Escalas Diagramáticas para Avaliação da Severidade do Cancro Cítrico

José Belasque Júnior^{1*}, Renato B. Bassanezi¹, Marcel B. Spósito^{1*}, Luciane M. Ribeiro^{1*}, Waldir C. de Jesus Junior¹ & Lilian Amorim^{2*}

¹Departamento Científico, Centro de Pesquisas Citrícolas, Fundecitrus, CEP 14807-040, Araraquara, SP, e-mail: belasque@fundecitrus.com.br; ²Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, Cx. Postal 9, CEP 13418-900, Piracicaba, SP

(Aceito para publicação em 07/04/2005)

Autor para correspondência: José Belasque Júnior

BELASQUE JÚNIOR, J., BASSANEZI, R.B., SPÓSITO, M.B., RIBEIRO, L.M., JESUS JUNIOR, W.C. & AMORIM, L. Escalas diagramáticas para avaliação da severidade do cancro cítrico. Fitopatologia Brasileira 30:387-393. 2005.

RESUMO

Escalas diagramáticas são importantes ferramentas na avaliação da severidade de doenças. Objetivando padronizar a estimativa da severidade do cancro cítrico em folhas de citros (*Citrus sinensis*) causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, foram elaboradas quatro escalas diagramáticas, considerando a ocorrência de lesões isoladas pequenas (LP), médias (LM) e grandes (LG) e de lesões associadas com o ataque da larva minadora dos citros (LMC). Cada escala possui oito níveis de porcentagens da área foliar lesionada: 0,2 a 16% para LP; 0,6 a 25% para LM; 1,8 a 30% para LG e 0,5 a 30% para LMC. Inicialmente, seis avaliadores estimaram a severidade de 447 imagens digitalizadas de folhas sintomáticas com o auxílio das quatro escalas. Após treinamento, foram avaliadas mais 115 imagens. Regressões lineares entre as severidades real e estimada foram calculadas para cada avaliador. As escalas foram validadas conjuntamente considerando acurácia, precisão e reprodutibilidade das avaliações, revelando-se adequadas para quantificação da severidade do cancro cítrico nas folhas

Palavras-chave adicionais: fitopatometria, Citrus sinensis, Xanthomonas axonopodis pv. citri, avaliação de doenças.

ABSTRACT

Diagrammatic scales for citrus canker severity assessment

Diagrammatic scales are important tools for disease severity assessment. Four diagrammatic scales for isolated small (SL), medium (ML), and large (LL) lesions and for symptoms associated with the leaf miner injuries (LM), were developed to standardize the severity assessments of citrus canker caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* on leaves of citrus (*Citrus sinensis*). Each scale has eight levels of disease severity (percentage of diseased leaf area): 0.2 to 16% for SL; 0.6 to 25% for ML; 1.8 to 30% for LL and 0.5 to 30% for LM. Initially, six persons evaluated the severity of 447 digitalized images of symptomatic leaves using the four scales. Training was carried out and later on, disease severity was assessed in 115 new images. Linear regressions between actual and estimated disease severity were calculated by each person. All the scales were validated together considering the accuracy, precision and reproducibility of the evaluations. The scales were adequate to quantify the severity of citrus canker on leaves.

Additional keywords: phytopatometry, Citrus sinensis, Xanthomonas axonopodis pv. citri, disease assessment.

INTRODUÇÃO

O cancro cítrico asiático, também denominado cancrose A, é uma das mais graves doenças da cultura dos citros [Citrus sinensis (L.) Osb.]. Seu agente causal, a bactéria Xanthomonas axonopodis pv. citri (Haase) Vauterin et al., encontra-se distribuído em dezenas de países localizados nos continentes oceânico, asiático e americano, infetando plantas da família Rutaceae (Civerolo, 1984). No Brasil, a primeira constatação foi em 1957, no município de Presidente Prudente, São Paulo (Bitancourt, 1957). Neste mesmo ano, a doença foi encontrada nos Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná (Amaral, 1957). Atualmente, está

presente nos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Roraima (Porto *et al.*, 1981; Barbosa *et al.*, 2001; Nascimento *et al.*, 2003).

