

**QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DE PINTA-PRETA EM FOLHAS
DE MAMOEIRO**

HELENILSON DE OLIVEIRA FRANCELINO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JULHO – 2020**

QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DE PINTA-PRETA EM
FOLHAS DE MAMOEIRO

HELENILSON DE OLIVEIRA FRANCELINO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Marcelo Vivas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JULHO – 2020

FICHA CATALOGRÁFICA
UENF - Bibliotecas
Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

F815 Francelino, Helenilson de Oliveira.

QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DE PINTA-PRETA EM FOLHAS DE MAMOEIRO /
Helenilson de Oliveira Francelino. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2020.

43 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2020.

Orientador: Marcelo Vivas.

1. "Asperisporium caricae". 2. Mamoeiro. 3. quantificação de doenças. 4. severidade. 5.
escala diagramática. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DE PINTA-PRETA EM FOLHAS DE MAMOEIRO

HELENILSON DE OLIVEIRA FRANCELINO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Produção Vegetal

Aprovada em 31 de julho de 2020.

Comissão Examinadora

Prof. Marcelo Geraldo de Moraes Silva (D.Sc., Produção Vegetal) – IFF

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D.Sc., Fitopatologia) – UENF

Prof.^a Janieli Maganha Silva Vivas (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Prof. Marcelo Vivas (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca ter me deixado desanimar e por sempre se mostrar presente em minha vida;

À minha esposa, Érica Silva, por ter me apoiado sempre;

Aos meus pais, Heleno Francelino e Cecília Oliveira, por terem feito o máximo possível para que eu pudesse chegar até aqui;

Ao meu orientador, professor Marcelo Vivas, pela oportunidade e incentivos ao longo de todo o curso;

Aos amigos do laboratório, por sempre estarem disponíveis a ajudar;

Aos amigos que me ajudaram no processo de validação da escala;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Centro de Ciências e Tecnologia em Agropecuária, pela oportunidade de realização do curso e pela bolsa de estudo.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Aspectos gerais da cultura do mamoeiro	4
2.2. Principais doenças da cultura do mamoeiro.....	5
2.3. A pinta-preta – <i>Asperisporium caricae</i> (Spey) Maubl	5
2.4. Métodos para quantificação de doenças em plantas	7
3. OBJETIVOS	10
3.1. Objetivo geral	10
3.2. Objetivos específicos	10
4. MATERIAIS E MÉTODOS	11
4.1. Elaboração da escala diagramática	11
4.2. Validação da escala diagramática.....	12
4.3. Comparação de métodos de quantificação de pinta-preta em folhas de mamoeiro	13
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5.1. Elaboração da escala diagramática	15
5.2. Validação da escala diagramática.....	17
5.3. Repetibilidade das estimativas com uso da escala	21
5.4. Comparações de métodos de quantificação de pinta-preta em mamão	22

6. RESUMO E CONCLUSÕES	25
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

RESUMO

Francelino, Helenilson de Oliveira, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, julho de 2020. Quantificação da severidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro. Orientador: Prof. Marcelo Vivas

Um dos grandes entraves da fruticultura está relacionado a questões fitossanitárias. Neste cenário, o controle de doenças representa grande parte dos custos de produção. Além disso, outro grande problema relacionado ao controle das doenças refere-se aos impactos ambientais causados pelo uso crescente de produtos químicos. No Brasil, a cultura do mamão é acometida por diversos fitopatógenos, principalmente fungos e vírus. Entre as doenças fúngicas que acometem a cultura do mamoeiro, é notável o destaque da pinta-preta (*Asperisporium caricae*). Esta doença tem ação direta nas folhas e frutos, ocasionando a redução da área foliar e depreciação dos frutos. A quantificação da doença é parte fundamental no processo de manejo e controle de doenças. Para quantificação da pinta-preta do mamoeiro, atualmente, é utilizada uma escala diagramática que auxilia a quantificação da doença nos frutos, no entanto, como essa doença acomete primeiramente as folhas, surge a necessidade de uma proposta de escala que auxilie a quantificação desta doença nas folhas. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi propor uma metodologia padronizada para quantificar a severidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro e compará-la com outras atualmente em uso. Neste sentido, foi elaborada uma escala observando os valores máximo e mínimo de doença no

campo bem como efetuou-se a sua validação. Comparou-se também seu uso com outras metodologias propostas para quantificação da intensidade de pinta-preta em folha. No processo de elaboração da escala, foram coletadas a campo 87 folhas com diferentes níveis de severidade de pinta-preta. Após coletadas, as folhas foram digitalizadas e, com o auxílio do programa Quant[®], mensuraram-se a área total e a área lesionada. Baseando-se na lei de acuidade visual de Horsfall & Cowling (1978) bem como na forma, distribuição e frequência das lesões, foi elaborada a escala com oito níveis de severidade: 0,1; 0,3; 0,6; 1,0; 2,3; 5,0; 10,0; e 20,0%. No processo de validação, imagens de 40 folhas com diferentes níveis de severidade foram inseridas aleatoriamente em slides individuais para visualização no Microsoft PowerPoint[®]. A severidade foi estimada por 11 avaliadores, a maioria sem experiência em quantificação de doença de plantas. Realizaram-se três avaliações, sendo a primeira sem o auxílio da escala, e as demais, com o auxílio da escala, sendo o intervalo de cada avaliação de sete dias. A acurácia e a precisão de cada avaliador foram determinadas por meio de regressão linear simples entre a severidade real e a estimada. Adicionalmente, comparou-se a severidade da pinta-preta em folhas de mamoeiro considerando diferentes critérios de avaliação. Na primeira avaliação, sem o auxílio da escala, a maioria dos avaliadores superestimou a doença, apresentando erros absolutos em torno de 75%. Com a utilização da escala, 100% dos avaliadores melhoraram a acurácia e a precisão com uma redução do erro absoluto para uma faixa de 10%. Os avaliadores apresentaram boa repetibilidade e elevada reprodutibilidade. A utilização da escala proporcionou uma melhora nos valores de R^2 , apresentando valores médios de 93 e 92 nas segunda e terceira avaliações, respectivamente, demonstrando que a escala será útil para diferentes trabalhos relacionado ao patossistema de *A. Caricae*, tais como: determinação de eficiência de fungicidas, caracterização da resistência varietal, construção de curva de progresso de doença e nas estimativas de dano.

ABSTRACT

Francelino, Helenilson de Oliveira, M.Sc., *Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro*, July, 2020. Quantification of black spot severity in papaya leaves. Advisor: Prof. Marcelo Vivas.

One of the great obstacles in fruit growing is related to phytosanitary issues. In this scenario, disease control represents a large part of production costs. In addition, another major problem related to disease control refers to the environmental impacts caused by the increasing use of chemicals. In Brazil, the papaya culture is affected by several phytopathogens, mainly fungi and viruses. Among the fungal diseases that affect this culture, black spot (*Asperisporium caricae*) stands out. This disease directly affects the leaves and fruits reducing the leaf area and depreciating the fruits. Quantifying the disease is a fundamental part of the disease management and control process. To quantify papaya black spot, a diagrammatic scale is currently used to help quantify the disease in fruits. However, as this disease primarily affects leaves, there is a need for a scale proposal to help quantify this disease in the leaves. Within this context, this work proposed a standardized methodology to quantify the severity of black spot in papaya leaves and compare it with others currently in use. In this sense, a scale was elaborated observing the maximum and minimum values of disease in the field, as well as validating it and comparing its use with other proposed methodologies for quantifying the intensity of leaf spot. In the process of elaboration of the scale, 87 leaves with different levels

of severity of black spot were collected in the field. After being collected, the leaves were digitalized and with the aid of the Quant[®] program, the total area and the injured area were measured. Based on the visual acuity law of Horsfall & Cowling (1978), as well as on the form, distribution, and frequency of injuries, a scale with eight severity levels was developed: 0.1; 0.3; 0.6; 1.0; 2.3; 5.0; 10.0, and 20.0%. In the validation process, images of 40 leaves with different levels of severity were randomly inserted into individual slides for viewing in Microsoft PowerPoint[®]. Severity was estimated by 11 evaluators, most with no experience in quantifying plant disease. Three evaluations were carried out, the first without the aid of the scale, and the others with the aid of the scale, with an interval of seven days between each evaluation. The accuracy and precision of each evaluator were determined by simple linear regression between the actual and estimated severity. Additionally, the severity of black spot in papaya leaves was compared considering different evaluation criteria. In the first evaluation, without the aid of the scale, most evaluators overestimated the disease, presenting absolute errors around 75%. Using the scale, 100% of the evaluators improved accuracy and precision, with a reduction in absolute error to a range of 10%. The evaluators showed good repeatability and high reproducibility. The use of the scale provided an improvement in the values of R^2 , with average values of 93 and 92 in the second and third evaluations, respectively, demonstrating that the scale will be useful for different works related to the pathosystem of *A. caricae*, such as: determination of the efficiency of fungicides, characterization of varietal resistance, construction of disease progress curve, and damage estimates.

1. INTRODUÇÃO

A fruticultura é de grande importância econômica e social para o Brasil. A geração de empregos relacionada à produção de frutas frescas chega a aproximadamente 27% de todo o setor agrícola brasileiro (Treichel et al., 2016). O mamoeiro (*Carica papaya* L.) está entre as frutíferas que conferem destaque ao Brasil como produtor de frutas tropicais. Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), em 2020, o Brasil ocupava o segundo lugar no ranking de maior produtor de mamão, com uma área plantada de 27.250 ha, e produção em torno de 1.060.000 toneladas (FAO, 2020). Vale ressaltar que esta expressiva produção está vinculada principalmente aos estados da Bahia, do Espírito Santo, de Ceará, de Minas Gerais e do Rio Grande do Norte (IBGE, 2017). No âmbito das exportações, em 2017, o Brasil exportou mais de 39 mil toneladas de mamão (Kist et al., 2018).

