístico que considerava a condição anterior foi a que melhor explicou a dependência espacial, trazendo caráter preditivo aos modelos selecionados.

Ainda de acordo com o modelo autologístico, observou-se que o parâmetro de dependência espacial de plantas em uma mesma linha de plantio foi o que melhor explicou a epidemia, por este parâmetro ser significativo em todos os pomares e sempre com o maior valor absoluto estimado nos modelos de melhor ajuste, indicando maior probabilidade de sentido para o aumento da doença. No pomar de Palmeira, desde os primeiros anos de avaliações os parâmetros das diagonais se mostraram significativos, confirmando o que foi observado na representação descritiva pelo método da suavização por kernel (Figura 4).

Considerando-se conjuntamente dados de todas as propriedades (Tabela 3) observou-se que 2014/15 foi a safra com maior média de cigarrinhas, e o mês com maior média nas safras amostradas foi novembro (1,27 cigarrinha por armadilha), ainda que seguido de perto por janeiro (1,22 cigarrinha). As armadilhas posicionadas com altura a 0,50m de distância do solo foram as que mais apresentaram insetos nos três anos de monitoramento (1,20 cigarrinha por armadilha), com as coletas em armadilhas a 1,9m do solo apresentando média de 0,90 cigarrinha por armadilha. O pomar em Lapa apresentou maior média de cigarrinhas por armadilha entre todas as avaliações (2,03 cigarrinhas por armadilha) bem acima de Palmeira (1,00 cigarrinha), de Araucária (0,86 cigarrinha) e de Porto Amazonas com 0,30 cigarrinha por armadilha.

Já nos dados divididos por avaliação e por propriedade nas diferentes alturas (Figura 7), Araucária apresentou médias entre 0,10 e 2,30 cigarrinhas por armadilha, Porto Amazonas entre 0 e 1,20 cigarrinhas, Palmeira entre 0,10 e 4,9 cigarrinhas e Lapa de 0,1 a 4,9 cigarrinhas.

4.4 DISCUSSÃO

Apesar da aplicação de alguns destes métodos estatísticos para análise espacial já ter sido realizada para outros patossistemas e para EFA no Estado de São Paulo (Capítulo 1 desta tese) este foi o primeiro trabalho de análise espacial e temporal da Escaldadura Foliar da Ameixeira no Estado do Paraná, considerando 6 safras e pomares em 4 municípios. O padrão espacial agregado de EFA foi prevalente nas áreas de estudo, algo que sugere o sucesso de medidas de controle focadas no entorno de plantas doentes. A doença iniciou e/ou progrediu posteriormente com maior intensidade pelas bordas dos pomares, observando-se uma maior probabilidade de aumento da doença em plantas de uma mesma linha de plantio.

O padrão agregado da doença, observado com o passar dos anos pelos diferentes métodos nos pomares avaliados se mostra de acordo com a maioria dos estudos em patossistemas que tem *X. fastidiosa* como agente causal como a Atrofia dos Ramos do Cafeeiro (Rocha et al. 2010); o Enrolamento da Folha da Amendoeira (Groves et al. 2005) e a Clorose Variegada do Citrus (Roberto et al. 2002; Laranjeira et al. 2004) e também em patossistemas correlatos como o HLB (Gottwald et al. 1989; Gottwald et al. 1991; Bassanezi et al. 2005).

A análise de padrões espaciais de doenças pode conduzir a inferências sobre as características da epidemia, e permite o desenvolvimento de hipóteses sobre fatores

ambientais e biológicos para a associação entre propágulos de patógenos e plantas doentes (Madden et al. 2007). Neste trabalho, em função da agregação na maior parte das avaliações e pelas pequenas distâncias pelo método da DMM, pode-se inferir a grande importância das infecções secundárias no avanço das incidências, algo que pode também ser verificado ao se observar o gráfico de avanço temporal das incidências, com as curvas não se assemelhando ao padrão do modelo monomolecular, típico das epidemias dependentes exclusivamente de inóculo externo. Ainda com relação à evolução da doença ao longo do tempo, em Porto Amazonas verificou-se padrão semelhante ao modelo exponencial, que é a fase inicial do modelo logístico segundo Bergamin Filho (1995). Este foi o pomar de menor incidência no período de estudo.

O aumento expressivo da incidência de EFA no ano de 2015 em todos os pomares avaliados pode ser atribuído à baixa precipitação observada neste ano, confirmando aquilo que McElrone et al. (2001) e Habbermann et al. (2003) observaram com relação aos efeitos do estresse hídrico aumentando a expressão dos sintomas de doenças causadas por *X. fastidiosa* em diferentes espécies. Este aumento pode estar ligado ao fato de não ter havido produção no ano anterior por conta de geadas tardias, havendo portanto baixo investimento em fertilização e tratos culturais por parte dos produtores.

A maior concentração de plantas doentes nas bordas dos pomares se deve ao padrão de entrada na área dos vetores (cigarrinhas) que habitam a vegetação do entorno dos pomares (Redak et al. 2004). Algo observado também em patossistemas correlatos como o HLB, onde os vetores também não tem grande capacidade de vôo e o foco inicial de plantas doentes ocorreu nos limites da fazenda em estudo realizado por Leal et al. (2010), com posterior expansão da doença por toda a área.

Além disso, nas bordas dos pomares de Lapa e Araucária onde estes padrões foram evidentes, havia maciços arbóreos utilizados com a função de quebra-ventos, podendo esta concentração inicial de plantas doentes ser explicada pelo efeito da infecção de *X. fastidiosa* na redução da eficiência fotossintética das plantas, mesmo naquelas ainda assintomáticas, de acordo com Ribeiro et al. (2003). Com este efeito sendo potencializado pelo sombreamento nas bordas destes pomares, reduzindo ainda mais a produção dos fotoassimilados e portanto debilitando as plantas, fazendo com que expressassem mais rapidamente os sintomas.

Uma das hipóteses da não observação clara do início da epidemia pelas bordas nos pomares de Porto de Amazonas e Palmeira seria a aplicação de bordaduras no planejamento da avaliação destes pomares, não sendo avaliadas todas as linhas e nem mesmo todas as plantas de cada linha, diferentemente das avaliações em Araucária e Lapa. Obviamente, somando-se a

isso a atuação simultânea de outras formas de disseminação da doença, como a contribuição de mudas infectadas (Castro 2008), afetando de forma diferente nos pomares em virtude da origem das mudas adquiridas.

O método de coleta utilizado neste estudo (armadilhas adesivas amarelas) não permite determinar se as cigarrinhas colonizam ou se alimentam de plantas situadas nas diferentes alturas, indicando apenas maior atividade dos vetores entre os estratos da planta (Ringenberg et al. 2010).

A maior quantidade de cigarrinhas na armadilha na menor altura de coleta para os dados regionais (médias dos quatro pomares) no Leste do Paraná se mostrou de acordo com o monitoramento realizado por uma safra em pomar comercial de ameixeira no Estado de São Paulo realizado por Schneider et al. (2016), que encontraram 8 espécies diferentes de cigarrinhas potenciais vetoras (Cicadellidae, Cicadellinae) e concordando também quanto ao fato do mês mais seco ter sido o de maior captura de insetos, semelhante ao observado no ano safra de 2014/15 no presente trabalho.

