



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Tamanho de amostras para quantificação da
severidade da mancha-marrom dos cladódios
em palma forrageira**

José María Garcete Gómez

**Recife – PE
2014**

JOSÉ MARÍA GARCETE GÓMEZ

**TAMANHO DE AMOSTRAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA
SEVERIDADE DA MANCHA-MARROM DOS
CLADÓDIOS EM PALMA FORRAGEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Orientador

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE) – Coorientador

Prof. Dr. Gustavo Mora-Aguilera (CP) – Coorientador

**RECIFE – PE
JUNHO – 2014**

Ficha catalográfica

G215t

Garcete Gómez, José María

Tamanho de amostras para quantificação da severidade da mancha-marrom dos cladódios em palma forrageira / José María Garcete Gómez. – Recife, 2014.

45 f. : il.

Orientador: Sami Jorge Michereff.

Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2014.

Referências.

1. *Nopalea cochenillifera* 2. *Alternaria tenuissima*
3. Amostragem 4. Epidemiologia I. Michereff, Sami Jorge, orientador II. Título

CDD 632

TAMANHO DE AMOSTRAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DA MANCHA-MARROM DOS CLADÓDIOS EM PALMA FORRAGEIRA

JOSÉ MARÍA GARCETE GÓMEZ

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 03/06/2014.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE)

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

Dr. Domingos Eduardo Guimarães Tavares de Andrade (IPA)

Dra. Waléria Guerreiro Lima (PNPD/UFRPE)

**RECIFE – PE
JUNHO – 2014**

À Corazón e Daniel

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por iluminar meu caminho e me dar força pra seguir sempre em frente.

Aos meus avós Rogelio Gómez (†) e Pablina Rojas (†), que sempre acreditaram em mim e torceram para sempre escolher o melhor.

Aos meus pais Corazón Gómez e Daniel Garcete, pelo apoio emocional e econômico.

À minha irmã Jeminna Garcete Gómez e as minhas tias Elvira Gómez, Petrona Gómez e Rosa Gómez, que mesmo distantes sempre acreditam em mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sami Jorge Michereff, pela atenção, enorme paciência, amizade, incentivo e por todo o apoio e o auxílio oferecido antes e durante a realização do curso.

Aos meus co-orientadores, Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara e Prof. Dr. Gustavo Mora-Aguilera, pela ajuda.

À Eng. Agr. Eliane Mayumi Inokuti, pela amizade e a boa disponibilidade para me ajudar dentro e fora do curso;

Às Eng. Agr. Cinthia Conforto, Kamila Câmara Correia e Tamiris Joana dos Santos Rego, pela ajuda durante o desenvolvimento do trabalho.

A todos os colegas do Programa em Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelos momentos compartilhados, em especial aos amigos do Laboratório de Epidemiologia de Doenças de Plantas.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFRPE pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Eng. Agr. Cleiton A. Domingos, pela ajuda.

À Darcy Martins, pela amizade e atenção.

Ao Instituto de Biotecnologia Agrícola (INBIO), pela concessão da bolsa de estudos.

Finalmente, a todos que de uma forma ou de outra, forma fizeram parte desta conquista.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO GERAL	viii
GENERAL ABSTRACT	ix
CAPÍTULO I – Introdução Geral	11
Referências Bibliográficas	25
CAPÍTULO II – Tamanho de amostras para quantificação da severidade da mancha-marrom dos cladódios em palma forrageira	30
Resumo	31
Abstract	32
Introdução	32
Materiais e Métodos	35
Resultados e Discussão	37
Referências	39
CONCLUSÕES GERAIS	44