Apesar de ocupar lugar de destaque entre os maiores produtores de mamão do mundo, a cultura no Brasil vem sofrendo uma série de problemas relacionados a questões fitossanitárias e ambientais, levando em conta a suscetibilidade do mamoeiro a uma gama de pragas e doenças que contribuem para a redução de sua produção (Zhu e Jia, 2016).

As doenças constituem um dos principais problemas da cultura do mamoeiro no Brasil, notadamente, as que são de etiologia fúngica e viral. Entre as doenças fúngicas que acometem essa cultura, destaca-se a pinta-preta, causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl. Esta doença é considerada a

doença foliar de etiologia fúngica mais importante da cultura, sobre a qual existem relatos de perdas de até 30% da produção (Santos e Barreto, 2003; Amorim et al., 2018).

Os sintomas da pinta-preta manifestam-se tanto nas folhas quanto nos frutos. Nas folhas, os sintomas são caracterizados pelo aparecimento inicial de pequenas manchas pretas arredondadas localizadas na parte abaxial das folhas mais velhas. Com o evoluir da doença, as folhas são induzidas à senescência, o que causa o definhamento da planta (Filho et al., 2016; Oliveira et al., 2011). Já, nos frutos, ocorrem inicialmente lesões pequenas, circulares e encharcadas, que evoluem para pústulas maiores, de coloração marrom a negra e salientes, podendo atingir 5 mm de diâmetro (Filho et al., 2016; Amorim et al., 2018). As lesões causadas, além de comprometerem os frutos pela aparência, servem também como porta de entrada para outras doenças.

Uma questão que merece bastante atenção no âmbito da produção de mamão refere-se ao controle das doenças foliares, principalmente a pinta-preta. Isso devido a não existência de genótipos resistentes (Vivas et al., 2012; 2015; Poltronieri et al., 2020) e/ou a métodos sustentáveis para o controle da doença, tais como: indutores de resistência (Santos et al., 2017) e controle biológico (Vivas et al., 2017; 2018; 2020). Diante disso, o uso de fungicida é a única medida de controle atual, o que conseqüentemente onera os custos de produção; somado a isso, pode trazer sérias conseqüências ao meio ambiente e à saúde humana (Vivas, 2009).

A avaliação das doenças é parte integrante da epidemiologia e do manejo de pragas. Em geral, avaliar a doença é fundamental para desenvolver estratégias de manejo, como determinar níveis de dano econômico; atuar em programas de melhoramento genético; avaliar a eficiência de produtos empregados no seu controle; estimar a extensão de seus danos; bem como realizar estudos de perda (Duarte et al., 2013).

Atualmente, um dos principais e mais utilizados métodos de quantificação de doença são as escalas diagramáticas, que são representações ilustradas de uma série de plantas ou partes de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade (Amorim et al., 2018). Embora de ampla utilização, poucos são os trabalhos que propuseram escalas diagramáticas para quantificação da severidade de doenças em mamoeiro. Entre esses estudos, relata-se a escala para

quantificação de pinta-preta em frutos de mamoeiro (Vivas et al., 2010) e para quantificação de oídio em folha de mamoeiro (Santos et al., 2011).

Embora já exista uma metodologia padronizada para quantificação da severidade de pinta-preta em frutos de mamoeiro, é notável a importância de se avaliar, de forma precisa, a severidade de pinta-preta também em folhas. Portanto, torna-se oportuna a elaboração e validação de uma escala diagramática para avaliação da severidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da cultura do mamoeiro

O gênero *Carica* pertence à família Caricaceae, a qual agrupa outros cinco gêneros: *Vasconcellea*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Cylicomorpha* e *Horovitzia* (Badillo, 2000, Carvalho e Renner, 2014). Nesta família, o gênero *Carica* é o de maior importância econômica, fato esse atribuído à sua única espécie *Carica papaya* L., a qual produz fruto que apresenta grande aceitação de mercado para consumo *in natura* e por ser fonte de uma importante enzima chamada papaína, bastante requisitada na indústria de alimentos e fármacos (Badillo, 1971, 2000; Carvalho et al, 2015).

O mamoeiro é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Esta cultura apresenta seu desenvolvimento pleno quando em condições ideais de temperatura — média anual de 25°C, com limites entre 21°C e 33°C — e precipitação — 1.500 mm anuais bem distribuídos (Serrano et al., 2010). A espécie *Carica papaya* L. não tem sua origem bem elucidada, embora estudos apontem que esta seja originária do sul do México e América Central (Fuentes e Santamaría, 2014).

No cenário mundial, o mamão se destaca como uma das frutas tropicais mais produzidas; em 2017, a produção mundial de mamão superou 13 milhões de toneladas (FAO, 2020). Já, em termos de produção, o Brasil ocupa o segundo lugar no ranking de maiores produtores e exportadores da fruta (FAO, 2020). No âmbito nacional, as principais regiões produtoras são a Nordeste e a Sudeste, com

destaque para os estados da Bahia, do Espírito Santo, do Ceará e do Rio Grande do Norte, os quais tiveram as maiores produções em 2017 (IBGE, 2017).

2.2. Principais doenças da cultura do mamoeiro

As doenças constituem um fator limitante na produção de mamão. A cultura do mamoeiro, assim como todas as outras culturas de importância agrônômica, está exposta a uma grande variedade de organismos fitopatogênicos, principalmente fungos e vírus. As viroses representam o maior entrave para a cultura do mamoeiro, isso devido ao difícil controle e à necessidade de migração que estas impõem à cultura do mamoeiro e/ou da prática do “rouging”, que consiste na eliminação de plantas doentes nas lavouras. No que se refere às doenças causadas por fungos, não menos importante que as viroses, estas estão presentes em todas as fases de desenvolvimento da planta, podendo atacar as diferentes partes da planta — da raiz aos frutos (Rezende e Martins, 2005).

As doenças fúngicas mais comuns na cultura do mamoeiro são: a pinta preta, causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Spey) Maubl, que infecta folhas e frutos; a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), principal doença em pós-colheita; a mancha-de-phoma, causada pelo fungo [*Stagonosporopsis caricae* (Sydow & P. Sydow) Aveskamp, Gruyter e Verkley], que infecta folhas e frutos, sendo considerada a segunda mais importante em pós-colheita; a mancha-de-Corynespora, causada pelo fungo *Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei, a doença pode ocorrer nas folhas, pecíolos e frutos; os oídios, atribuídos a vários fungos, destacando-se os gêneros *Ovulariopsis*, *Oidium* e *Streptopodium*, que acometem as folhas; a podridão-de-Phytophthora ou podridão do pé do mamoeiro, causada geralmente pelo fungo *Phytophthora palmivora* Dast, que infecta o caule, as raízes e os frutos, tendo uma ampla gama de hospedeiros (Marin, 2004, Martis e Rezende, 2005).

2.3. A pinta-preta – *Asperisporium caricae* (Spey) Maubl

Causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Spey) Maubl., a pinta-preta é uma das doenças foliares mais comuns e de grande importância para cultura do mamoeiro. A doença está presente em todas as principais áreas produtoras de

mamão do Brasil bem como em plantios domésticos (Liberato e Zambolim, 2002; Rezende et al., 2018). Além do Brasil, a doença já foi relatada na Argentina, na Austrália, nas Ilhas Bermudas, na Bolívia, no Canadá, na Colômbia, em Cuba, no Equador, em El Salvador, nos EUA., na Flórida, na Índia, na Jamaica, no Japão, no Quênia, no México, no Peru, em Porto Rico, nas Ilhas Salmão, na África do Sul, no Sri Lanka, na Tanzânia, na Venezuela e no Zimbábue (Liberato et al., 2007). No Brasil, há relatos de sua ocorrência nos estados do Amazonas, da Bahia, do Ceará, do Espírito Santo, de Minas Gerais, do Paraná, do Rio Grande do Norte e do Rio de Janeiro (Liberato e Zambolim, 2002; Souza et al., 2014; Santos et al., 2019).

Os sintomas relacionados a essa doença são percebidos geralmente nas folhas mais velhas e são caracterizados por manchas necróticas arredondadas e de coloração pardo-claras, sendo estas circundadas por um estreito halo amarelo com tamanho de 3 a 4 mm de diâmetro, isso na superfície adaxial. Já na superfície abaxial, ocorre a formação de corpos de frutificações pulverulentos de formato arredondado e coloração escura. Estes danos causam o amarelecimento e a queda prematura das folhas, levando ao retardamento e definhamento da planta (Filho et al., 2016; Oliveira et al., 2011).

Embora seja considerada uma doença foliar, a pinta-preta também acomete frutos, o que acarreta a recusa do produto no momento da comercialização (Ventura et al., 2003). Nesses, as manchas são mais aparentes em frutos mais velhos, embora a doença incida sobre o fruto ainda verde. O crescimento das manchas nos frutos é percebido à medida que estes se desenvolvem, apresentando coloração escura e com pontos circulares ao redor (Filho et al., 2016; Rezende e Martins, 2005).

Santos e Barreto (2003) registraram perdas de 30% devido à incidência de pinta-preta em pomares no estado de São Paulo. Além dos prejuízos relacionados aos danos diretos, somam-se outros prejuízos causados por doenças pós-colheita favorecidas pela presença da pinta-preta, as quais acabam reduzindo o valor comercial dos frutos (Ventura et al., 2003). Em casos mais severos, a incidência nos frutos pode chegar próximo de 100%, e a planta chega a perder cerca de 60% das folhas no decorrer de 2 a 3 meses (Liberato e Zambolim, 2002).