Mesmo com o maior número médio de cigarrinhas, Lapa não apresentou o avanço mais rápido da doença entre os pomares avaliados, sendo observada apenas 25% de incidência aos 11 anos de idade. Pode-se atribuir este menor acréscimo em relação aos demais devido ao plantio da cultivar Reubennel, considerada moderadamente suscetível por Dalbó e Feldberg (2009), enquanto a maior presença do vetor se deve a maior quantidade de matas no entorno daquele pomar (Redak et al. 2004). Em contrapartida, em Porto Amazonas observou-se a mais baixa presença do vetor e o menor avanço da doença, com a ausência de matas ou lavouras no entorno contribuindo para maior eficiência dos controles realizados dentro da propriedade e a menor contribuição do inóculo externo.

Os municípios de Araucária e Palmeira apresentaram semelhante média de cigarrinhas entre si, e houve avanço muito mais rápido da doença em comparação com os demais em Araucária, com 85% de incidência aos 11 anos, contra 95% de incidência aos 18 anos em Palmeira. As explicações para a diferença no avanço da doença entre ambos seriam o espaçamento entre plantas, menor em Araucária e a eventual preferência de cigarrinhas por lugares mais sombreados (pomares), uma vez que o entorno deste pomar é formado por áreas de lavouras.

No Brasil há a necessidade de novas variedades para superação das limitações ao avanço dessa cultura (Simonetto et al. 2013). Mesmo com ausência de cultivares resistentes, o plantio de cultivares que convivem por mais tempo com a doença como Letícia, Reubennel e Gulfblaze tem possibilitado a extensão da vida útil dos pomares, permitindo que os

agricultores convivam com a doença em algumas regiões (Dalbó e Feldberg, 2009). Isso se aplicou à Região Leste do Estado do Paraná, porque mesmo com elevadas porcentagens de incidência (até 95%) a frequência foi maior de plantas com as menores notas de severidade (sintomas em pontas de ramos), mesmo em pomares com 9 a 18 anos de idade, períodos de exploração que asseguram a viabilidade econômica da atividade.

A diferença da velocidade de aumento da doença entre regiões fica clara ao observarmos que nos dados de pomares plantados somente com a cultivar Reubennel no Estado de São Paulo (Capítulo 1 desta tese) a incidência em pomar com 9 anos era de 23,3% e pomar com 11 anos de 80,3%, avançando mais rapidamente do que em pomares somente com a cultivar Reubennel avaliados no Estado do Paraná (pomar em Porto Amazonas com 9 anos e 14% de incidência e pomar Lapa com 11 anos de idade e 25% de incidência), mesmo com manejo considerado mais intensivo e tecnificado nos pomares do Estado de São Paulo. Esta diferença se deve principalmente com relação ao clima afetando a fisiologia das plantas e o padrão de ocorrência dos vetores como quantidade, qualidade (espécies) e a sazonalidade de cigarrinhas (Muller 2008) e ainda o comportamento do patógeno.

A maior probabilidade de aumento da doença dentro de uma mesma linha de plantio evidenciada pelo modelo autológico e pela visualização descritiva das plantas com sintomas foi também observada para a incidência da Doença de Pierce da Videira (*X. fastidiosa*) na Califórnia-EUA pelo método de *ordinary runs* (Tubajika et al. 2004), sendo isso atribuído à menor distância entre plantas neste sentido do que nas entrelinhas, facilitando a movimentação dos vetores. No entanto, cabe a ressalva de que a distância entre plantas não é um fator predominante, já que a condução de ameixeiras utilizada pelos produtores na Região Leste do Paraná faz com que as copas formem uma espécie de túnel, ligando-as em todas as direções (linhas e entrelinhas).

Na clorose variegada do citrus (*X. fastidiosa*), estudos preliminares de Gottwald et al. (1993) mostravam a maior prevalência de incremento da doença em plantas nas diagonais e entrelinhas em um pomar de espaçamento 8m x 6m, ou seja, podendo ocorrer também em distâncias maiores de disseminação do que a distância entre plantas vizinhas de uma mesma linha, também usando o método *ordinary runs*. Na região leste do Estado do Paraná, as parametrizações escolhidas como de melhor ajuste apresentaram parâmetro de diagonais significativo apenas em Palmeira, o pomar de maior espaçamento (6 x 4m).

Em estudo mais abrangente sobre o padrão espacial da incidência de CVC realizado por Laranjeira et al (2004), concluiu-se que não se podia considerar a doença com disseminação predominante ao longo ou entre linhas de plantio, de planta a planta, concluindo

assim não haver a possibilidade de considerar a interferência humana como fonte de sua disseminação, baseado-se no observado em três regiões no Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil. No entanto, visando avaliar a eficiência das formas de transmissão e disseminação da doença de Pierce em videiras (*X. fastidiosa*), Krell et al (2007) observaram 5% de eficiência na transmissão do patógeno por tesoura de poda.

É importante salientar que diferentemente da videira, na cultura do citros no Estado de São Paulo, à época não eram realizadas operações frequentes de poda. Porém em ameixeiras na região Leste do Estado do Paraná são realizadas anualmente pelo menos 4 podas, sendo elas poda de inverno, poda de produção, poda verde e poda de limpeza (comunicação pessoal), algo que potencializaria a transmissão por este método. Faz-se necessária a realização de estudos em ameixeiras quanto à eficiência da transmissão do patógeno por poda em diferentes fases fenológicas, devido à esta diferença de manejo em relação às demais culturas e o padrão recorrente de aumento da doença nas linhas de plantio.

Os resultados deste estudo podem ajudar os produtores a desenvolver estratégias de controle da doença, enfocando os métodos mais eficientes para controlar vetores nas bordas dos pomares (inseticidas aplicados no solo) e antes do início dos sintomas pulverizações regulares de inseticidas via aérea em todas as plantas para conter a entrada de vetores infectivos. Depois do aparecimento de plantas doentes podem ser recomendadas medidas de controle focadas em plantas nas mesmas linhas das doentes (como a poda, erradicação e replantio), além do controle local de vetores (aplicação de inseticidas no solo na linha e manejo de plantas nas linhas) e outros produtos ainda a serem testados e desenvolvidos futuramente, que afetem a colonização e multiplicação da bactéria dentro da planta.

4.5 REFERÊNCIAS

Almeida, R.P.P. & Retchless, A.C. (2013). *Xylella fastidiosa* diversity. Plant Pathology Bulletin, 22, 107-116.

Almeida, R.P.P. & Nunney, L. (2015). How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? Plant Disease, 99, 1457-1467.

Amanifar, N., Taghavi, M., Izadpanah, K., Babaei, G. (2014). Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* from grapevine and almond in Iran. Phytopathologia Mediterranea, 53, 318-327.

Andrade, E.R. (1995) Doenças do pessegueiro e da ameixeira e seu controle em Santa Catarina. EPAGRI, Florianópolis, Brazil (Boletim Técnico, 71).