RESUMO GERAL

A palma forrageira miúda (*Nopalea cochenillifera*) é muito importante para a subsistência da pecuária nas regiões semiáridas do Nordeste do Brasil e a mancha-marrom, causada por *Alternaria tenuissima*, causa sérios danos nos cladódios dessa cactácea. Apesar da importância, até o momento não foram realizados estudos para estabelecer procedimentos padronizados de amostragem para quantificação da severidade dessa doença. Portanto, o objetivo da presente dissertação foi determinar os tamanhos ideais das amostras para quantificação da mancha-marrom em diferentes áreas de cultivo de palma miúda com níveis variáveis de severidade da doença. Amostragens-piloto foram conduzidas para avaliar a severidade da doença em 18 áreas de plantio de palma forrageira miúda, localizadas na mesorregião do Agreste do estado de Pernambuco, Brasil. Em cada área foi delimitada uma subparcela de aproximadamente 0,3 ha (45 x 68 m), constituída por 30 linhas e 45 plantas por linha, totalizando 1.350 plantas. Em cada população foi selecionada uma amostra sistemática simples de 50 plantas. Com o auxílio de escala diagramática foi efetuada a estimativa da severidade da doença nas plantas selecionadas, considerando-se amostras de 2, 4 e 6 cladódios/planta. O arranjo espacial das plantas doentes foi estimado pelo índice de agregação de Lloyd (LIP) e os tamanhos ideais das amostras foram calculados com base nos níveis de erros aceitáveis (5, 10 e 20%). Os sintomas da mancha-marrom foram constatados em todas as áreas de plantio amostradas. A severidade variou de 0,4 a 8,7%, sendo que em 50% das áreas os níveis de severidade foram inferiores a 2,0% e em 33,3% das áreas foram superiores a 6%. Em 59,3% das situações o arranjo espacial da doença no campo foi aleatório, enquanto em 24,1% foi agregado e em 16,6% foi uniforme. Houve correlação negativa significativa ($r = -0,61$; $P < 0,01$) entre os níveis de severidade da doença e os tamanhos das amostras. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) no tamanho das amostras para a quantificação da doença quando 2, 4 ou 6 cladódios por planta foram avaliados. Considerando a amostragem de 2 cladódios/planta com níveis de erros aceitáveis de 5, 10 e 20%, os tamanhos ideais médios das amostras foram 253, 63 e 16 plantas, respectivamente, para cada 0,3 ha de área cultivada.

Palavras-chave: *Nopalea cochenillifera*, *Alternaria tenuissima*, amostragem, epidemiologia.

GENERAL ABSTRACT

Cactus prickly pear (*Nopalea cochenillifera*) is very important to livestock subsistence in semi-arid regions in Northeast of Brazil and the brown spot, caused by *Alternaria tenuissima*, damages seriously the cladodes. Despite its importance, no studies have been conducted so far to establish standardized sampling procedures for quantifying the disease severity. Therefore, the aim of this dissertation was determine the optimal sample size for quantification of brown spot in different cultivated fields of cactus prickly pear with different brown sport severity levels. Pilot-samplings were conducted to assess the disease severity in 18 fields of cactus prickly pear, located in the Agreste region of the state of Pernambuco, Brazil. Each area was subplot in approximately 0.3 ha (45 x 68 m) composed of 30 rows and 45 plants per row, total of 1,350 plants. A simple systematic sample of 50 plants was selected in each population. In selected plants the disease severity was estimated with the aid of diagrammatic scale, considering samples of 2, 4 and 6 cladodes/plant. The spatial pattern of diseased plants was estimated by the Lloyd's Index of Patchiness (LIP) and ideal sample sizes were calculated based on degrees of acceptable error (5, 10 and 20%). Symptoms of brown spot were observed in all areas sampled. Disease severity ranged from 0.4 to 8.7%. In 50% of the fields the severity levels were below 2.0% and 33.3% of the areas were above 6%. In 59.3% of cases the spatial pattern of disease in the field was random, while 24.1% was aggregated and 16.6% was uniform. There was a significant negative correlation ($r = -0.61$; $P < 0.01$) between disease severity levels and sample sizes. There was no significant difference ($P > 0.05$) in the sample sizes for the disease quantification when 2, 4 or 6 cladodes per plant were evaluated. Considering a sampling of 2 cladodes/plant with 5, 10 and 20% of acceptable error, the ideal mean sample size was 253, 63 and 16 plants, respectively, for each 0.3 ha of cultivated field.

Key-words: *Nopalea cochenillifera*, *Alternaria tenuissima*, sampling, epidemiology.