Para alcançar seu pleno desenvolvimento, o fungo *A. caricae* necessita de algumas condições ideais, quais sejam, umidade relativa variando de 80% a 100% com temperatura na faixa de 25°C a 30°C (Suzuki et al., 2007). Sob condições de

umidade, o fungo pode formar esporos e disseminar-se pela ação de respingos de orvalho ou da chuva, sendo arrastado para as partes verdes em desenvolvimento, germinando e penetrando nos pontos vulneráveis do mamoeiro (Oliveira et al., 2011).

Para realizar o controle, lança-se mão de alguns métodos, sendo o de manejo integrado muito importante. Como os sintomas ocorrem primeiramente nas folhas mais velhas, estas devem ser arrancadas e retiradas da área. Outra medida de controle é pelo uso de agroquímicos, sendo recomendada a pulverização com fungicidas à base de cobre quando ocorrer o aparecimento dos primeiros sintomas (Rezende e Martins, 2005). Outras medidas de controle em estudo consistem no uso de indutores de resistência (Santos et al., 2017), uso de agentes de controle biológico (Vivas *et al.*, 2017; 2018; 2020) e emprego de resistência genética (Poltronieri et al., 2019).

2.4. Métodos para quantificação de doenças em plantas

A quantificação de doenças, também conhecida como patometria, é o processo pelo qual os sintomas são mensurados e expressos em unidades que permitam comparações objetivas (Laranjeira, 2005). Este processo é fundamental para iniciar todo e qualquer programa de manejo de doença. Além disso, conhecer a severidade das doenças é de suma importância nos diferentes processos de produção vegetal ligados à fitopatologia, seja na caracterização da resistência varietal, como para a epidemiologia, na construção de curvas de progresso da doença e estimativa dos danos provocados (Amorim, 1995; Camochena et al., 2008).

A avaliação de doenças em plantas pode ser realizada tanto por métodos diretos quanto por indiretos. Os métodos diretos são aqueles em que a estimativa da doença é feita diretamente pelos sintomas, ao passo que, nos métodos indiretos, a quantidade de doença é estimada pela população do patógeno (Michereff, 2001; Vale et al., 2004).

A patometria baseia-se em quatro métodos para mensurar as doenças, são eles: severidade, incidência, intensidade e densidade do patógeno (Laranjeira, 2005). A densidade do patógeno é utilizada em circunstâncias em que as medidas de sintomas são irrelevantes e quando os sintomas são inespecíficos. Com relação

à intensidade, esta pode ser classificada apenas como uma designação geral das medidas de avaliação de doenças, englobando, portanto, a incidência e a severidade (Laranjeira, 2005). A incidência refere-se sempre à proporção de unidades sintomáticas num total de unidades amostrais avaliadas. Dessa forma, faz-se referência a medidas como: proporção de plantas sintomáticas; porcentagem de folhas afetadas; porcentagem de ramos com desfolha. Por sua vez, a severidade refere-se à quantidade de doença por unidade de área ou volume avaliado, por exemplo, porcentagem de área foliar sintomática ou de volume de copa afetada.

Embora, em teoria, seja uma medida mais precisa que a incidência, é muito mais difícil de estimar, e os erros associados podem ser maiores se o método usado não estiver bem calibrado. Para evitar os possíveis erros e subjetividade é necessária a comparação com um diagrama padrão chamado escala diagramática (Gomes et al., 2004; Laranjeira, 2005; Damasceno *et al.*, 2014). No processo de quantificação de doenças, alguns atributos são de suma importância para se obter êxito, são eles: acurácia, precisão, reprodutibilidade e eficiência, nos quais os dois primeiros atributos referem-se à qualidade da avaliação; o terceiro refere-se à possibilidade de mais grupos de pesquisa utilizarem o mesmo método e chegarem às mesmas conclusões; e o último atributo diz respeito ao balanço entre a qualidade e o tempo de execução.

Em termos mais específicos, temos que a acurácia é a medida de quão próximo ao real estão as estimativas de um dado avaliador. Precisão é a medida dos desvios de avaliação em relação às estimativas do próprio avaliador. Reprodutibilidade refere-se à ausência de variação em estimativas quando a mesma amostra de doença é avaliada por outro avaliador, e a eficiência refere-se ao seu custo, em especial, ao tempo despendido para sua execução (Nutter Jr & Schultz, 1995; Laranjeira, 2005).

Para realizar a quantificação da severidade das doenças em plantas, algumas estratégias têm sido propostas, entre as quais se destacam as escalas de notas ou escalas descritivas e escalas diagramáticas. As escalas de notas utilizam chaves com certo número de graus para quantificar doenças. Cada grau da escala deve ser apropriadamente descrito ou definido. Por outro lado, as escalas diagramáticas são representações ilustradas de uma série de plantas ou parte de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade, sendo esta, atualmente,

a principal ferramenta para quantificação de doença em plantas (Bergamin Filho & Amorim, 1996; Michereffe, 2001; Laranjeira, 2005).

Na hora da elaboração e validação de uma escala, alguns aspectos devem ser observados, tais como: não apresentar complicações no seu uso; ser aplicável a uma faixa de diferentes condições; apresentar intervalos que contemplem todos os estágios da doença; e ser de uso imediato (Berger, 1980).

A quantificação da pinta-preta do mamoeiro atualmente é realizada com o auxílio da escala diagramática proposta por Vivas et al. (2010). A referida escala foi proposta para quantificar a doença nos frutos, tendo sido crucial para a realização de vários trabalhos envolvendo o patossistema *A. caricae*. Os autores relatam que a escala proporcionou aos avaliadores estimativas com bons níveis de acurácia e precisão com valores médios de R^2 de 93 e 92%, respectivamente, nas primeira e segunda avaliações. No entanto, ainda há a necessidade de elaboração de escalas para quantificação da severidade de pinta-preta em folhas, uma vez que a doença se manifesta primeiramente nas folhas e posteriormente passa para os frutos.

Atualmente, os trabalhos de melhoramento genético e outros estudos envolvendo esse patossistema têm se valido de uma escala, não validada, proposta por Terra (2009). Embora o autor tenha proposto uma escala, esta ainda não foi validada; tal fato ressalta a necessidade de elaboração e validação de uma escala que venha a auxiliar nos futuros trabalhos de resistência à pinta-preta do mamoeiro.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Propor uma metodologia padronizada para quantificar a severidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro.

3.2. Objetivos específicos

Determinar a porcentagem de área lesionada por pinta-preta em folhas de mamoeiro;

Elaborar, considerando o tamanho, o formato das lesões bem como a porcentagem de área lesionada, uma escala diagramática para quantificação da doença;

Validar a escala diagramática proposta para quantificação da severidade de pinta-preta em folha de mamoeiro;

Comparar metodologias de avaliação da intensidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro com a avaliação de severidade estimada com o auxílio da escala proposta.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Elaboração da escala diagramática

Para a elaboração da escala diagramática, foram coletadas 100 folhas de mamoeiro de diferentes variedades e com diferentes níveis de severidade de pinta-preta, indo desde folhas sadias até folhas com máximo de doença (máximo encontrado na planta).

Após coletadas, as 100 folhas passaram por uma seleção em que as que apresentavam excesso de área necrosada perdida e/ou remoção de tecidos por incidência de pragas foram excluídas, restando 87 folhas. Devido ao tamanho grande das folhas do mamoeiro, foram digitalizadas apenas as porções do limbo que correspondem à nervura central, tal como sugerido por Terra (2009) (Figura 1). Após obter as partes que seriam utilizadas na escala, região correspondente ao limbo central, as folhas foram colocadas separadamente sobre uma superfície branca com o lado das lesões voltado para a câmera, sendo capturadas as imagens digitais das folhas obedecendo a uma distância entre a câmera e as folhas de aproximadamente 40 cm.

Depois de digitalizada, cada imagem foi submetida ao programa QUANT para a obtenção da severidade das folhas (percentuais de área e lesionada) (Vale et al., 2003). Baseando-se na lei de Weber-Fechner de acuidade visual (Horsfall e Cowling, 1978) bem como na forma, distribuição e frequência das lesões, foi confeccionada uma escala diagramática com oito níveis de severidade.

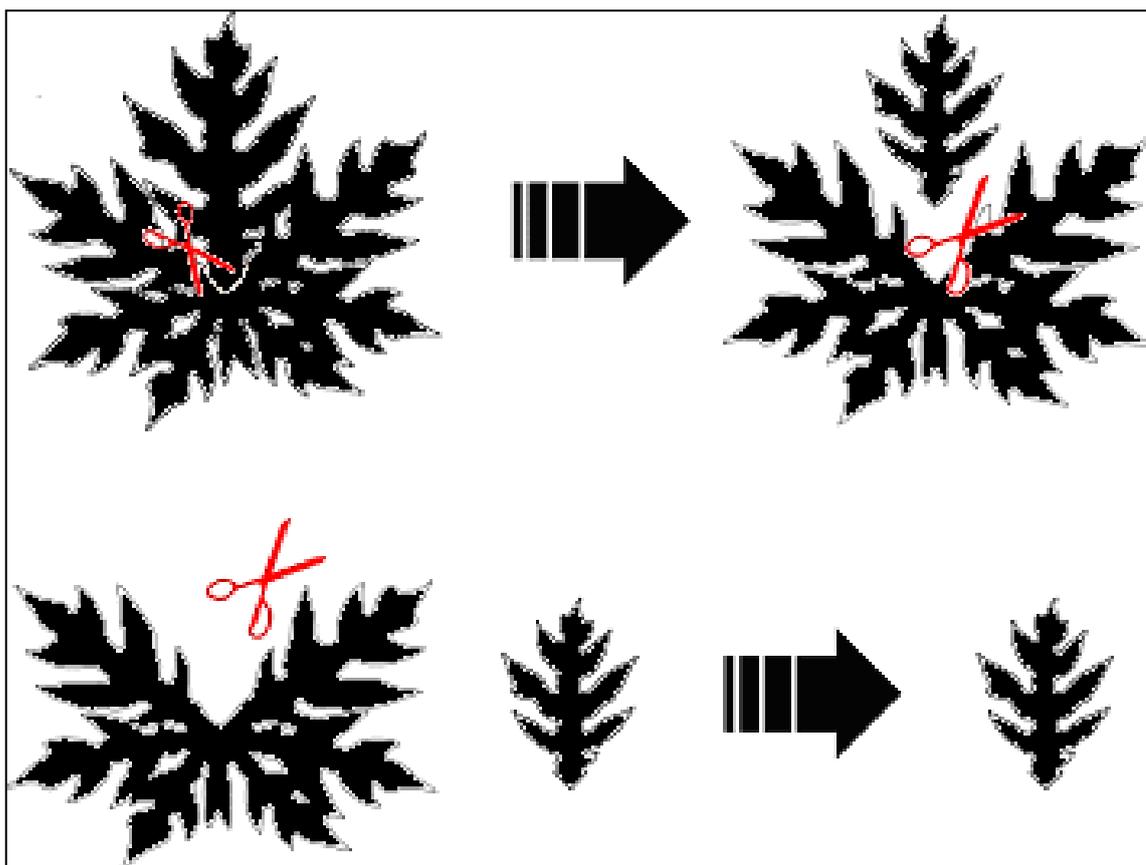


Figura 1. Esquema ilustrando a remoção da porção central do limbo foliar para elaboração da escala diagramática. Adaptado de Terra (2009).