O controle do cancro cítrico baseia-se principalmente em medidas de exclusão e erradicação e há medidas regulamentárias determinantes da erradicação de plantas e pomares quando afetados pela doença (Barbosa et al., 2001; Gottwald et al., 2001). Apesar das medidas de controle terem sido eficientemente empregadas durante décadas, a partir de 1996, com a introdução no Brasil da larva minadora dos citros (*Phyllocnistis citrella* Stainton – Lepdoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) (Prates et al., 1996), houve um aumento significativo na incidência do cancro cítrico em São Paulo, com conseqüências ainda não totalmente conhecidas para a citricultura paulista e brasileira (Bergamin

^{*} Bolsista CNPq

Filho et al., 2000).

Os sintomas constituem-se em lesões circulares, corticosas, salientes, de coloração amarronzada e aspecto eruptivo, ocorrendo em folhas, ramos e frutos (Bitancourt, 1957; Rossetti, 2001). Nas folhas e frutos é comum o aparecimento de um halo amarelo circundando a área necrosada. Em altas severidades pode ocorrer desfolha, queda de frutos e seca de ramos (Gottwald *et al.*, 1988; Gottwald *et al.*, 1989). Plantas cítricas afetadas constituem-se na principal fonte de inóculo da doença (Graham *et al.*, 1987; Graham *et al.*, 1989), já que a sobrevivência da bactéria é curta em qualquer outro substrato (Graham *et al.*, 2000). A infecção ocorre em tecidos jovens (Goto, 1990; Graham *et al.*, 1992) durante períodos de crescimento do hospedeiro (Lee, 1921).

A quantificação de doenças de plantas, ou fitopatometria, é uma das mais importantes áreas da fitopatologia (James, 1974). Sua importância pode ser comparada até mesmo à etiologia, uma vez que conhecer o agente causal, mas não quantificar a extensão dos seus danos no hospedeiro, não faz muito sentido. Os termos mais comumente utilizados em fitopatometria são "incidência" e "severidade". O primeiro refere-se à porcentagem de plantas doentes, ou de partes de plantas doentes, e o segundo refere-se à proporção do volume ou área do tecido com sintomas (James, 1974; Amorim, 1995). A quantificação de uma doença por incidência é mais fácil, precisa e simples. A avaliação da severidade exige a adoção de chaves descritivas, escalas diagramáticas ou a análise de imagens digitalizadas por programas computacionais. Destas três, as escalas diagramáticas são as mais utilizadas atualmente e constituemse em representações ilustradas de uma série de plantas ou de partes de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade.

Severidade é a variável mais apropriada na quantificação do cancro cítrico, uma vez que reflete mais acuradamente o progresso da doença do que a incidência (Gottwald et al., 1989), além de estar associada aos danos na produção. A elaboração de uma escala diagramática exige a adoção de três critérios básicos: a) os limites superior e inferior da escala devem corresponder às quantidades máxima e mínima, respectivamente, de doença observadas no campo; b) as imagens da escala devem ser representativas dos sintomas observados sob infecção natural; e c) os níveis da escala devem respeitar as limitações da acuidade visual humana, segundo a Lei de Weber-Fechner, que determina que a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo (Amorim, 1995). Segundo este último critério, os níveis de uma escala diagramática devem crescer exponencialmente, até o limite máximo de 50%.

Os objetivos do presente trabalho foram a elaboração e a validação de escalas diagramáticas para a avaliação da severidade do cancro cítrico em folhas, considerando a existência de lesões isoladas pequenas, médias e grandes e de lesões associadas à injúria causada pela larva minadora dos citros.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatrocentos e quarenta e sete folhas com sintomas de cancro cítrico, coletadas em diferentes municípios do Estado de São Paulo, foram utilizadas para elaboração e validação das escalas diagramáticas. Todas as folhas tiveram suas imagens digitalizadas e a porcentagem da área foliar sintomática foi determinada no programa Acess®. Os limites mínimo e máximo de severidade encontrados para todas as folhas avaliadas foram 0,2 e 30,0%, respectivamente. A partir destes limites, e considerando que foram encontrados sintomas da doença em lesões isoladas de diferentes tamanhos e também associadas à injúria da larva minadora dos citros, quatro escalas diagramáticas foram elaboradas no programa CorelDraw 7[®]. Três dessas escalas foram elaboradas para lesões isoladas de tamanhos pequeno, médio e grande e uma quarta escala para lesões coalescentes simulando a associação dos sintomas de cancro cítrico à injúria da larva minadora.