Barbosa, N.F.M., Stosic, B.D., Stosic, T., Lopes, P. M.O., Moura, G. B. de A., Melo, J.S.P. (2014). Kernel smoothing dos dados de chuva no Nordeste. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18(7), 742-747.

Bassanezi, R.B., Busato, L.A., Bergamin Filho, A., Amorim, L., Gottwald, T.R. (2005) Preliminary spatial pattern analysis of Huanglongbing in São Paulo, Brazil. p.p. 341-355. In Hilf ME, Duran-Vila N., Rocha-Peña MA (eds.) Proc. 16th Conf. Intern. Organization Citrus Virol., Univ. California, Riverside.

Bailey, T.C., Gatrell, A.C. (1995). *Interactive spatial data analysis*. Longman, Essex, United Kingdom.

Bergamin Filho, A. (1995) *Epidemiologia: Conceitos e Objetivos*. In: Armando Bergamin Filho. (Org.). *Manual de Fitopatologia Vol. 1: Princípios e Conceitos*. 3ªEd. São Paulo SP. Ceres.

Besag, J. (1972). Spatial Interaction and the Statistical Analysis of Lattice Systems. *Journal of the Royal Statistical Society*, 36, 192-225.

Castro, L.A.S. (2008). *Monitoramentos realizados no cultivo da ameixeira na região sul do Brasil visando adaptação das recomendações técnicas*. Embrapa Clima Temperado. Documentos.

Dalbó, M.A.S., Feldberg, N.P. (2009). Novas cultivares de ameixeiras, Características e Polinização. In: *Proceedings of 11th Encontro Nacional sobre Fruteiras de Clima Temperado*, Fraiburgo, 2009, 23- 27.

Gilligan, C.A. (1982). Statistical analysis of the spatial pattern of *Botrytis fabae* on *Vicia faba*: a methodological study. *Transactions of the British Mycology Society* 79, 193-200.

Gottwald, T.R., Aubert, B., Zhao, X-Y. (1989) Preliminary analysis of citrus greening (Huanglungbin) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. *Phytopathology*, 79, 687-693.

Gottwald, T.R., Aubert, B., Huang K.L. (1991) Spatial pattern analysis of citrus greening in Shantou, China. p. 421-427. In Brlansky RH, Lee R.F., Timmer L.W. (eds.) *Proceedings of the 11th Conference of the International Organization of Citrus Virologist*, Univ. California, Riverside.

Gottwald, T.R., Gidtti, F.B., Santos, J.M., Carvalho, A.C. (1993). Preliminary spatial and temporal analysis of citrus variegated chlorosis in Brazil. In: *Proceedings of the 12th Conference of International Organization of Citrus Virologists* (pp. 327-335). Riverside 1993.

Groves, R.L., Chen, J., Civerolo, E.L., Freeman, M.W., Viveros, M.A. (2005). Spatial analysis of almond leaf scorch disease in the San Joaquin Valley of California: Factors affecting pathogen distribution and spread. *Plant Disease*, 89, 581-589.

Guldur, M.E, Caglar, B.K., Castellano, M.A., Ulnu, L., Guran, S., Yilmaz, M.A., Martelli, G.P. (2005) First report of almond leaf scorch in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 87, 246.

- Gumpertz, M.L., Graham, J.M., Ristaino, J.B. (1997). Autologistic Model of Spatial Pattern of *Phytophthora* Epidemic in Bell Pepper: Effects of Soil Variables on Disease Presence. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 2, 131–156.
- Habermann, G., Machado, E. C., Rodrigues, J. D., Medina, C. L. (2003). CO₂ assimilation, photosynthetic light response curves, and water relations of Pêra'sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 15(2), 79-87.
- Hartung, J.S., Bereta, J., Brlansky, R.H., Spisso, J., Lee R.F. (1994). Citrus variegated chlorosis bacterium. Axenic culture, pathogenicity, and serological relationships with other strains of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*, 84, 591-597.
- Hughes, J., Haran, M., Caragea, P.C. (2011). Autologistic models for binary data on a lattice. *Environmetrics*, 22, 857–871.
- Krainski, E.T. & Ribeiro Júnior, P.J. (2006). Software para análise estatística de dados de incidência de doenças em plantas. Disponível em: <<http://www.leg.ufpr.br/Rcitrus/>>. Acessado: 18 jan. 2016.
- Krell, R., Boyd, E., Nay, J., Park, Y., Perring, T. (2007). Mechanical and insect transmission of *Xylella fastidiosa* to *Vitis vinifera*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(2), 211-216.
- Laranjeira, F.F., Bergamin Filho, A., Amorim, L., Gottwald, T.R. (2004). Dinâmica espacial da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, 29, 56-65.
- Leal, R.M., Barbosa, J.C., Costa, M. G., Belasque, J., Yamamoto, P.T., Dragone, J. (2010) Spatial distribution of Huanglongbing (Greening) on citrus using geostatistic. *Revista Brasileiras de fruticultura*, 32, 808–818.
- Madden, L. V., Hughes, G., Bosch, F. (2007). The study of plant disease epidemics. *American Phytopathological Society (APS Press)*.
- McElrone, A.J., Seraldi, J.L., Forseth, I.N. (2001). Effects of water stress on symptomatology and growth of *Parthenocissus quinquefolia* infected by *Xylella fastidiosa*. *Plant Disease*, 85, 1160-1164.
- Muller, C. (2008). Análise faunística e flutuação populacional de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) potenciais vetoras de *Xylella fastidiosa* em pomares de ameixeiras nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, Brasil. MSc. Dissertation. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- Muller, C. (2013). *Xylella fastidiosa* de ameixeira: transmissão por cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) e colonização de plantas hospedeiras. Ph.D. Thesis. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria: <http://www.R-project.org>.

- Redak, R.A., Purcell, A.H., Lopes, J.R.S., Blua, M.J., Mizell, R.F., Andersen, P.C. (2004). The biology of xylem fluid feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology*, 49, 243-70.
- Ribeiro, R.V., Machado, E.C., Oliveira, R.F. (2003). Early photosynthetic responses of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62(3), 167-173.
- Ringenberg, R., Lopes, J.R., Botton, M., Azevedo-Filho, W.D., Cavichioli, R.R. (2010). Análise faunística de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) na cultura da videira no Rio Grande do Sul. *Neotropical Entomology*, 39(2), 187-193.
- Roberto, S.R., Farias, P.R.S., Bergamin Filho, A. (2002). Geostatistical analysis of spatial dynamics of citrus variegated chlorosis. *Fitopatologia Brasileira*, 27, 599-604.
- Rocha, J.G., Zambolim, L., Zambolim, E.M., Ribeiro do Vale, F.X. (2010). Temporal and spatial dynamics of coffee leaf scorch caused by *Xylella fastidiosa*. *Australasian Plant Pathology*, 239, 234-240.
- Saponari, M., Boscia, D., Nigro, F., Martelli, G.P. (2013). Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (Southern Italy). *Journal of Plant Pathology*, 95, 668.
- Schneider, N.A., Azevedo Filho, W., Muller, C., Lopes, J., Botton, M. (2016). Flutuação populacional e análise faunística de cigarrinhas (Cicadellidae) em pomar de ameixeira em Paranapanema, São Paulo, Brasil. *Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada* 1, 26-30.
- Simonetto, P. R.; Anzanello, R.; Fogaça, C. M.; Junges, A. H. (2013) Potential for Japanese plum (*Prunus salicina* L.) cultivation in Southern Brazil. *Acta Horticulturae*, 985, 229-233.
- Su, C.-C., Chang, C.J., Chang, C.M., Shih, H.T., Tzeng, K.C., Jan, F.J., Kao, C.W., Deng, W.L. (2013). Pierce's disease of grapevines in Taiwan: isolation, cultivation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Phytopathology*, 161, 389-396.
- Tubajika, K.M., Civerolo, E.L., Ciomperlik, M.A., Luvisi, D.A., Hashim, J.M. (2004). Analysis of the spatial patterns of Pierce's disease incidence in the lower San Joaquin Valley in California. *Phytopathology*, 94, 1136-1144.