4.2. Validação da escala diagramática

No processo de validação da escala diagramática, foram utilizadas imagens de 40 folhas com sintomas de pinta-preta em diferentes níveis de severidade. Seguindo a metodologia utilizada por Vivas et al. (2010) e Santos et al. (2011, 2017), as imagens foram inseridas aleatoriamente em slides individuais para visualização no Microsoft PowerPoint® (Vivas et al., 2010; Santos et al., 2011, 2017). A severidade foi estimada por 11 pessoas, a maioria sem experiência na quantificação de doenças e afinidade com o patossistema em estudo. Inicialmente, a severidade foi estimada sem o uso da escala diagramática e, após sete dias, com o auxílio desta. Visando avaliar a repetibilidade das estimativas com o uso da escala diagramática, sete dias após a primeira avaliação com o uso da escala, uma nova sequência das mesmas folhas foi organizada, e uma segunda estimativa visual com auxílio da escala foi efetuada pelos mesmos avaliadores.

A acurácia e a precisão de cada avaliador foram determinados por meio de regressão linear simples, com a severidade real estimada no programa Quant[®] como variável independente, e a severidade estimada pelo avaliador, como variável dependente. A acurácia das estimativas foi determinada pelo teste “t” aplicado ao intercepto da regressão linear (a), para verificar se foi significativamente diferente de 0, e ao coeficiente angular da reta (b), para testar se foi significativamente diferente de 1, em nível 5% de probabilidade. Sendo que, quanto mais próximo de 1 for o coeficiente angular e mais próximo de zero for a interseção, mais acurados são os resultados.

A precisão das estimativas foi obtida pelo coeficiente de determinação da regressão (R^2), pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos real) e pela repetibilidade das estimativas, determinada pela regressão da segunda avaliação em relação à primeira, de uma mesma unidade amostral (conjunto de imagens de folhas), na qual quanto mais próximo de 1 for o valor do R^2 , mais precisa será a avaliação. As análises de regressão foram efetuadas com o auxílio do programa Microsoft Excel[®].

4.3. Comparação de métodos de quantificação de pinta-preta em folhas de mamoeiro

Visando efetuar uma comparação entre os métodos de quantificação da intensidade de pinta-preta em folha de mamoeiro, quais sejam, escala diagramática proposta e escalas e/ou chaves descritivas, simulou-se um experimento contendo 10 tratamentos e 3 repetições. Os valores de severidade de cada parcela foram obtidos com o auxílio da função `rnorm` do programa R. Posteriormente, imagens de folhas de mamoeiro com sintomas de pinta-preta foram inseridas em slides individuais para visualização no Microsoft PowerPoint[®], respeitando os valores (aproximados) simulados na etapa anterior.

Posteriormente, dois avaliadores experientes na quantificação de doenças e afinidade com o patossistema estimaram a intensidade de pinta-preta. Para tal, foram considerados os seguintes métodos de quantificação: metodologia apresentada por Oliveira e Dantas (2002); metodologia apresentada por Santos e Barreto (2003); metodologia apresentada por Kranz (1988); e metodologia proposta no presente estudo. Na metodologia de Oliveira e Dantas (2002), atribuem-se

valores de 0 a 3 de acordo com o número de lesões na folha, considerando-se (0) para folha sem lesão; (1) até 5 lesões; (2) de 5 lesões a 20 lesões; e (3) para mais de 20 lesões. A metodologia apresentada por Santos e Barreto (2003) apresenta um diagrama em que a área foliar lesionada das folhas são convertidas em notas, sendo (0) para folhas sem lesões; (1) até 0,5% de área foliar lesionada; (2) 0,6 a 3% de área foliar lesionada; (3) de 3,1% a 12,5% de área foliar lesionada; (4) de 12,6% a 25% de área foliar lesionada; (5) de 25,1% a 35% de área foliar lesionada; e (6) com mais de 35,1% de área foliar lesionada. Na metodologia apresentada por Kranz (1988), são atribuídas notas de 1 a 6: (1) para folhas com 0 a 3% cobertas por lesões; (2) para folhas com 4 a 6% cobertas por lesões; (3) para folhas com 7 a 14% cobertas por lesões; (4) para folhas com 15 a 24% cobertas por lesões; (5) para folhas com 25 a 50% cobertas por lesões; e (6) para folhas com valores acima de 50% cobertas por lesões.

Considerando a natureza dos dados (qualitativos e quantitativos), após as avaliações, foram conduzidas análises gráficas em boxplot para se inferir sobre estimativas das medidas de tendência central e dispersão dos dados. Visando comparar as metodologias, obtiveram-se estimativas de coeficiente de correlação de postos de Spearman (análise não paramétrica).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Elaboração da escala diagramática

O limite máximo de severidade encontrado nas amostras foi de 20%, limites superiores a este raramente são encontrados em pomares comerciais, uma vez que causam a senescência e queda das folhas.

Considerando os valores obtidos bem como o formato e a disposição das lesões, a escala elaborada contemplou os valores de 0,1; 0,3; 0,6; 1,0; 2,3; 5,0; 10,0 e 20,0% de área lesionada (Figura 2). Níveis de severidade semelhantes aos encontrados neste trabalho foram estabelecidos para a severidade de pinta-preta em frutos (Vivas et al., 2010).

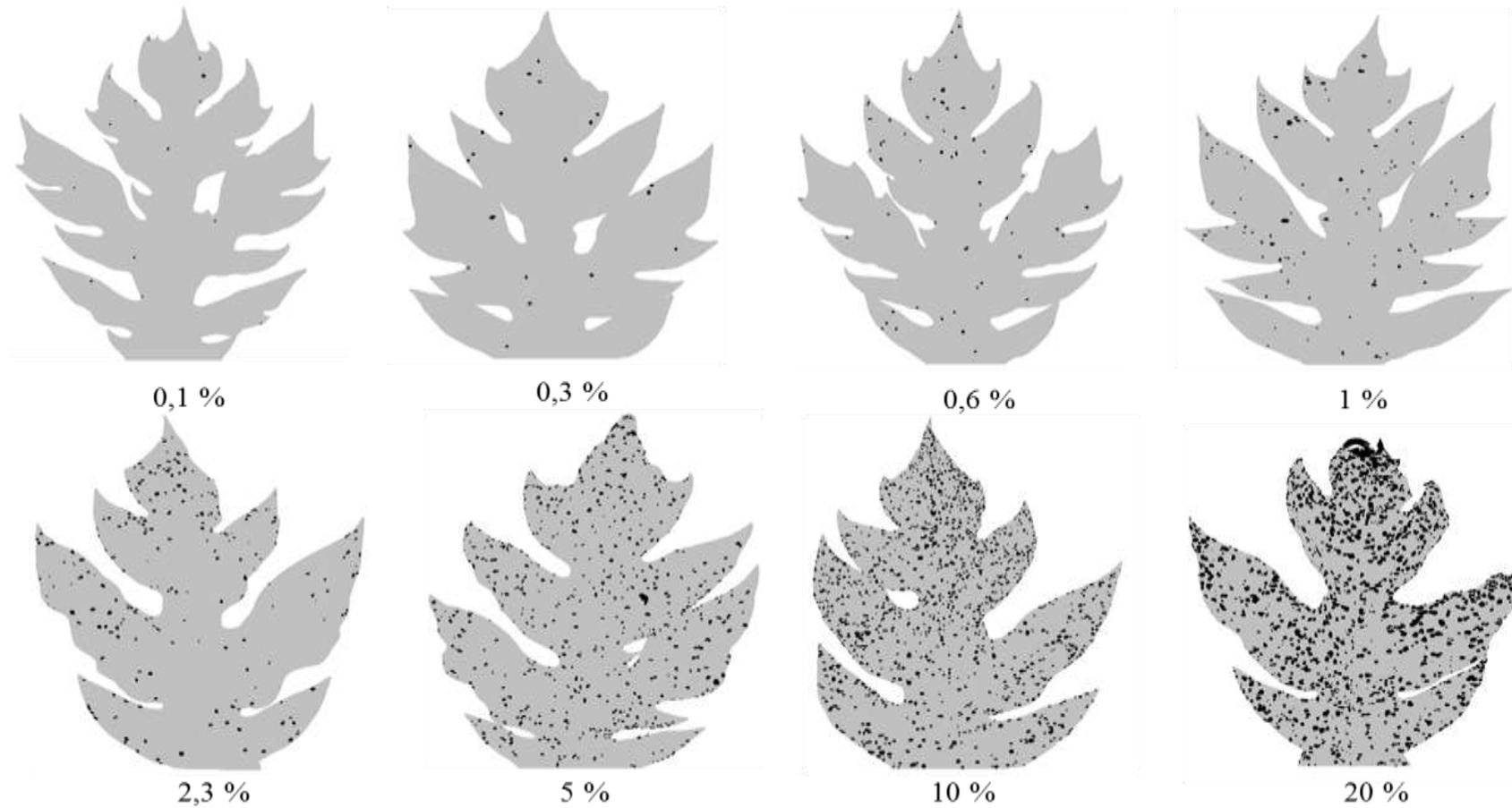


Figura 2. Escala diagramática para avaliação de severidade de pinta-preta em folha de mamoeiro indicando os níveis de 0,1; 0,3; 0,6; 1,0; 2,3; 5,0; 10,0; 20,0% de superfície foliar lesionada.