A validação das escalas foi feita em duas fases: sem e com treinamento prévio. Na primeira, seis avaliadores estimaram a severidade das 447 imagens de folhas com cancro cítrico com o auxílio das quatro escalas diagramáticas. Na segunda fase, um arquivo em Power Point® com 150 imagens de folhas doentes foi utilizado para o treinamento dos avaliadores que puderam observar imagens de folhas sintomáticas sem a indicação da severidade real, num primeiro slide, e com a severidade real indicada no slide seguinte. Logo após este treinamento, os mesmos seis avaliadores estimaram a severidade de outras 115 imagens, da mesma forma como conduzido na primeira avaliação.

Utilizando-se os dados de cada avaliador calculouse a regressão linear entre a severidade real (variável independente) e a severidade estimada (variável dependente) antes e após o treinamento seguindo a metodologia descrita por Teng (1981) e Draper & Smith (1998). O conjunto de dados de todos os avaliadores foi utilizado para o cálculo da regressão linear antes e após o treinamento. Os parâmetros interseção da reta (a) e coeficiente angular (b) de cada regressão linear foram comparados pelo teste t (p = 0.05) com os valores 0 e 1, respectivamente, para a aferição da acurácia de cada avaliador individualmente, e também de todos avaliadores, antes e após o treinamento. A precisão dos avaliadores foi obtida pelos coeficientes de determinação da regressão (R2) e pela distribuição dos resíduos (Campbell & Madden, 1990; Kranz, 1988; Nutter Junior & Schultz, 1995). O melhor avaliador em cada etapa também foi comparado com os demais avaliadores para a aferição da reprodutibilidade das escalas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escala que representa as lesões pequenas de cancro cítrico (Figura 1A) possui os níveis de severidade 0,2; 0,5; 1,1; 1,9; 3,3; 5,8; 9,8 e 16,0%. Para lesões de tamanho médio (Figura 1B), os níveis são 0,6; 1,3; 2,5; 4,1; 6,7;

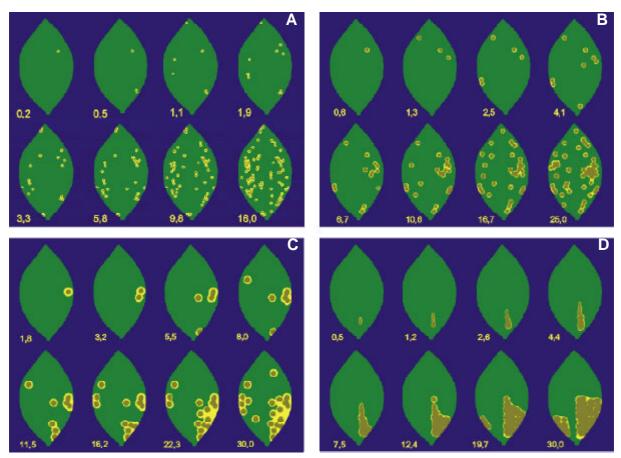


FIG. 1 - Escalas diagramáticas para avaliação da severidade (%) de cancro cítrico (Xanthomonas axonopodis pv. citri) em folhas para lesões pequenas (A), médias (B), grandes (C) e associadas com o ataque da larva minadora dos citros (D).

10,6; 16,7 e 25,0%. Na representação de folhas com lesões grandes (Figura 1C) os níveis presentes na escala são 1,8; 3,2; 5,5; 8,0; 11,5; 16,2; 22,3 e 30,0%. Para folhas com lesões de cancro cítrico associadas com a injúria provocada pelo minador dos citros (Figura 1D) os níveis da escala são 0,5; 1,2; 2,6; 4,4; 7,5; 12,4; 19,7 e 30,0%.

A avaliação da severidade do cancro cítrico em folhas com o auxílio das escalas diagramáticas foi realizada com relativa acurácia e precisão por diferentes avaliadores mesmo antes de qualquer treinamento. Três avaliadores apresentaram coeficientes angulares (b) estatisticamente iguais a um (Tabela 1 e Figura 2) e três apresentaram o parâmetro de interseção da reta (a) estatisticamente igual a zero. Três avaliadores apresentaram coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,80.