Tabela 1. Características dos pomares avaliados quanto à distribuição espacial de Escaldadura Foliar da Ameixeira, pomares em quatro municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

	Araucária	Palmeira	Porto Amazonas	Lapa
Cultivares ¹	Irati / Reubennel	Irati / Reubennel	Reubennel	Reubennel
Orientação do pomar	Nordeste - Sudoeste	Nordeste - Sudoeste	Noroeste - Sudeste	Leste - Oeste
Número de árvores avaliadas	1333	520	1100	501
Ano de plantio	2004	1997	2006	2004
Período de avaliação	2010 a 15	2010 a 15	2010 a 15	2013 a 15
Espaçamento em metros	5,0 x 1,5	6,0 x 4,0	5,0 x 1,5	5,0 x 1,5
Coordenadas geográficas	25°37'16"S 49° 25'20"O	25°28'35"S 49° 54'17"O	25°31'42"S 49° 54'46"O	25°55'08"S 49° 57'18"O

¹ (*Prunus salicina* Lindl.)

Tabela 2. Parâmetros estimados pelo ajuste do modelo autolístico aos dados de incidência de Escaldadura Foliar da Ameixeira, sob quatro parametrizações, em quatro municípios da Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

continua

Pomar	Ano	Modelo ¹	Parâmetros estimados								CIA ⁴
			Linha	Entrelinha	Diag. A ²	Diag. B ³					
Araucária	2011	M1	0,04	* ⁵	-0,08	ns ⁶	-	-	-	-	704,20
	2011	M2	1,31	*	0,23	ns	0,35	ns	0,62	ns	694,42
	2011	M3	1,50	*	0,87	*	-	-	-	-	723,04
	2011	M4	1,43	*	0,73	*	0,05	ns	0,52	ns	723,03
	2012	M1	0,97	*	0,39	ns	-	-	-	-	1153,33
	2012	M2	0,90	*	0,28	ns	0,28	ns	0,18	ns	1149,15
	2012	M3	1,06	*	0,45	*	-	-	-	-	1174,31
	2012	M4	1,01	*	0,21	ns	0,33	ns	0,42	ns	1165,82
	2013	M1	1,25	*	0,37	*	-	-	-	-	1195,68
	2013	M2	1,15	*	0,13	ns	0,38	*	0,31	ns	1179,59
	2013	M3	1,06	*	0,46	*	-	-	-	-	1276,69
	2013	M4	0,97	*	0,30	ns	0,33	*	0,36	ns	1260,34
	2014	M1	0,85	*	0,28	*	-	-	-	-	1287,97
	2014	M2	0,83	*	0,20	ns	0,06	ns	0,40	*	1277,80
	2014	M3	0,98	*	0,36	*	-	-	-	-	1247,78
	2014	M4	0,90	*	0,17	ns	0,24	*	0,37	*	1235,28
	2015	M1	0,84	*	0,27	ns	-	-	-	-	1062,29
	2015	M2	0,77	*	0,10	ns	0,40	*	0,30	*	1045,81
	2015	M3	1,03	*	0,63	*	-	-	-	-	1048,76
	2015	M4	0,99	*	0,54	*	0,14	ns	0,36	*	1043,79
Palmeira	2012	M1	0,84	*	0,19	ns	-	-	-	-	520,23
	2012	M2	0,78	*	0,05	ns	0,45	*	0,37	ns	507,38
	2012	M3	1,49	*	0,34	*	-	-	-	-	514,84
	2012	M4	1,46	*	0,45	ns	0,32	ns	0,14	ns	516,46
	2013	M1	1,01	*	0,50	*	-	-	-	-	479,34
	2103	M2	0,94	*	0,14	ns	0,83	*	0,10	ns	456,42
	2013	M3	1,01	*	0,40	*	-	-	-	-	498,40
	2013	M4	0,94	*	0,17	ns	0,43	*	0,30	*	489,76
	2014	M1	1,15	*	0,52	*	-	-	-	-	450,72
	2014	M2	1,11	*	0,43	ns	0,02	ns	0,23	ns	452,91
	2014	M3	1,15	*	0,39	*	-	-	-	-	454,90
	2014	M4	1,08	*	0,13	ns	0,31	ns	0,25	ns	452,27
	2015	M1	1,24	ns	1,58	*	-	-	-	-	138,32
	2015	M2	1,05	ns	1,38	ns	0,77	ns	1,21	ns	131,86
	2015	M3	1,45	*	0,54	ns	-	-	-	-	137,38
	2015	M4	1,30	*	0,25	ns	0,14	ns	0,59	ns	138,74

Tabela 2. Parâmetros estimados pelo ajuste do modelo autologístico aos dados de incidência de Escaldadura Foliar da Ameixeira, sob quatro parametrizações, em quatro municípios da Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

Pomar	Ano	Modelo ¹	Parâmetros estimados								conclusão
			Linha		Entre Linha		Diag. A ²		Diag. B ³		
Porto Amazonas											
	2015	M1	0,92	*	0,10	ns	-	-	-	-	665,21
	2015	M2	0,91	*	0,04	ns	0,32	ns	0	ns	666,95
	2015	M3	0,16	ns	0,55	ns	-	-	-	-	690,86
	2015	M4	0,21	ns	0,51	ns	0,36	ns	0,10	ns	693,60
Lapa											
	2013	M1	2,29	*	0,39	ns	-	-	-	-	147,29
	2013	M2	2,37	*	1,23	ns	0,54	ns	0,99	ns	144,66
	2014	M1	2,55	*	0,13	ns	-	-	-	-	175,34
	2014	M2	2,51	*	0,45	ns	0,52	ns	0,05	ns	178,51
	2014	M3	1,44	*	0,24	ns	-	-	-	-	266,92
	2014	M4	1,44	*	0,68	ns	0,18	ns	0,65	ns	267,30
	2015	M1	1,45	*	0,21	ns	-	-	-	-	315,68
	2015	M2	1,47	*	0,40	ns	0,13	ns	0,68	ns	313,35
	2015	M3	1,53	*	0,07	ns	-	-	-	-	324,37
	2015	M4	1,54	*	0,25	ns	0,32	ns	1,11	*	321,56

Avaliações não mostradas não apresentaram nenhum parâmetro significativo.