5.2. Validação da escala diagramática

No processo de validação da escala diagramática, na primeira avaliação, sem o uso da escala diagramática, 82% dos avaliadores apresentaram valores do intercepto significativamente diferentes de zero ($P=0,05$), com valor médio de 4,97. Observaram-se, ainda, 100% de desvios positivos constantes, indicando que todos os avaliadores superestimaram a doença nos níveis iniciais (Tabela 1). Com a utilização da escala, 25% dos avaliadores (C, E e G) apresentaram valores de intercepto diferentes de zero ($P=0,05$) na primeira avaliação e 46% (A, G, H, J e K) na segunda (Tabela 1), a maioria com desvios positivos constantes indicando superestimativa.

A tendência dos avaliadores em superestimar a severidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro quando utilizaram a escala é semelhante à constatada na validação das escalas para cercosporiose do pimentão (Michereff et al., 2006), mancha de Phoma em cafeeiro (Salgado et al., 2009) e helmintosporiose comum em milho (Lazaroto et al., 2012). Por outro lado, contrasta com o verificado em outras escalas (Gomes et al., 2004; Vivas et al., 2010; Santos et al., 2011). No entanto, é importante ressaltar que, embora alguns avaliadores tenham apresentado valores do intercepto significativamente diferentes de zero ($P=0,05$), a escala proporcionou uma redução nos valores médios do intercepto, os quais saíram de 4,97, na avaliação sem o auxílio da escala, para 0,03 e 0,23, com auxílio da escala, nas primeira e segunda avaliações com escala, respectivamente, o que mostra uma melhora na acurácia dos avaliadores com o uso da escala.

Baseado no que foi exposto anteriormente, é possível perceber que a presença de desvios constantes, positivos e negativos, tem sido comum em diferentes estudos que propuseram a criação de escalas diagramáticas. No entanto, o fato de os avaliadores superestimarem a doença — tais como os estudos conduzidos por Michereff et al. (2006), para cercosporiose do pimentão; Salgado et al. (2009), para mancha-de-phoma em cafeeiro; Lazaroto et al. (2012), para mancha-alvo em folhas de acerola; Celoto e Papa (2010), para quantificação da severidade da mancha de *Cylindrocladium* em eucalipto; Damasceno et al. (2014) — e subestimarem a doença — como apresentado por Nascimento et al. (2005),

para cancro-bacteriano da videira; e Vivas et al. (2010), para pinta-preta em frutos de mamoeiro — não comprometeu a qualidade das escalas propostas. Também é importante ressaltar que, como os avaliadores, em sua maioria, não possuem experiência em avaliar doenças, estes podem melhorar a acurácia com treinamentos específicos.

Tabela 1. Estimativas do intercepto (a), do coeficiente angular da reta (b) e do coeficiente de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples em avaliações sem e com a utilização da escala diagramática.

Avaliador	Sem escala			Com escala					
	a	b	R^2	a	b	R^2	a	b	R^2
Avaliador A	3,63*	2,38*	0,72	0,56	0,67*	0,92	0,86*	0,52*	0,90
Avaliador B	2,47*	0,83	0,58	0,39	0,77*	0,96	0,16	0,53*	0,96
Avaliador C	8,54*	3,15*	0,36	-3,09*	2,27*	0,91	-1,76	1,87*	0,87
Avaliador D	12,43*	5,14*	0,69	-0,09	1,01	0,95	0,06	0,97	0,96
Avaliador E	5,24*	2,50*	0,88	1,15*	0,77*	0,92	0,25	0,74*	0,96
Avaliador F	1,70	1,33	0,55	0,35	0,52*	0,90	-0,32	0,71*	0,94
Avaliador G	1,41*	0,17*	0,22	0,52*	0,20*	0,81	0,56*	0,16*	0,85
Avaliador H	1,17*	0,44*	0,69	0,07	0,55*	0,97	0,35*	0,38*	0,95
Avaliador I	10,47*	3,06*	0,46	-0,16	0,85*	0,98	0,48	0,69*	0,95
Avaliador J	3,62*	2,98*	0,82	0,32	0,72*	0,96	0,74*	0,60*	0,92
Avaliador K	3,99	3,99*	0,66	0,27	0,74*	0,93	1,10*	0,73*	0,89
Média	4,97	2,36	0,60	0,03	0,82	0,93	0,23	0,72	0,92

*Asterisco indica que a hipótese de nulidade ($a=0$ ou $b=1$) foi rejeitada pelo teste t ($P=0,05$).

Com relação aos valores do coeficiente angular da reta (b), na avaliação sem auxílio da escala, com exceção dos avaliadores (B e F), todos os avaliadores apresentaram valores significativamente diferentes de 1 ($P=0,05$), com valor médio de 2,36, indicando a presença de desvios sistemáticos (Tabela 1). Com a utilização da escala, apenas o avaliador (D) apresentou resultado significativamente igual a 1 ($P=0,05$); no entanto, os valores médios, tanto na primeira (0,82) quanto na segunda avaliações (0,72), foram bem mais próximos de 1 (Tabela 1).

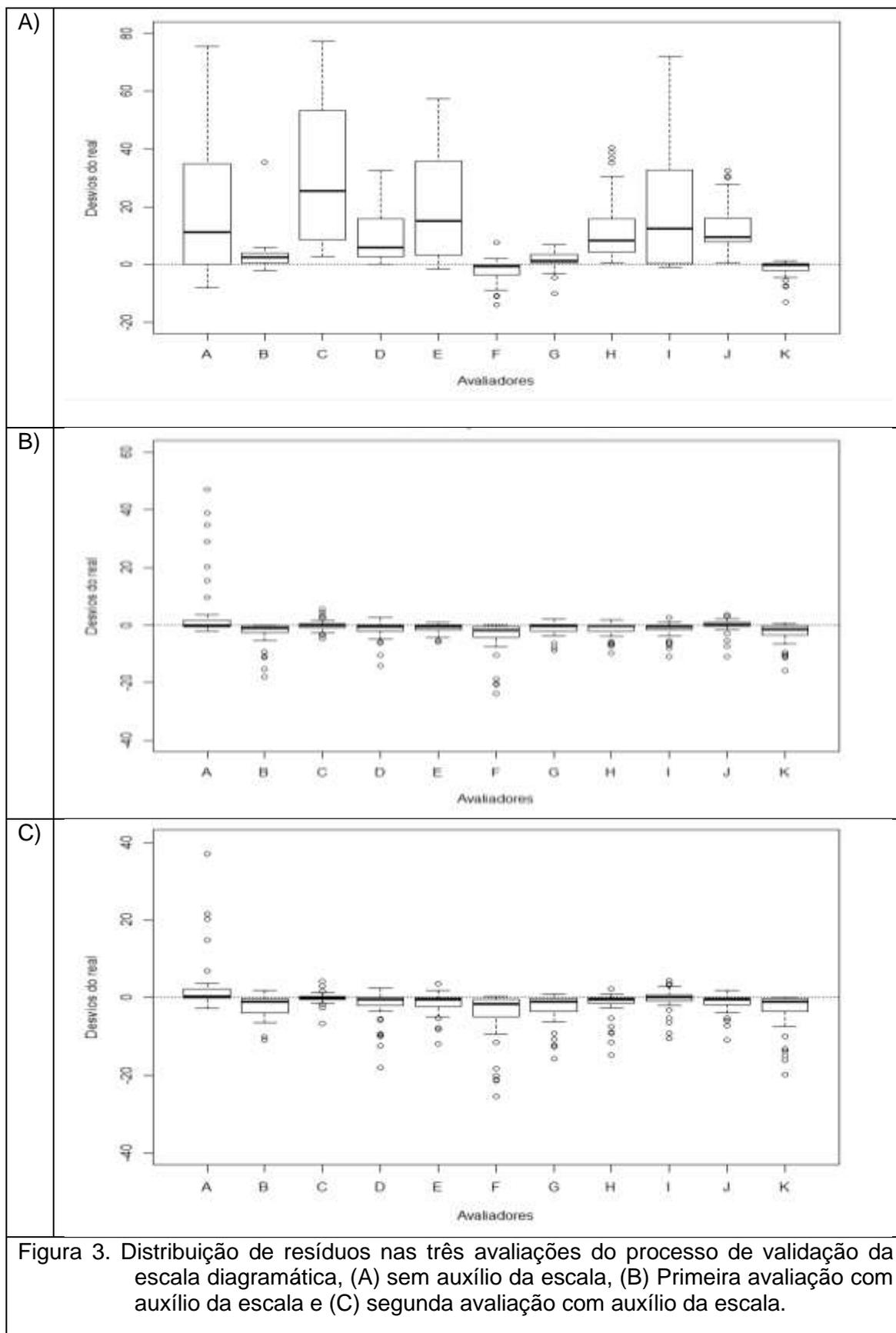
Quanto à análise de precisão, as estimativas visuais da severidade sem a utilização da escala explicaram de 22 a 88% da variação (R^2) na mensuração eletrônica da doença, com média de 60% (Tabela 1). Já, com a utilização da escala, na primeira avaliação, as estimativas visuais explicaram de 81 a 98% da variação na mensuração eletrônica, com média de 93% (Tabela 1). Na segunda avaliação, com auxílio da escala, as estimativas visuais explicaram de 85 a 96% da variação,

com média de 92% (Tabela 1). Os níveis de precisão das estimativas visuais da pinta-preta em folhas de mamoeiro com auxílio da escala foram semelhantes aos constatados por outros trabalhos de validação de escalas para avaliação de doença (Vivas et al., 2010; Capucho et al., 2011; Nunes e Alves., 2012; Juliatti et al., 2013; Lima et al., 2013).