Nutter Junior *et al.* (1991) explicam que precisão é a medida de confiabilidade nas avaliações de uma doença, podendo ser quantificada pelo coeficiente de determinação de regressões lineares estabelecidas entre as severidades real e estimada. Quanto maiores os valores do R^2 , mais preciso é o avaliador. Por outro lado, a acurácia revela o quanto a severidade real está próxima da estimativa média realizada pelo avaliador. Sua quantificação pode ser feita

TABELA 1 - Estimativas da interseção da reta (a) e do coeficiente angular (b) e coeficientes de determinação (R^2) das equações de regressão linear calculadas entre as severidades real e estimada de cancro cítrico $(Xanthomonas\ axonopodis\ pv.\ citri)$ realizadas por seis avaliadores individualmente e para o conjunto dos mesmos, antes e após treinamento (y = a + bx), em que y representa a severidade estimada e x, a severidade real)

Avaliador	Antes do treinamento			Após o treinamento			
Availaggi	a ⁽ⁱ⁾	$b^{(ii)}$	R^2	а	b	R^2	
1	0,52*	0,45*	0,65	0,70*	0,87*	0,90	
2	1,58*	0,93*	0,76	1,14*	0,73*	0,82	
3	-0,0 3 ^{NS}	0,88*	0,88	0,53*	0,75*	0,88	
4	-0 ,1 0 ^{NS}	1, 0 3 ^{NS}	0,85	0,56*	0,85*	0,86	
5	$0.05^{\rm NS}$	1, 0 1 ^{NS}	0,88	0,62*	0,94 ^{NS}	0,88	
6	1,79*	0,9 7 ^{NS}	0,68	0,81*	0,98 ^{NS}	0,84	
Todos	0,63*	0,88*	0,71	0,73*	0,85*	0,84	

 ⁽i) asterisco indica que o valor da interseção da reta (a) foi diferente de zero pelo teste t (p = 0,05), NS indica que não houve diferença estatística significativa entre a e zero pelo teste t (p = 0,05);

⁽ii) asterisco indica que o valor do coeficiente angular da reta de regressão (b) foi diferente de um pelo teste t (p = 0,05), NS indica que não houve diferença estatística significativa entre b e um pelo teste t (p = 0,05).

pela comparação dos valores da interseção da reta (a) e do coeficiente angular (b) obtidos nos cálculos de regressão linear entre as severidades real e estimada, com os valores 0 e 1, respectivamente. A situação ideal, neste caso, é representada pelo avaliador que apresente valores de a e b iguais a 0 e 1, respectivamente, revelando que as estimativas de severidade foram iguais às severidades reais (y = x quando a = 0 e b = 1).

Outra forma de quantificar a precisão dos avaliadores é observar a distribuição dos resíduos na qual a subtração (severidade real – estimada) é a variável dependente e a severidade real, a independente (Kranz, 1988; Campbell & Madden, 1990; Nutter Junior & Schultz, 1995). Os menores vieses das estimativas da severidade do cancro ocorreram para severidades inferiores a 10% (Figura 3), independentemente dos avaliadores. Os avaliadores mais precisos foram o três e o cinco, que apresentaram distribuições mais homogêneas dos resíduos, além de elevados coeficientes de determinação. Os valores mínimo e máximo observados para o resíduo foram -20,6 e 16,0, respectivamente. A reprodutibilidade das escalas foi testada comparando-se o melhor avaliador com os demais. Apesar da ocorrência de relativa precisão, demonstrada por coeficientes de determinação variando de 0,65 a 0,85, somente na comparação dos avaliadores quatro e cinco a interseção da reta foi estatisticamente igual a zero (Tabela 2 e Figura 4). Em todas as demais comparações, os coeficientes angulares diferiram de um.