¹Parametrizações do modelo autologístico: M1= Tempo atual: linha e entrelinha;

M2= Tempo atual: linha, entrelinha e diagonais;

M3= Tempo anterior: linha e entrelinha;

M4= Tempo anterior: linha, entrelinha e diagonais.

² Diagonal no sentido xy (1,-1).

³ Diagonal no sentido xy (-1,1).

⁴ CIA: menor valor significa melhor ajuste.

⁵ "ns" não significativo, $p > 0.05$.

⁶ Significativo pelo método de simulação de Monte Carlo: "*" $p < 0.05$.

Tabela 3. Médias de cigarrinhas por ano safra, mês de coleta, propriedade e altura da armadilha, monitoramento realizado por 3 anos em quatro municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Região Sul do Brasil.

Ano	
2014/15	1,51
2012/13	1,29
2013/14	0,62
Mês	
Novembro	1,27
Janeiro	1,22
Setembro	1,12
Dezembro	1,11
Outubro	0,85
Fevereiro	0,71
Março	0,50
Propriedade	
Lapa	2,03
Palmeira	1,00
Araucária	0,86
Porto Amazonas	0,30
Altura	
Baixo	1,20
Alto	0,90

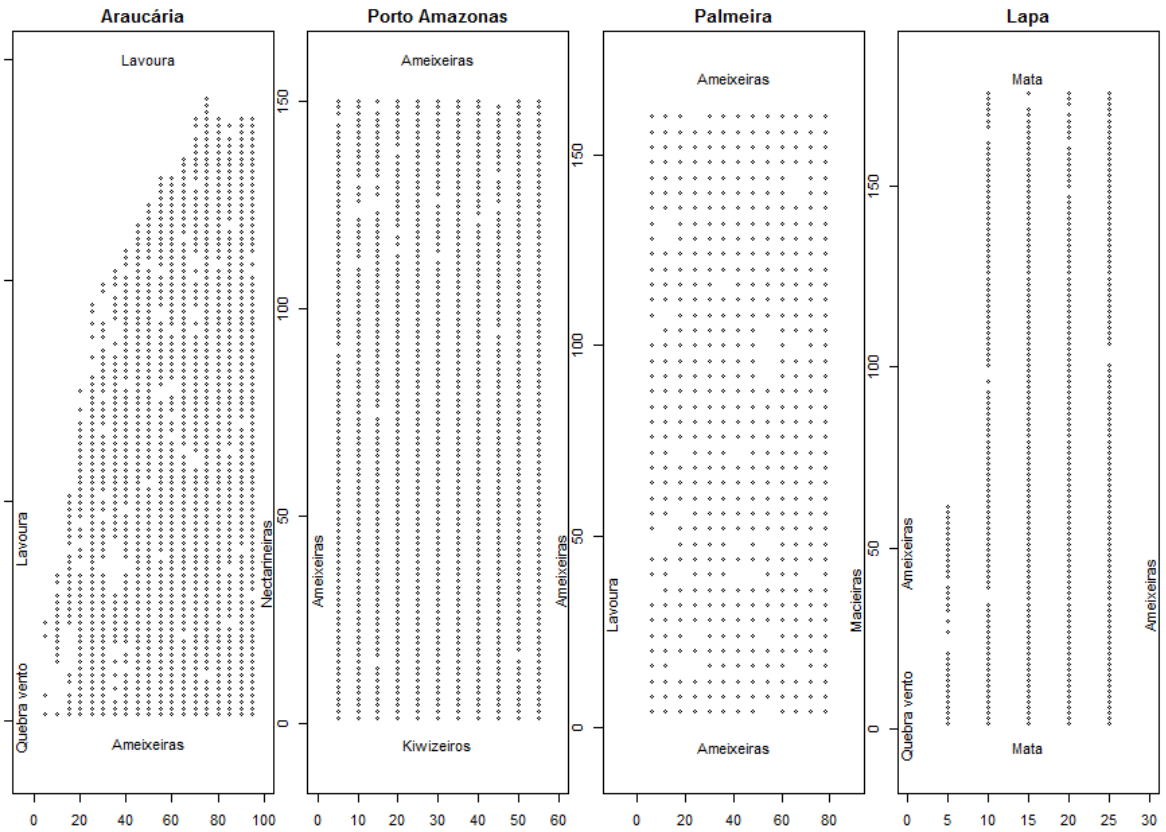


Figura 1. Caracterização da distribuição das plantas (pontos) e do entorno dos pomares de quatro municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil. Escalas dos gráficos em metros, com plantas em uma mesma linha no eixo “y” e diferentes linhas de plan

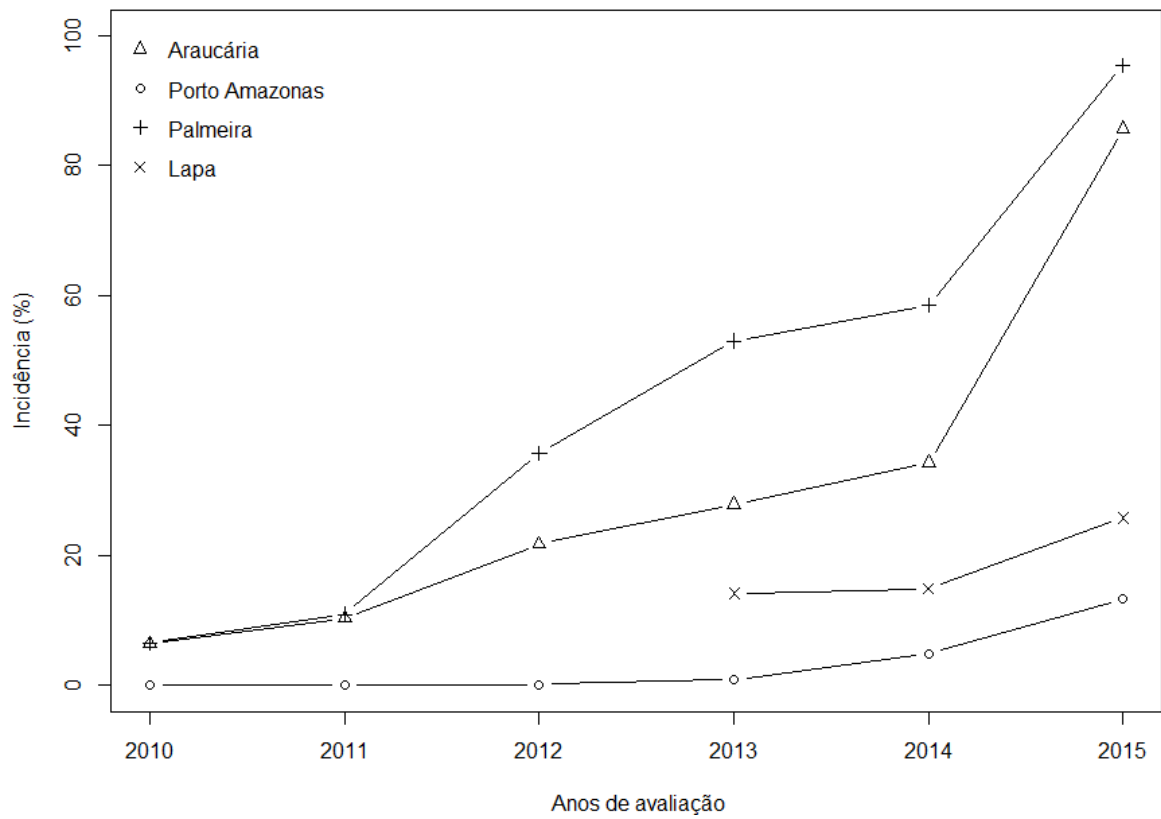


Figura 2. Porcentagens de incidência da Escaldadura Foliar da Ameixeira em pomares comerciais situados em quatro municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