Efetivamente, os valores de R^2 comprovam que a escala proporcionou maior precisão para os avaliadores, com média de 93 e 92%, respectivamente, nas primeira e segunda avaliações com auxílio da escala. Estes níveis de R^2 permitem considerar que os avaliadores alcançaram um nível de precisão satisfatório para este tipo de avaliação (Junior et al., 2013).

Com relação ao erro absoluto (diferença entre a severidade estimada e a real), foi possível observar que a distribuição dos desvios na avaliação sem auxílio da escala diagramática apresentou dispersão -10% a +75% (Figura 3^a), mostrando que não houve precisão nas estimativas dos avaliadores. Por outro lado, com a utilização da escala, tanto na primeira quanto na segunda avaliação, a distribuição dos desvios foi de aproximadamente -7% a +5% (Figuras 3B e 3C). Os resultados aqui apresentados mostram que a escala, além de diminuir a dispersão dos resíduos, foi capaz de promover uma aproximação dos resultados entre os avaliadores. A escala também proporcionou uma redução dos valores das estimativas, fazendo com que os avaliadores não superestimassem a doença.

De acordo com programas computacionais utilizados em treinamentos de quantificação de doença, avaliadores que apresentam variação entre + ou - 10% são considerados bons (Tomerlin & Howell, 1988) e *Disease Pro* (Nutter Jr & Worawitlikit, 1989). Em estudos de validação de escala em que a maioria dos avaliadores não apresenta experiência em quantificar doença, é esperado que haja um contraste na distribuição dos resíduos entre as avaliações com e sem o auxílio da escala, isso porque uma boa escala irá proporcionar aos avaliadores uma maior precisão, o que é corroborado com uma distribuição de resíduos mais homogênea, como verificado nos resultados do presente trabalho.



5.3. Repetibilidade das estimativas com uso da escala

A escala proporcionou aos avaliadores uma boa repetibilidade nas estimativas, pois a quantidade média de variação na primeira avaliação explicada pela segunda avaliação foi de 91% (Tabela 2). Ao relacionarmos as duas avaliações realizadas com o auxílio da escala diagramática, os valores do intercepto para 36% dos avaliadores diferiram significativamente de zero ($P=0,05$), com média de 0,36, ao passo que aproximadamente 91% dos avaliadores apresentaram coeficiente angular significativamente diferente de 1 ($P=0,05$), com média de 0,84 (Tabela 2). Valores semelhantes a estes também foram obtidos em outros estudos de avaliação de escala diagramática (Nascimento et al., 2004; Vivas et al., 2010; Damasceno et al., 2014).

Com base nesses resultados, pode-se afirmar que esta escala servirá como ferramenta para se obterem resultados acurados e precisos nas diferentes áreas de trabalho referentes à pinta-preta do mamoeiro.

Tabela 2. Valor do intercepto (a); coeficiente angular da reta (b); e coeficiente de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples relacionando a segunda à primeira estimativa da severidade de pinta-preta nas folhas por um mesmo avaliador, com o auxílio da escala diagramática.

Avaliador	a	b	R²
Avaliador A	0,65	0,73*	0,86
Avaliador B	-0,05	0,68*	0,96
Avaliador C	1,12	0,80*	0,89
Avaliador D	0,36	0,92*	0,94
Avaliador E	-0,57	0,92*	0,94
Avaliador F	-0,41	1,27*	0,88
Avaliador G	0,31*	0,71*	0,80
Avaliador H	0,35*	0,68*	0,94
Avaliador I	0,68*	0,80*	0,94
Avaliador J	0,93*	0,97	0,92
Avaliador K	0,93*	0,97	0,92
Média	0,36	0,84	0,91

*Asterisco indica que a hipótese de nulidade ($a=0$ ou $b=1$) foi rejeitada pelo teste t ($P=0,05$).

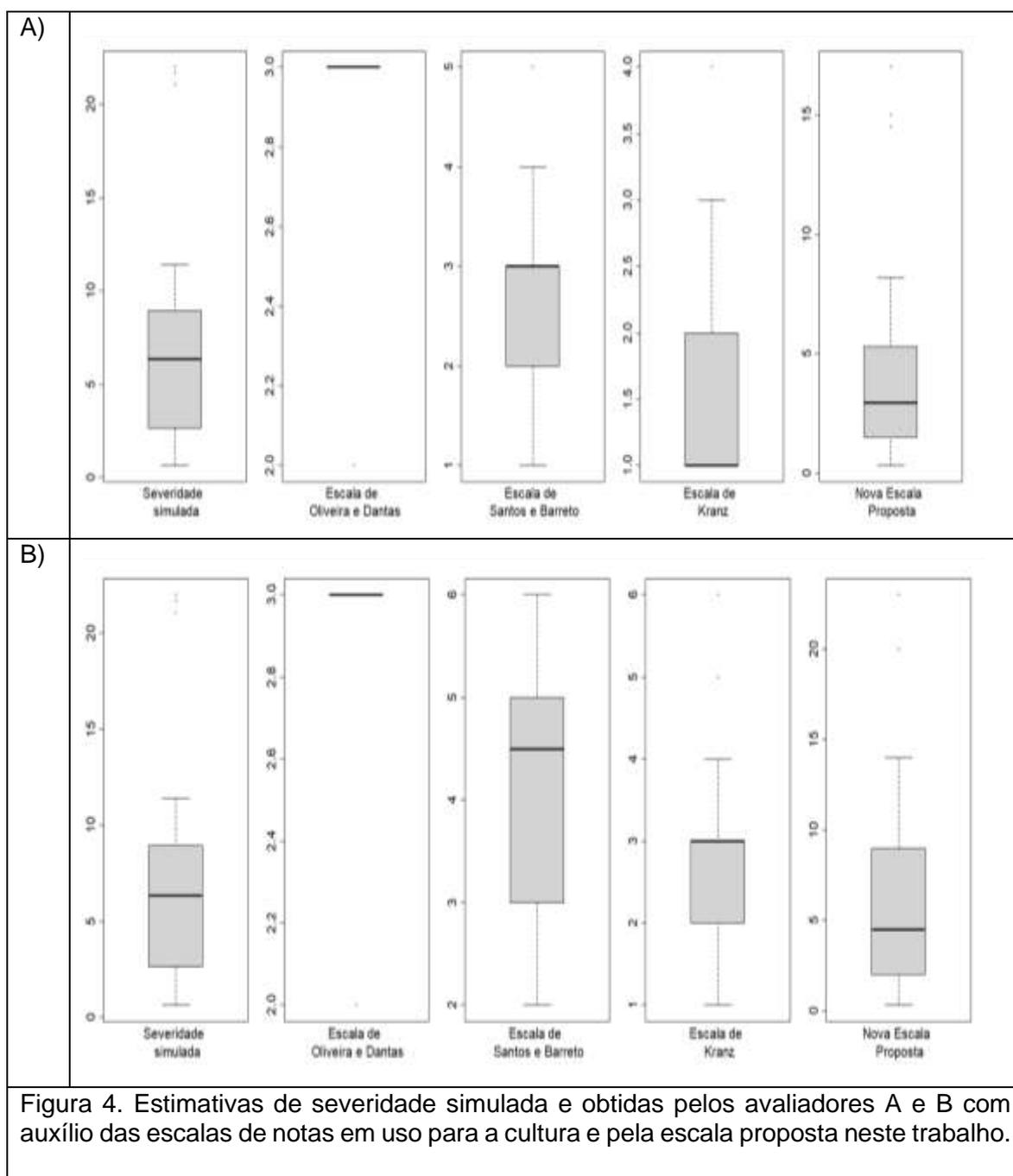
5.4. Comparações de métodos de quantificação de pinta-preta em mamão

Na avaliação realizada com a escala de notas proposta por Oliveira e Dantas (2002), não foi possível discriminar os diferentes níveis de severidade da doença para ambos os avaliadores (Figuras 4^a e 4b). Pelas características da escala, ambos os avaliadores atribuíram valores máximos para as estimativas de intensidade de pinta-preta em folha.

Para a escala de notas proposta por Santos e Barreto (2003), é possível observar que o avaliador 1 apresentou uma tendência a atribuir maiores valores de intensidade para a doença (Figura 4^a), o que pode acarretar dificuldade para discriminar os níveis de severidade, levando à perda de informação para experimentos conduzidos. Ademais, ao comparar a tendência entre os dois avaliadores, observa-se que o avaliador 2 apresenta uma amplitude maior nas suas estimativas (Figura 4b), o que demonstra que a escala pode gerar resultados divergentes na avaliação da doença.

Para a escala de Kranz (1988), a discriminação dos diferentes níveis de severidade não foi alcançada pelos avaliadores (Figuras 4^a e 4b). Observa-se uma dissonância entre as estimativas obtidas para os diferentes avaliadores: enquanto o avaliador 1 concentrou 50% das notas em valor 1, o avaliador 2 apresentou 50% das notas entre os valores de 3 e 4.

Quando a escala diagramática proposta no presente estudo foi utilizada, ambos os avaliadores apresentaram estimativas com presença de amplitude, o que significa que a escala proporcionou aos avaliadores a capacidade de distinguir os diferentes níveis de severidade nas diferentes parcelas (Figuras 4^a e 4b). Somado a isso, as estimativas dos avaliadores se assemelham às estimativas reais.