Os mesmos avaliadores que estimaram a severidade das 447 imagens de folhas sintomáticas foram treinados e, numa segunda etapa, estimaram a severidade de 115

FIG. 2 - Severidade de cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) estimada pelos avaliadores 1 (A), 2 (B), 3 (C), 4 (D), 5 (E) e 6 (F) sem treinamento prévio. A linha cheia representa a regressão linear entre a severidade real e a estimada enquanto a linha tracejada representa a situação ideal (y = x).

imagens. Este treinamento foi utilizado como tentativa de melhorar as estimativas dos diferentes avaliadores. De fato, estimativas mais precisas foram observadas para os seis avaliadores, já que os valores dos coeficientes de determinação aumentaram, variando de 0,82 a 0,90 (Tabela 1 e Figura 5). O treinamento dos avaliadores foi essencial no desempenho daqueles de menor precisão, como no caso do avaliador 1 (Tabela 1). A distribuição dos resíduos também melhorou após o treinamento, ocorrendo um aumento na homogeneidade da distribuição dos valores (Figura 6). Os valores mínimo e máximo observados foram -6,9 e 9,1, respectivamente, estando agora dentro de um intervalo aceitável (-10,0 e +10,0) segundo critérios adotados por programas de treinamento na quantificação de doenças, como o Distrain (Tomerlin & Howell, 1988) e o Disease. Pro (Nutter Junior & Worawitlikit, 1989). Em relação a acurácia, dois avaliadores apresentaram o coeficiente angular estatisticamente igual a um. Em todas as avaliações os valores da interseção foram diferentes de zero.

Como observado antes do treinamento, o melhor avaliador continuou sendo o avaliador cinco, tendo sido comparado com os demais para estimar a reprodutibilidade das escalas. Quatro das cinco comparações tiveram valores da interseção da reta estatisticamente iguais a zero (Tabela 2). Na comparação dos avaliadores cinco e seis foi encontrado valor de *b* estatisticamente igual a um. Com exceção das comparações entre os avaliadores três e cinco e quatro e cinco, em todas as demais foram encontrados coeficientes de determinação superiores aos observados antes do treinamento. Distribuições mais adequadas dos resíduos também foram observadas após o treinamento dos avaliadores (Figura 7).

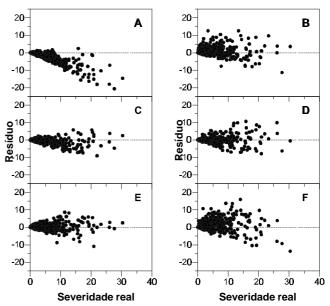


FIG. 3 - Distribuição dos resíduos das análises de regressão linear entre as severidades real e estimada pelos avaliadores 1 (A), 2 (B), 3 (C), 4 (D), 5 (E) e 6 (F) sem treinamento prévio.

TABELA 2 - Estimativas da interseção da reta (a) e do coeficiente angular (b) e coeficientes de determinação (R^2) das equações de regressão linear calculadas entre as severidades de cancro cítrico ($Xanthomonas\ axonopodis\ pv.\ citri$) estimadas por diferentes avaliadores em comparação com o avaliador $5\ (y=a+bx,\ em\ que\ y$ representa a severidade estimada por um dos avaliadores e x a severidade estimada pelo avaliador 5). As estimativas dos seis avaliadores foram confrontadas entre si antes e após o treinamento dos avaliadores

Comparação entre	Antes do treinamento			Após o treinamento		
avaliadores	a (i)	<i>b</i> (ii)	R^2	a	b	R^2
1 vs. 5	0,63*	0,42*	0,65	0,50 ^{NS}	0,85*	0,85
2 vs. 5	1,81*	0,86*	0,77	0,84*	0,74*	0,84
3 vs. 5	0 ,27 ^{NS}	0,81*	0,85	0.34^{NS}	0,74*	0,84
4 vs. 5	0 ,32 ^{NS}	0,9 2 NS	0,80	$0,45^{NS}$	0,82*	0,78
6 vs. 5	2,00*	0,90*	0,70	0,4 1 ^{NS}	1, 00 NS	0,85

 ⁽i) asterisco indica que o valor da interseção da reta (a) foi diferente de zero pelo teste t (p = 0,05), NS indica que não houve diferença estatística significativa entre a e zero pelo teste t (p = 0,05);

Considerando as avaliações de todos avaliadores antes do treinamento, os valores de a e b foram 0,63 e 0,88, respectivamente, ambos diferindo estatisticamente de 0 e 1 (Tabela 1 e Figura 8). O coeficiente de determinação encontrado foi de 0,71. Da mesma forma, após o treinamento, os valores de a e b continuaram diferindo de 0 e 1, respectivamente, mas um maior coeficiente de determinação foi encontrado (0,84), em razão da maior precisão dos avaliadores após o treinamento.