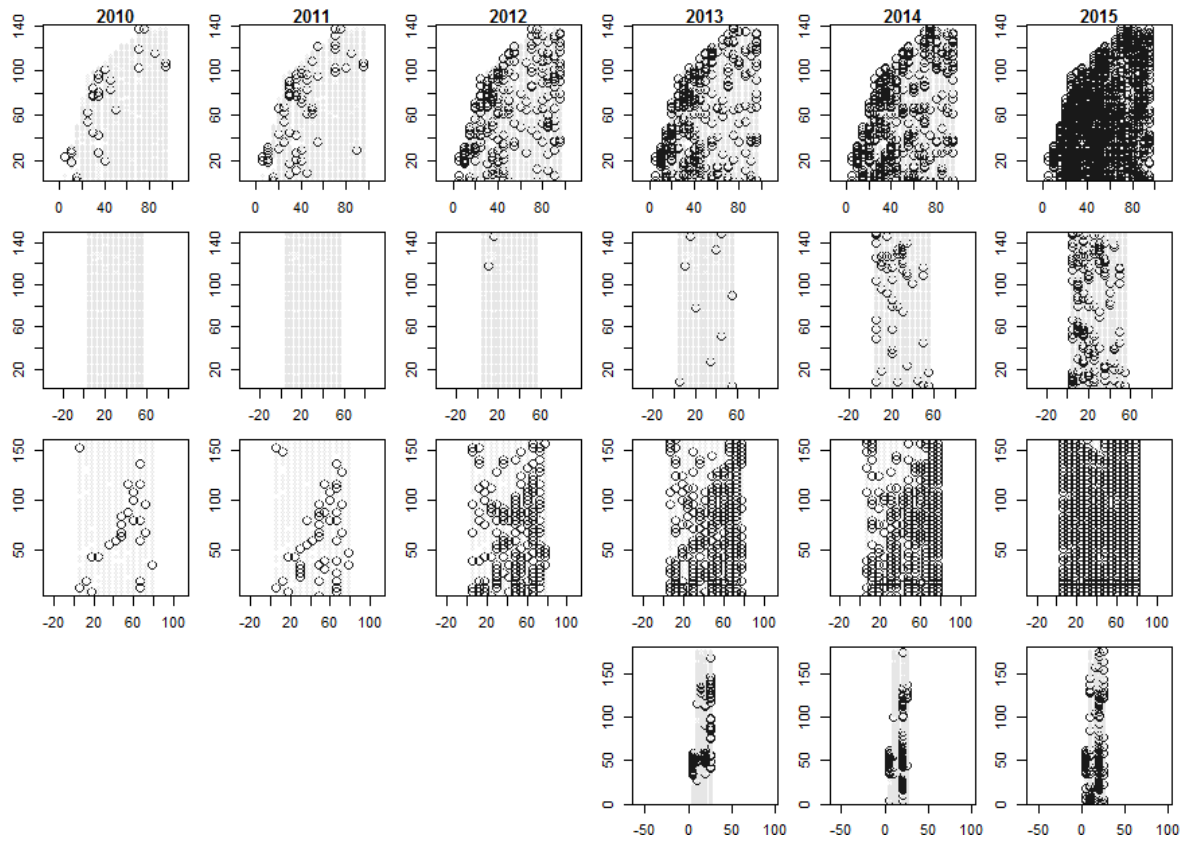


Figura 3. Mapas de distribuição espacial da incidência da Escaldadura Foliar da Ameixeira em quatro municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

Nas linhas do gráfico os diferentes pomares, nas colunas os anos de avaliação. Linha 1: pomar Araucária, linha 2: pomar Porto Amazonas, linha 3: pomar Palmeira, linha 4: pomar Lapa. Eixo y = plantas de uma mesma linha e Eixo x = linhas de plantas, ambos com distâncias em metros. Círculos mais escuros indicam plantas doentes.

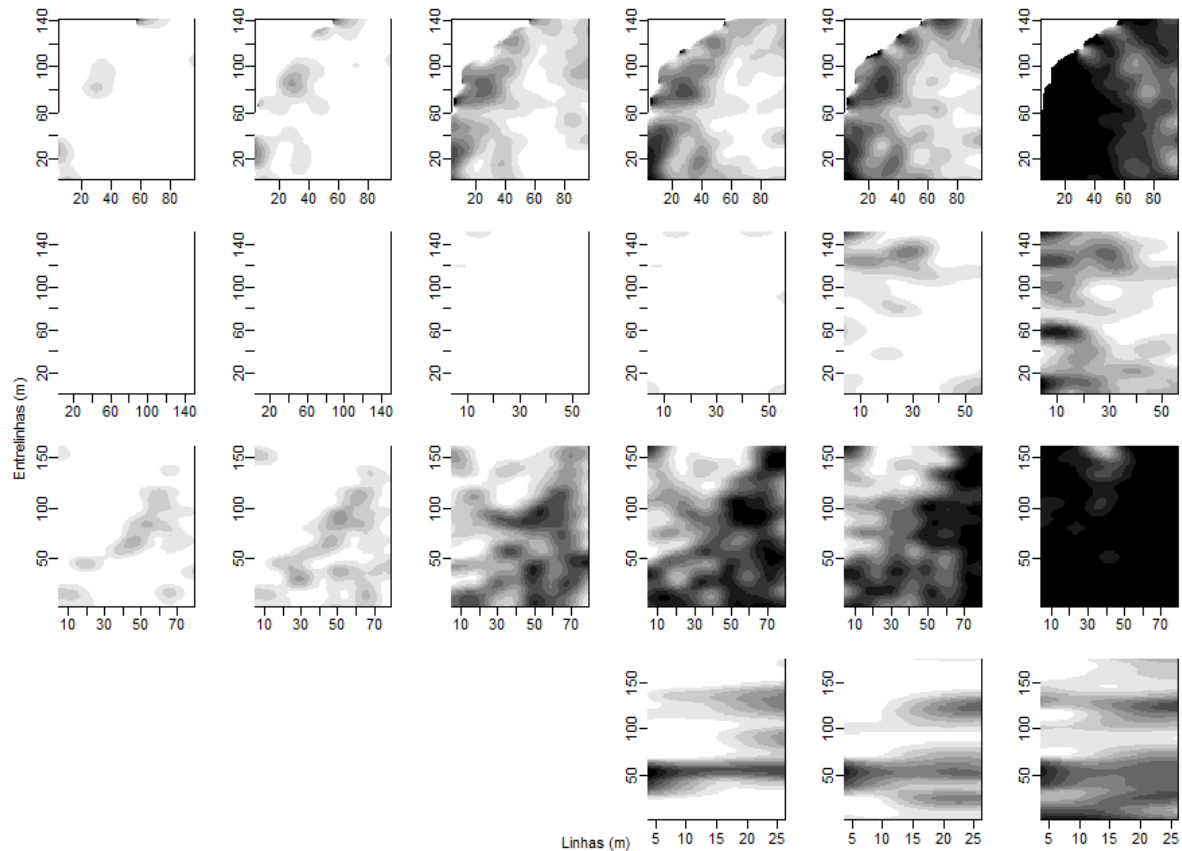


Figura 4. Mapas de incidência da Escaldadura Foliar da Ameixeira pelo método da suavização por kernel, em quatro pomares situados em quatro diferentes municípios na porção leste do Estado do Paraná, Brasil.