Frente à distribuição dos dados obtidos, foi aplicado o coeficiente de correlação de postos de Spearman. Pelas estimativas de correlação obtidas, percebe-se uma concordância entre as estimativas de intensidade de doença obtidas, além de uma forte correlação entre a severidade estimada pelos avaliadores e a severidade real.

Com isso, foi possível observar que a maioria das avaliações para ambos os avaliadores apresentou uma forte correlação, em que o maior coeficiente atingiu o valor de 0,99 entre a severidade real e a escala proposta neste trabalho (Figura

5). Da mesma forma, a correlação entre a escala proposta por Kranz (1988) e a escala proposta neste trabalho apresentou coeficiente de 0,99 (Figura 5). O coeficiente de correlação entre os avaliadores 1 e 2 para a escala proposta neste trabalho foi de 0,94, o que pode ser considerado um indicativo de reprodutibilidade e, conseqüentemente, pode ser entendido como indicativo de precisão de um método de avaliação de doença (Nutter Jr. Et al., 1993).

Os resultados aqui relatados reforçam a ideia de que as escalas diagramáticas, além de serem de fácil utilização, são ferramentas que proporcionam à obtenção de estimativas apropriadas a comparação de tratamentos experimentais, adequadas à análise de variância e de médias. Tal fato torna as escalas diagramáticas, atualmente, as ferramentas mais utilizadas em trabalhos de quantificação de doença em plantas (Amorim et al., 2018).

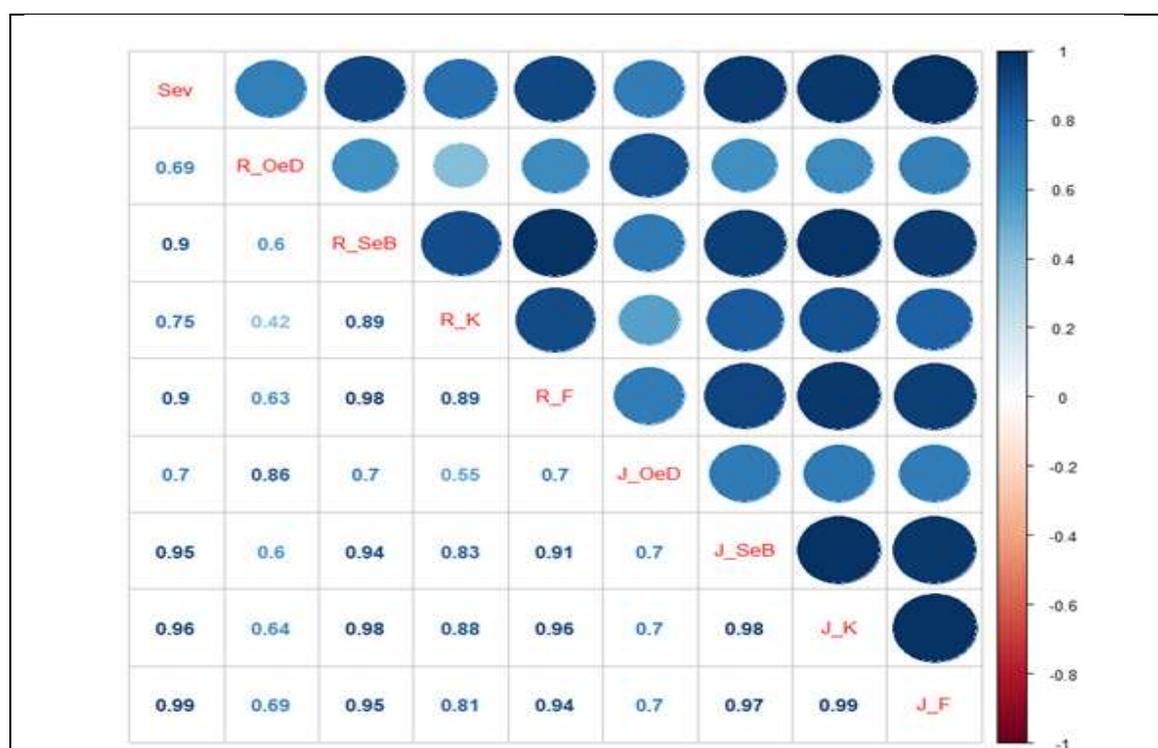


Figura 5. Representação gráfica de matriz de correlação postos de Spearman. Sev (severidade real); OeD (escala proposta por Oliveira e Dantas); SeB (escala proposta por Santos e Barreto); K (escala proposta por Kranz); e F (Escala proposta neste trabalho). R= avaliador A; e J= avaliador B

6. RESUMO E CONCLUSÕES

As escalas diagramáticas, atualmente, são as ferramentas mais utilizadas quando se pretende estimar, de forma precisa, a severidade das doenças em plantas. Tal ferramenta é responsável por reduzir a subjetividade dos avaliadores, aproximar as estimativas dos avaliadores da estimativa real bem como aumentar a eficiência nos trabalhos de quantificação de doenças.

O presente trabalho propôs uma escala diagramática para quantificação da severidade de pinta-preta em folhas de mamoeiro, a qual contemplou os valores de 0,1; 0,3; 0,6; 1,0; 2,3; 5,0; 10,0; e 20,0% de área lesionada. A escala proporcionou aos avaliadores resultados precisos, os quais apresentaram coeficiente de variação médio de 92%, além de possibilitar uma boa repetibilidade nas estimativas.

Ao comparar a escala proposta com outros métodos atualmente utilizados na quantificação da pinta-preta, foi observado que a escala proposta, além de apresentar resultados semelhantes aos obtidos pelas outras metodologias avaliadas, foi a que melhor discriminou os genótipos, o que evidencia o potencial dessa ferramenta no processo de quantificação de pinta-preta em folhas de mamoeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amorim, L. Rezende, J. A. M. Bergamin Filho, A. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. v. 1. 573p.
- Amorim, L. Avaliação de doenças. In: Bergamin Filho, A., Kimati, H., Amorim, L. (Eds.) Manual de fitopatologia, 3ed. São Paulo. Agronômica Ceres. 1995. pp.647-671.
- Aveskamp, M.M., Gruyter, J., Woudenberg, J.H.C., Verkley, G.J.M., Crous, P. W. (2010) Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 65: 1–60.
- Badillo, V.M. (2000) *Carica L. vs. Vasconcella St. Hil. (Caricaceae): con la rehabilitación de este último*. *Ernstia* 10: 74–79.
- Badillo, V.M. (1971) *Monografía de la familia Caricaceae*. Editorial Nuestra América C. A. Maracay Venezuela, 221p.
- Berger, R.D (1980), Measuring disease intensity. In: Teng PS, Krupa SV (Eds.) *Crop loss assessment*. Saint Paul MN. University of Minnesota. pp. 28-31.
- Bergamin Filho, A. & Amorim, L. *Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico*. Piracicaba. Agronômica Ceres. 1996.

- Camoचना, R.C., Santos, I. dos., Mazaro, S.M. (2008) Escala diagramática para avaliação da severidade da Mancha Ocular em milho causada por *Kabatiella zeae*. *Ciência Rural* 38: 2124–2131.
- Capucho, A.S., Zambolim, L., Duarte, H. S. S., & Vaz, G. R. O. (2011). Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. *Plant Pathology*, 60(6), 1144-1150.
- Carvalho, F.A., Files, D. & Renner, S.S. 2015. Taxonomy in the electronic age and an e-monograph of the papaya family (Caricaceae) as an example. *Cladistics* 31: 321–329.
- Carvalho, F.A. and., Renner, S.S. (2014) The phylogeny of the Caricaceae. In: Ming, R., Moore, P.H. (org) *Genetics and Genomics of Papaya*. Springer, New York: p. 81–92 81–92.
- Celoto, M. I., & Papa, M. F. (2010). Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha alvo em folhas de acerola. *Tropical Plant Pathology*, 35(4), 258-262.
- Damasceno, V.F.F., Furtado, E.L., Ferreira Filho, P.J. (2014) Comparação de dois métodos de elaboração e validação de escala diagramática para a quantificação da severidade da mancha de *Cylindrocladium* em eucalipto. *Summa Phytopathol* 40: 248–255.
- Duarte, H. S. S., Zambolim, L., Capucho, A. S., Júnior, A. F. N., Rosado, A. W. C., Cardoso, C. R., & Mizubuti, E. S. G. (2013). Development and validation of a set of standard area diagrams to estimate severity of potato early blight. *European Journal of Plant Pathology*, 137(2), 249-257.
- FAO. faostat. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acessado em 01 de julho de 2020.
- Filho, S.H.P., Oliveira, A.A.R., Haddad, F. (2016) Controle alternativo de doenças do mamoeiro. Brasília, DF 36p.

- Fuentes, G. Santamaría M. J. (2014). Papaya (*Carica papaya* L.): Origin, domestication and production. In Ming R., and Moore P. H. (eds.), *Genetics and Genomics of Papaya*, Springer, New York, pp. 3–15.
- Gomes, A.M., Michereff, S. J., & Mariano, R. L. (2004). Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. *Summa Phytopathologica*, 30(1), 38-42.
- Horsfall, J.G., Cowling, E.B. (1978) Pathometry: the measurement of plant disease. In: Horsfall, J.G., Cowling, E.B. (Eds.) *Plant disease: An advanced treatise – how disease develops in populations*. New York: Academic Press, pp.119-136.
- IBGE (2017) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção Agrícola*.
- Júnior, J. R. V., de Freitas Fernandes, C., Rodrigues, M. M., Costa, J. N. M., da Silva, D. S. G., de Cássia Alves, R., & da Fonseca, A. S. (2013). Quantificação de dano foliar produzido por crisomelídeos em feijão caupi por meio de escala diagramática de severidade. Comunicado técnico 398. Embrapa: Porto Velho, RO. 6 p., Out., 2013.
- Juliatti, F.C., do CRATO, F. F., Juliatti, F. C., Couto, K., & Juliatti, B. C. M. (2013). Escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. *Bioscience Journal*, 29(3).
- Kist, B.B., Santos, C., Carvalho, C., Treichel, M., & Filter, C. (2018). Anuário brasileiro da fruticultura 2018. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 88, 2-018.
- Kranz, J. (1988) Measuring plant disease. In: Kranz, J., Rotem, J. (Eds.) *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. Heidelberg: Springer-Verlag, pp.35-50.
- Laranjeira, F.F. (2005) Problemas e perspectivas da avaliação de doenças como suporte ao melhoramento do maracujazeiro intr.: EMBRAPA CERRADO. PLANALTINA-DF.