As escalas desenvolvidas permitiram avaliações suficientemente acuradas e precisas, ficando a critério do avaliador a escolha da escala a ser utilizada no momento da avaliação. O treinamento dos avaliadores permitiu o aumento da precisão das estimativas, tendo sido observado aumentos dos coeficientes de determinação e distribuições mais homogêneas dos resíduos. Comparando-se o melhor avaliador com os demais, após o treinamento, as estimativas de diferentes avaliadores ficaram mais próximas ou semelhantes, indicando que o uso das escalas produz quantificações reprodutíveis.

Em razão da disseminação da bactéria ocorrer na mesma planta e entre plantas, em um mesmo local, principalmente pela ação de respingos de chuvas e chuvas associadas com ventos, a incidência de folhas e de ramos sintomáticos pode não ser homogênea na mesma planta, isto sendo influenciado por condições ambientais e do hospedeiro (Danós *et al.*, 1984; Gottwald *et al.*, 1988; Gottwald *et al.*, 1989; Gottwald *et al.*, 1997). Palazzo *et al.* (1984) verificaram maior incidência de folhas sintomáticas nos quadrantes norte e oeste de plantas cítricas, lados estes expostos ao ventos predominates da região.

A associação da maior suscetibilidade dos tecidos quando jovens, a emissão de fluxos vegetativos na primavera/verão e a disseminação do patógeno principalmente

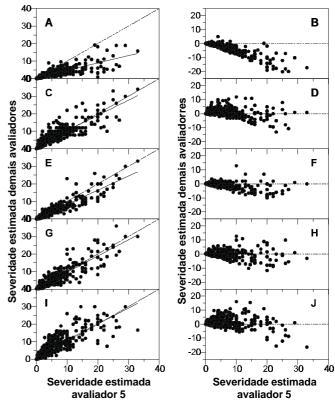


FIG. 4 - Regressão linear e distribuição dos resíduos na comparação do avaliador 5 com os avaliadores 1 (A, B), 2 (C, D), 3 (E, F), 4 (G, H) e 6 (I, J) sem treinamento prévio. A linha cheia representa a regressão linear entre as estimativas dos avaliadores enquanto a linha tracejada representa a situação ideal (y = x).

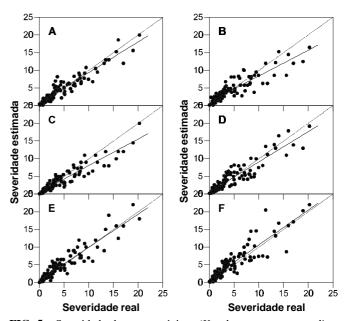


FIG. 5 - Severidade de cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) estimada pelos avaliadores 1 (A), 2 (B), 3 (C), 4 (D), 5 (E) e 6 (F) após treinamento em cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*). A linha cheia representa a regressão linear entre a severidade real e a estimada enquanto a linha tracejada representa a situação ideal (y = x).

⁽ii) asterisco indica que o valor do coeficiente angular da reta de regressão (b) foi diferente de um pelo teste t(p=0.05), NS indica que não houve diferença estatística significativa entre b e um pelo teste t(p=0.05).

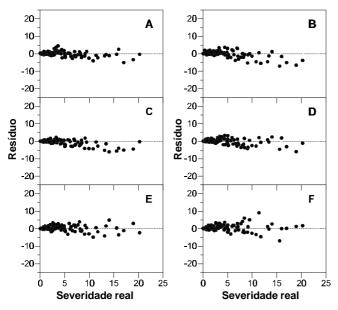


FIG. 6 - Distribuição dos resíduos das análises de regressão linear entre as severidade real e estimada pelos avaliadores 1 (A), 2 (B), 3 (C), 4 (D), 5 (E) e 6 (F) após treinamento.

por chuvas com ventos faz com que o cancro cítrico tenha um caráter cíclico, no tocante à ocorrência de novas infecções pela doença (Gottwald *et al.*, 1988; Gottwald *et al.*, 1989). Gottwald *et al.* (1989) observaram flutuações na severidade da doença ao longo do tempo, o mesmo não tendo ocorrido para incidência. Apesar disso, em razão da sobrevivência da bactéria ser maior em tecidos infetados