Capítulo I

Introdução Geral

TAMANHO DE AMOSTRAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DA MANCHA-MARROM DOS CLADÓDIOS EM PALMA FORRAGEIRA

INTRODUÇÃO GERAL

1. Origem e importância da palma forrageira

A palma forrageira (*Opuntia* Mill. e *Nopalea* Salm-Dyck) tem sua origem no continente americano, no México, e teve influência na economia agrícola do Império Asteca. Quando os colonizadores chegaram ao México, já existiam diversas variedades desta cactácea (REYES-AGUERO; AGUIRRE-RIVERA; HERNÁNDEZ, 2005). No entanto, análises biogeográficas recentes demonstraram que as espécies atuais possuem ancestrais comuns na América do Sul (MAJURE et al., 2012). Atualmente, os cultivos de palma forrageira encontram-se distribuídos em todo o mundo, desde o Canadá até a Argentina, do nível do mar aos 5.100 m de altitude no Peru. Foi levada do México à Espanha em 1520, e se espalhou para Portugal, África, Ásia, e Oceania (BARRIOS; MUÑOZ-URÍAS, 2001; HOFFMANN, 2001). No Brasil, foi introduzida provavelmente, no século XVIII, procedente das Ilhas Canárias, destinada à criação da cochonilha para produção de corantes (SIMÕES; SANTOS; DIAS, 2005). Acredita-se que a palma chegou ao Nordeste brasileiro aproximadamente em 1818, quando o governador da região solicitou à Coroa Brasileira, então instalada no Rio de Janeiro, o envio de várias plantas do Real Horto Botânico do Rio de Janeiro, e entre elas cactos, para novos jardins botânicos instalados em Pernambuco (LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012).

Mundialmente, a palma é utilizada para o consumo humano como verdura, fruta fresca ou processada, é utilizada na medicina, como fonte de energia, na indústria de cosméticos, fabricação de adesivos, fibras para artesanato, fabricação de papel, corantes, mucilagens, antitranspirantes, ornamentação e para produzir forragem (CHIAICCHIO; MESQUITA; RODRIGUES, 2006; SANTOS et al., 2012).

No Brasil, a palma forrageira é cultivada principalmente visando a subsistência da pecuária nas regiões semiáridas do Nordeste, onde existe a maior área cultivada do mundo, estimada em 600 mil hectares, distribuídos nos estados da Bahia, Sergipe, Alagoas,

Pernambuco, Paraíba, Ceará e Rio Grande do Norte (LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012). A importância da palma forrageira tem destacada importância por contribuir com o desenvolvimento das regiões semiáridas através da exploração econômica das várias espécies, com consequências muito positivas para o meio ambiente e para segurança alimentar (CHIAICCHIO; MESQUITA; RODRIGUES, 2006).

A produção pecuária é uma das principais atividades desenvolvidas na região Nordeste do Brasil, com destaque para os rebanhos bovino, ovino e caprino, que no geral são criados extensivamente. Nessa região, a pecuária é prejudicada pelas constantes secas e irregularidades das chuvas, causando uma baixa produtividade do rebanho. Os animais ficam submetidos à baixa disponibilidade de forragens, fazendo com que os produtores procurem por alimentos de alto custo, ocasionando maiores investimentos. Neste contexto, a palma forrageira aparece como uma alternativa de cultivo, adaptada ao clima semiárido, visto ser uma cultura com mecanismo fisiológico especial no que se refere à absorção, aproveitamento e perda de água (OLIVEIRA et al., 2010; SANTOS et al., 2012).

A palma é um alimento de grande importância para os rebanhos, notadamente nos períodos de estiagens prolongadas, pois além de fornecer um alimento verde, supre grande parte das necessidades de água dos animais nas épocas de escassez, devido ao alto grau de resistência à seca, às altas temperaturas, adaptabilidade a solos poucos férteis e alta produtividade decorrente de sua elevada eficácia no uso da água (BARBERA, 2001; SANTOS et al., 2006).

A alimentação dos rebanhos explorados para produção de leite na região semiárida do Nordeste brasileiro fundamenta-se de forma predominante no pastejo de forrageiras cultivadas e em menor escala de forrageiras nativas, aspecto que imprime características acentuadamente estacionais à produção de leite (MELO et al., 2003). A suplementação volumosa, quando realizada nos períodos secos, baseia-se no fornecimento de palma forrageira, cultivo largamente difundido nas principais bacias leiteiras da região, associada ou não a suplementos concentrados, pois além de fornecer um alimento verde, supre grande parte das necessidades de água dos animais na época de escassez (MATTOS et al., 2000). A palma é um alimento muito fornecido aos rebanhos, independente da época do ano. A sua produção é essencial para alimentação dos ruminantes, principalmente em virtude da economia em rações concentradas e pelo aumento de produtividade (LIMA; GOMES; DETONI, 2004; OLIVEIRA et al., 2011).