- Lazaroto, A., Santos, I. D., Konflanz, V. A., Malagi, G., & Camochena, R. C. (2012). Escala diagramática para avaliação de severidade da helmintosporiose comum em milho. *Ciência Rural*, 42(12), 2131-2137.
- Leite, R.M.V.B.C., Amorim, L. (2002) Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. *Summa Phytopathologica*, 28:14-19.
- Liberato JR., Zambolim L (2002) Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: Zambolim L, Vale FXR, Monteriro AJA, Costa H (eds.) Controle de doenças de plantas: fruteiras. Suprema Gráfica e Editora, Viçosa, 1023-1138.
- Liberato, J.R., McTaggart, A. R., & Shivas, R. G. (2007). *Asperisporium* black spot of papaya (*Asperisporium caricae*). Available online: <http://www.padiil.gov.au>.
- Lima, H. E. D., Nechet, K. D. L., Vieira, B. D. A. H., Oliveira, J. R. D., Duarte, H. D. S. S., Queiroz, E. D. S., & Oliveira, F. D. L. (2013). Elaboração e validação de escalas diagramáticas para avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi em cultivares com trifólios morfológicamente distintos. *Ciência Rural*, 43(10), 1735-1743.
- Michereff, S.J., Maffia, L.A., Noronha, M.A. (2000) Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. *Fitopatologia Brasileira*, 25:612-619.
- Michereff, S. J. (2001). *Epidemiologia de doenças de plantas*. Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de agronomia–Fitossanidade.
- Marin, S. L. D. (2004). *Mamão Papaya–Produção, Pós-Colheita e Mercado*. CEP, 60120, 002.
- Michereff, S. J., Noronha, M. D. A., Andrade, D. E. G. T. D., Oliveira, E. P. D., Xavier Filha, M. S., & Moreira, P. A. A. (2006). Elaboração e validação de escala diagramática para a cercosporiose do pimentão. *Summa phytopathologica*, 32(3), 260-266.

- Nascimento, A. R., Michereff, S. J., Mariano, R. D. L., & Gomes, A. M. (2005). Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. *Summa Phytopathologica*, 31(1), 59-64.
- Nunes, C.C., & Alves, S. A. M. (2012). Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da severidade de entomosporiose em folhas de pereira. *Summa Phytopathologica*, 38(3), 239-244.
- Nutter Jr FW, Schultz PM (1995) Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17:174-184.
- Nutter Jr, F. W., & Worawitlikit, O. (1989). Disease. Pro: a computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. *Phytopathology*, 79(1).
- Oliveira, A.A.R., Santos Filho, H.P., Andrade, E.C. de., Meissner Filho, P.E. (2011) Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças do mamoeiro no Brasil. In: GHINI, R., HAMADA, E., BETTIOL, W. (org) Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente: p. 356 356.
- Oliveira, A.A.R.; Dantas, J.L.L. Reação degenótipos de mamão à varíola (*Asperisporium caricae*), sob condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, Belém. Anais... Sociedade Brasileira de Fruticultura: Belém, PA, 2002. 4p.
- Poltronieri, T. P.S., Silveira S. F., Vivas, M., Santa-Catarina, R., Azevedo, A. O. N., Santos, P. H. D., Pereira, M. G. (2020). Topcross hybrids in papaya: Genes derived from backcrossing provide resistance to multiple diseases. *Crop Protection*, 105240.
- Poltronieri T.P.S., Silveira S.F., Vivas M., Santa-Catarina R., Azevedo A.O.N., Cortes D.F.M., Pereira M.G (2019) Identification of papaya hybrids resistant to *Stagonosporopsis caricae* by heterosis: a possible reality?. *Euphytica* 215: 1–8.

- Rezende, J.A., Martins, M.C. (2005) Doenças do mamoeiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (org) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas., Ceres, v.2. São Paulo: p. 435–443 435–443.
- Salgado, M., Pozza, E. A., Lima, L. M. D., Pereira, R. T., & Pfenning, L. H. (2009). Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha de Phoma do cafeeiro. *Tropical Plant Pathology*, 34(6), 422-427.
- Santos, M.C., Barreto, M. Estudo epidemiológico da varíola do mamoeiro em cultivares submetidos a tratamento com fungicidas. *Summa Phytopathologica*, v.29, p.141-146. 2003.
- Santos, P. H. D., Oliveira, C. R. R., Gonçalves, V. M. L., Aredes, F. A. S., & da Silveira, S. F. (2019). Phylogeographic distribution of *Asperisporium caricae* isolates in brazilian southeastern and northeastern coastal regions. *Bioscience Journal*, 35(3).
- Santos, P.H.D., Silveira, S. F. D., Vivas, M., Carvalho, B. M., Pereira, M. G. (2017). Alternative control to black spot disease in papaya genotypes. *Summa Phytopathologica*, 43(1), 60-62.
- Santos, P.H.D., Vivas, M., da Silveira, S.F., Silva, J.M., Terra, C.E.P.S. (2011). Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade de oídio em folhas de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, 37(4), 215-217.
- SECEX/MDIC. Secretaria de Comércio Exterior do Ministerio do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Portal Comex Stat. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br>>. Acesso em: 05-06-2020.
- Serrano, L.A.L., Cattaneo, L.F. (2010) O Cultivo do mamoeiro no Brasil. *Rev Bras Frutic* 32: 657–959.
- Souza, M.G de., Pereira, J.C.R., Garcia, M.V.B., Kano, C., Briosso, P.S.T. (2014). Primeiro relato de Pinta-preta, causada por *Asperisporium caricae*, em mamoeiro no Amazonas. EMBRAPA, Comunicado Técnico-109.

- Spósito, M.B., Amorim, L., Belasque Junior, J., Bassanezi, R.B., Aquino, R. (2004) Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. *Fitopatologia Brasileira*, 29:81-85.
- Suzuki, M.S., Zambolim, L., Liberato, J.R. (2007) Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. *Summa Phytopathol* 33: 167–177.
- Terra, C.E.P.S. (2009). Avaliação de genótipos e indutores de resistência no controle da pinta-preta do mamoeiro. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes. 58f).
- Tomerlin, J.R., & Howell, T. A. (1988). Distrain: a computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. *Plant Disease*, 72(5), 455-459.
- Treichel Michelle, et al. (2016) Anuário Brasileiro da Fruticultura. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 88p.
- Vale, F.X.R., Fernandes Filho, E.I., Liberato, J.R. (2003) QUANT. A software plant disease severity assessment. 8 th International Congress of Plant Pathology, Christchurch New Zealand, p.105.
- Vale, F. X. R.; Jesus JR., W. C.; Zambolim, L. Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. 531p
- Ventura, J.A., Costa, H., Tatagiba, J.S. (2003) Manejo das doenças do mamoeiro. In: MARTINS, D.S., COSTA, A.F.S. (org) Cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória-ES: Incaper, p. 229–308 229–308.
- Vivas, J. M. S., Silveira, S. F., Mussi-Dias, V., Santos, P. H. D., Ramos, G. K. S., Santos, P. R., Almeida, R. N. (2020). Sensitivity of hyperparasitic fungi to alternative products for use in the control of papaya black spot. *Brazilian Journal of Biology*, (AHEAD).
- Vivas J.M.S., Silveira S.F., Santos P.H.D., Carvalho B.M., Poltronieri T.P.S., Jorge T.S., Santos J.S., Kurosawa R.N.F., Morais R (2018) Antagonism of fungi with

biocontrol potential of papaya black spot caused by *Asperisporium caricae*. 12: 827–833.

Vivas, J. M. S., Silveira, S. F. D., Santos, P. H. D. D., Pinho, D. B., Pereira, O. L. (2017). Selection of fungi with biocontrol potential against the black spot disease of papaya1. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 47(4), 369-376.

Vivas, M., Silveira, S. F., Pio-Viana, A., Amaral-Júnior, A. T., Ferreguetti, G. A., Pereira, M. G. (2015). Resistance to multiple foliar diseases in papaya genotypes in Brazil. *Crop Protection*, 71, 138-143.

Vivas, M., Silveira, S. F. D., Vivas, J. M. S., & Pereira, M. G. (2012). Patometria, parâmetros genéticos e reação de progênies de mamoeiro à pinta-preta. *Bragantia*, 71(2), 235-238.

Vivas, M., Terra, C. E. P. D. S., Silveira, S. F. D., Fontes, R. V., & Pereira, M. (2010). Escala diagramática para avaliação da severidade da pinta-preta em frutos de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, 36(2), 161-163.

Vivas, M. (2009) Avaliação de germplasma e híbridos de mamoeiro quanto à resistência às doenças causadas pelos fungos *Asperisporium caricae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Oidium caricae* e *Phoma caricae-papayae*. Dissertação (mestrado em genética e melhoramento de plantas) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro 123p.

Zhu, Y.J., Jia, R. (2016) Papaya genome analysis for disease resistance genes and molecular markers in *Carica papaya* and wild relative: *Vasconcellea goudotiana*. *Acta Hort* 1111: 1–6.