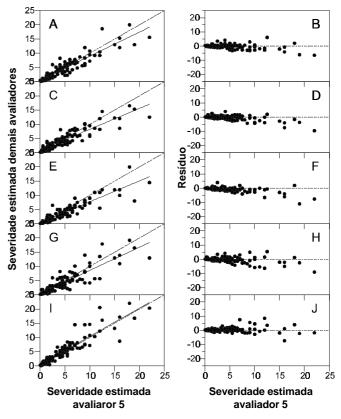


FIG. 7 – Regressão linear e distribuição dos resíduos na comparação do avaliador 5 com os avaliadores 1 (A, B), 2 (C, D), 3 (E, F), 4 (G, H) e 6 (I, J) após treinamento. A linha cheia representa a regressão linear entre as estimativas dos avaliadores enquanto a linha tracejada representa a situação ideal (y = x).

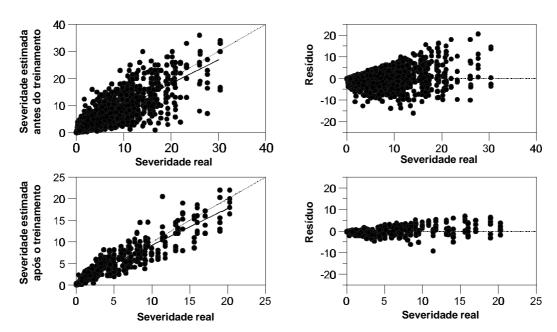


FIG. 8 – Regressão linear e distribuição dos resíduos considerando todo o conjunto de dados antes e após o treinamento dos avaliadores. A linha cheia representa a regressão linear entre as severidades real e estimada enquanto a linha tracejada representa a situação ideal (y = x).

do hospedeiro, sintomas da doença são encontrados ao longo de todo ano (Peltier & Neal, 1918; Pruvost *et al.*, 2002). Sugere-se, portanto, na avaliação de plantas doentes, a escolha de ramos em diferentes lados da mesma planta para a quantificação da doença nas folhas desses ramos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, S.F. Providências para a erradicação do cancro cítrico. O Biológico 23:112-123. 1957.

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: Bergamin Filho, A., Kimati, H. & Amorim, L. (Eds.) Manual de Fitopatologia v.1. São Paulo. Editora Ceres. 1995. pp.647-671.

BARBOSA, J.C., GIMENES-FERNANDES, N., MASSARI, C.A. & AYRES, A.J. Incidência e distribuição de cancro cítrico em pomares comerciais do Estado de São Paulo e sul do Triângulo Mineiro. Summa Phytopathologica 27:30-35. 2001.

BERGAMIN FILHO, A., AMORIM, L., LARANJEIRA, F.F. & GOTTWALD, T.R. Epidemiology of citrus canker in Brazil with and without the asian citrus leafminer. Proceedings of the International Citrus Canker Research Workshop, Fort Pierce, FL. 2000. http://www.doacs.state.fl.us/canker.

BITANCOURT, A.A. O cancro cítrico. O Biológico 23:101-111. 1957. CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. Introduction to Plant Disease Epidemiology. New York. John Wiley & Sons. 1990.

CIVEROLO, E.L. Bacterial canker disease of citrus. Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society 37:127-146. 1984.

DANÓS, E., BERGER, R.D. & STALL, R.E. Temporal and spatial spread of citrus canker within groves. Phytopathology 74:904-908. 1984.

DRAPER, N.R. & SMITH, H. Applied Regression Analysis. 3. ed. New York. John Wiley & Sons. 1998.

GOTO, M. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. San Diego. Academic Press. 1990.

GOTTWALD, T.R., GRAHAM, J.H. & SCHUBERT, T.S. An epidemiological analysis of the spread of citrus canker in urban Miami, Florida, and synergistic interaction with the Asian citrus leafminer. Fruits 52:383-390. 1997.

GOTTWALD, T.R., HUGHES, G., GRAHAM, J.H., SUN, X. & RILEY, T. The citrus canker epidemic in Florida: The scientific basis of regulatory eradication policy for an invasive species. Phytopathology 91:30-34. 2001.

GOTTWALD, T.R., MCGUIRE, R.G. & GARRAN, S. Asiatic citrus canker: spatial and temporal spread in simulated new planting situations in Argentina. Phytopathology 78:739-745. 1988.