Nas diferentes linhas os diferentes pomares, nas colunas os anos de avaliação. Linha 1: pomar Araucária, linha 2: pomar Porto Amazonas, linha 3: Palmeira, linha 4: Lapa. Coluna 1: 2010 e Coluna 6: 2015. Cores mais escuras indicam maior concentração de plantas doentes. Escalas individuais nas linhas.

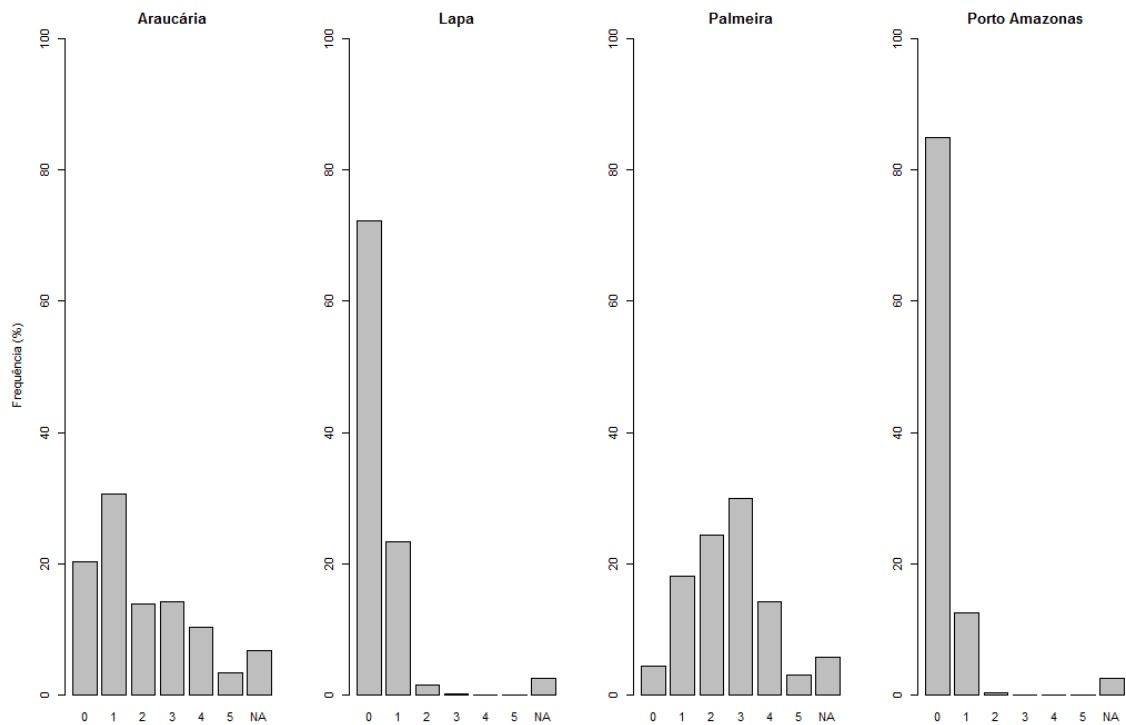


Figura 5. Frequências de plantas nas diferentes notas de severidades da Escaldadura Foliar da Ameixeira em porcentagens, em quatro pomares situados em quatro diferentes municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil. Avaliação realizada em março de 2015.

Nota 0: Ausência de sintomas, planta sadia;

Nota 1: Sintomas apenas em folhas situadas em pontas de ramos;

Nota 2: Sintomas em folhas não só nas pontas de ramos de uma pernada;

Nota 3: Sintomas em folhas não só em pontas de ramos, em mais de uma pernada;

Nota 4: Sintomas generalizados em folhas e presença de uma pernada seca;

Nota 5: Plantas com seca de ramos generalizada;

NA: Plantas mortas ou cortadas na data de avaliação.