GOTTWALD, T.R., TIMMER, L.W. & MCGUIRE, R.G. Analysis of disease progress of citrus canker in nurseries in Argentina. Phytopathology 79:1276-1283. 1989.

GRAHAM, J.H., MCGUIRE, R.G. & MILLER, J.W. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in citrus plant debris and soil in Florida and Argentina. Plant Disease 71:1094-1098. 1987.

GRAHAM, J.H., GOTTWALD, T.R., CIVEROLO, E.L. & MCGUIRE, R.G. Population dynamics and survival of *Xanthomonas campestris* in soil in nurseries in Maryland and Argentina. Plant Disease 73:423-427. 1989.

GRAHAM, J.H., GOTTWALD, T.R., RILEY, T.D., CUBERO, J. & DROUILLARD, D.L. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Xcc) on various surfaces and chemical control of asiatic citrus canker (ACC). Proceedings of the International Citrus Canker Research Workshop, Fort Pierce, FL. 2000. http://www.doacs.state.fl.us/canker.

GRAHAM, J.H., GOTTWALD, T.R., RILEY, T.D. & ACHOR, D. Penetration through leaf stomata and growth of strains of *Xanthomonas campestris* in citrus cultivars varying in susceptibility to bacterial diseases. Phytopathology 82:1319-1325. 1992.

JAMES, W.C. Assessment of plant diseases and losses. Annual Review of Phytopathology 12:27-48. 1974.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: Kranz, J. & Rotem, J. (Eds.) Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology. Berlin. Springer. 1988. pp.35-50.

LEE, H.A. The increase in resistance to citrus canker with the advance in maturity of citrus trees. Phytopathology 11:70-73. 1921. NASCIMENTO, J.F., RODRIGUES NETO, J., ALVES, J.M.A., RÊGO, M.M. & ARAÚJO, A.E.S. Ocorrência de cancro cítrico no estado de Roraima. Summa Phytopathologica 29:81-82. 2003.

NUTTER JUNIOR, F.W. & SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. Canadian Journal of Plant Pathology 17:174-184. 1995.

NUTTER JUNIOR, F.W. & WORAWITLIKIT, O. Disease. Pro: A computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. Phytopathology 79:1135. 1989.

NUTTER JUNIOR, F.W., TENG, P.S. & SHOKES, F.M. Disease assessment terms and concepts. Plant Disease 75:1187-1188. 1991.

PALAZZO, D.A., MALAVOLTA JÚNIOR, V.A. & NOGUEIRA, E.M.C. Influência de alguns fatores climáticos sobre o índice de infecção de cancro cítrico, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, em laranjeira valência (*Citrus sinensis*), em Bataguassu, M.S. Fitopatologia Brasileira 9:283-290. 1984.

PELTIER, G.L. & NEAL, D.C. Overwintering of the citrus-canker organism in the bark tissue of hardy citrus hybrids. Journal of Agricultural Research 14:523-524. 1918.

PORTO, O., DORNELLES, C.M.M. & PORTO, M.D.M. Ocorrência de cancro cítrico no Rio Grande do Sul. Anais, 6º Congresso Brasileiro de Fruticultura, Recife, PE. 1981. pp.1386-1388.

PRATES, H.S., NAKANO, O. & GRAVENA, S. "Minadora das folhas dos citros" *Phyllocnistis citrella*, Stainton, 1856. Campinas: CATI, 3p. (CATI. Comunicado Técnico, 129). 1996.

PRUVOST, O., BOHER, B., BROCHERIEUX, C., NICOLE, M. & CHIROLEU, F. Survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in leaf lesions under tropical environmental conditions and simulated splash dispersal of inoculum. Phytopathology 92:336-346. 2002.

ROSSETTI, V.V. Manual Ilustrado de Doenças dos Citros. Piracicaba. Fealq/Fundecitrus. 2001.

TENG, P.S. Validation of computer models of plant disease epidemics: a review of philosophy and methodology. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 88:455-459. 1981.

TORMELIN, J.R. & HOWELL, T.A. Distrain: a computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. Plant Disease 72:455-459. 1988.

O arquivo disponível sofreu correções conforme ERRATA publicada no Volume 30 Número 5 da revista.