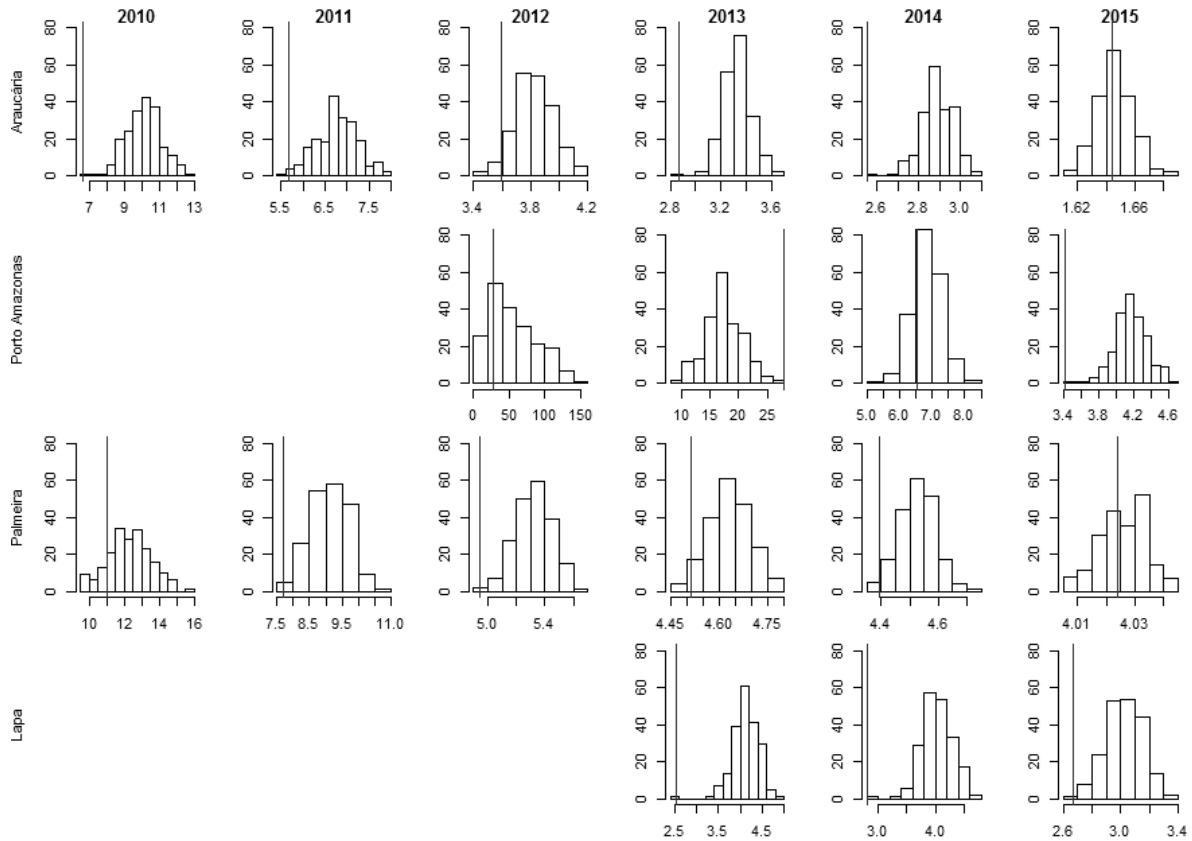


Figura 6. Frequências das distâncias mínimas médias entre plantas com sintomas de Escaldadura Foliar da Ameixeira, em pomares situados em quatro diferentes municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

No Eixo y: Frequências de plantas em uma população simulada com padrão aleatório, Eixo x: Distâncias em metros. Linhas na vertical indicam média calculada em cada data de avaliação.

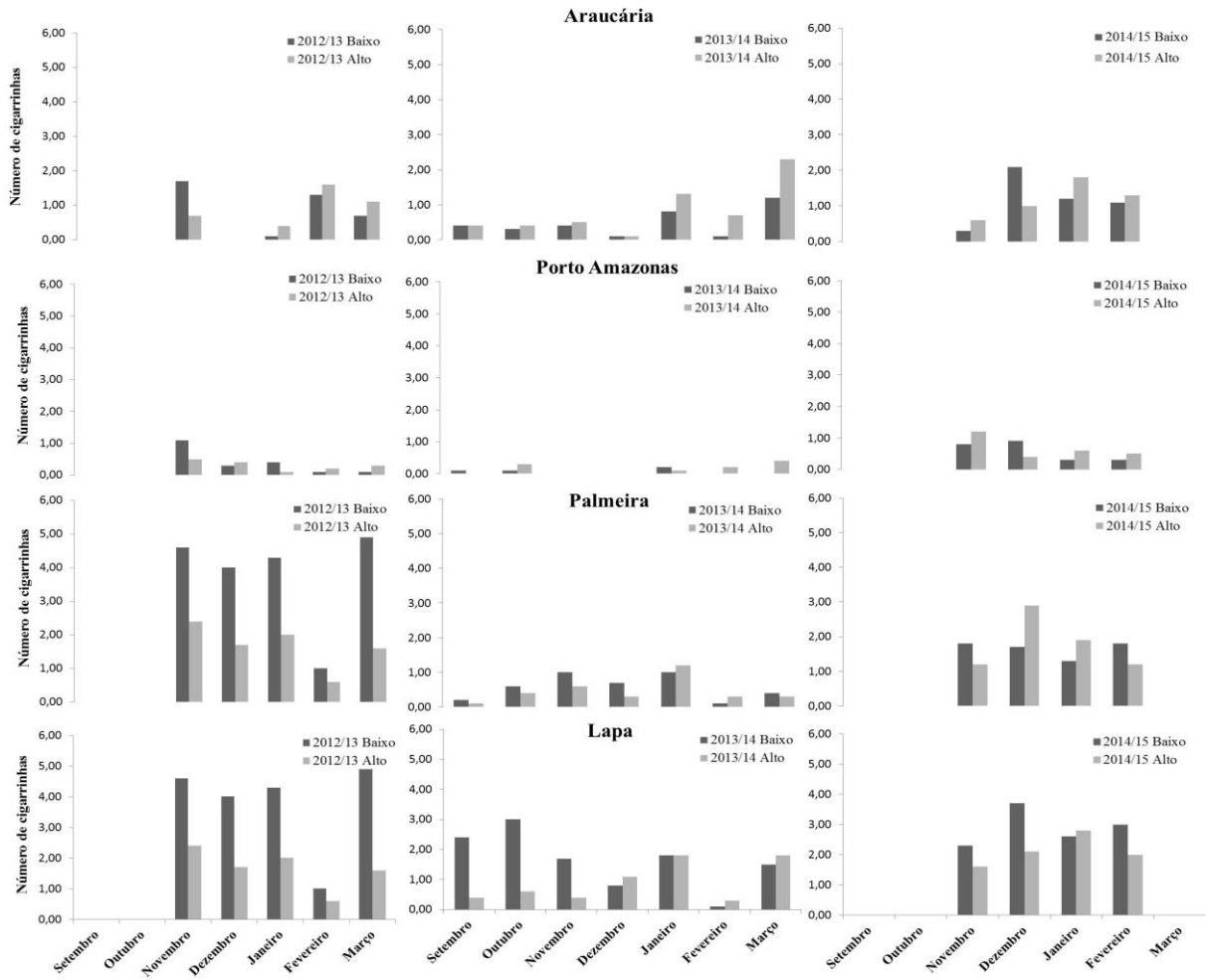


Figura 7. Número de cigarrinhas médio em duas alturas, Baixo (0,5 m do solo) e Alto (1,9 m do solo) em pomares situados em quatro municípios na Região Leste do Estado do Paraná, Sul do Brasil.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo de ameixas apresenta um excelente potencial produtivo, em virtude do domínio das práticas de produção de outras frutíferas de clima temperado correlatas por parte dos produtores nas regiões de estudo, sendo este trabalho de grande valia na geração de conhecimento para o planejamento do controle desta, que é a principal doença que afeta a cultura e limita sua maior exploração.

Os padrões espaciais da Escaldadura Foliar da Ameixeira repetiram-se nos diversos métodos testados em ensaios conduzidos em dois Estados, mesmo em anos safra e materiais vegetais diferentes, algo que juntamente com a longevidade do estudo (até 6 safras avaliadas) conferem a este trabalho boa confiabilidade com relação às suas conclusões. Logo, as observações de maior incremento da doença no sentido das linhas de plantio, da agregação das plantas doentes, de uma maior concentração do início dos sintomas em plantas localizadas nas bordas dos pomares devem ser consideradas na elaboração de estratégias mais eficientes para o controle da doença.

Há grande interesse entre os produtores acerca deste tema e quanto aos resultados desta pesquisa. O passo seguinte deste trabalho será difundir estas informações aos que cederam suas propriedades para nosso estudo e oportunamente para os demais produtores, órgãos de extensão rural pública da região e toda a comunidade científica com a publicação de artigos científicos.

Este documento mostrou alguns questionamentos que ainda restam ser solucionadas sobre este patossistema, como por exemplo, o comportamento do patógeno dentro da planta, a eficiência de produtos que controlem a reprodução e a colonização da bactéria, a correta identificação dos vetores da doença no Estado do Paraná, e a confirmação ou não da disseminação do patógeno por tratos culturais, especificamente a poda, devendo outras teses e estudos complementares ser conduzidos.