Pernambuco é o segundo estado produtor de leite na região Nordeste, com a produção anual de 942 milhões de litros (em torno de 2.616.761 litros/dia) superado apenas pela Bahia, com uma produção anual de 1.238,5 milhões de litros de leite (3.440.278 litros/dia). Outra

característica a ser destacada é que, em sua maioria, a pecuária leiteira é conduzida por produtores de base familiar, localizados principalmente na mesoregião do Agreste. Essa mesoregião é responsável por 71,9% da produção diária de leite em Pernambuco, seguido do Sertão (23,5%), Zona da Mata (3,4%) e Região Metropolitana do Recife (0,9%) (IBGE, 2014).

2. Classificação botânica, morfologia e requerimentos edafoclimáticos da palma forrageira

A palma forrageira pertence à divisão Embryophyta, subdivisão Angiospermea, classe Dicotyledoneae, subclasse Archiclamideae, ordem Opuntiales e família das Cactáceas (SILVA; SANTOS, 2006). As cactáceas são plantas arbustivas, suculentas e ramificadas. Constituem um grupo extremamente diversificado, com um impressionante conjunto de estratégias adaptativas, evolutivas e ecológicas, que lhes conferem uma grande capacidade de desenvolvimento nos diferentes habitats. Neste contexto, destacam-se os gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, de ampla distribuição em regiões áridas e semiáridas por serem as cactáceas mais exploradas como potencial alimentar e forrageiro (BARBERA, 2001; REBMAN; PINKAVA, 2001).

No Nordeste brasileiro são cultivadas principalmente duas espécies de palma forrageira, a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., com as variedades Gigante e Redonda, e a *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm. Dyck., com a variedade Miúda ou Doce. As mesmas produzem, em cultivos bem conduzidos, uma biomassa superior a 150 toneladas de matéria verde/ha/ano e 15 toneladas de matéria seca/ha/ano (FARIAS; SANTOS; DUBEUX JÚNIOR, 2005; LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012; OLIVEIRA et al. 2010; SANTOS et al., 2006). Nos últimos anos, têm aumentado as áreas cultivadas com *Opuntia tuna* (L.) Mill., cuja variedade Orelha-de-elefante é considerada resistente à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell), principal inseto-praga da cultura (LIMA et al., 2013).

A palma gigante (*O. ficus-indica*), também chamada de graúda, azeda ou santa, apresenta porte bem desenvolvido e caule menos ramificado, o que transmite um aspecto mais ereto e crescimento vertical pouco frondoso. Seu cladódio pesa cerca de 1,0 -1,5 kg, apresentando até 50 cm de comprimento, forma oval-elíptica ou sub-ovalada, coloração verde-fosco. As flores são hermafroditas, de tamanho médio, coloração amarela brilhante e cuja corola fica aberta na antese. O fruto é uma baga ovóide, grande, de cor amarela, passando

à roxa quando madura. Essa palma é considerada a mais produtiva e mais resistente às regiões secas, no entanto, é menos palatável e de menor valor nutricional (LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012). Além disso, é altamente suscetível à cochonilha-do-carmim (LOPES et al., 2012).

A palma redonda é originada da palma gigante, possui porte médio e caule muito ramificado lateralmente, prejudicando assim o crescimento vertical. Seu cladódio pesa cerca de 1,8 kg, possuindo quase 40 cm de comprimento, de forma arredondada e ovóide. Apresenta grandes rendimentos de um material mais tenro e palatável que a palma gigante (LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012), mas também é altamente suscetível à cochonilha-do-carmim (LOPES et al., 2012).

A palma miúda ou doce (*N. cochonillifera*) é uma planta de porte pequeno e caule bastante ramificado. O cladódio pesa cerca de 350 g, com quase 25 cm de comprimento, forma acentuadamente ovalada (ápice mais largo que a base) e coloração verde intenso brilhante. As flores são vermelhas e sua corola permanece meio fechada durante o ciclo. O fruto é uma baga de coloração roxa. Comparando com as duas variedades anteriores esta é a mais nutritiva e palatável, com elevada resistência à cochonilha-do-carmim, porém apresenta menor resistência à seca (LOPES et al., 2012; LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012). Nos últimos anos, tem sido registrada uma grande expansão das áreas cultivadas com palma miúda no Nordeste brasileiro em função da elevada resistência à cochonilha-do-carmim e às excelentes características de palatabilidade e digestibilidade para ruminantes.

A palma forrageira é uma cultura relativamente exigente quanto às características físico-químicas do solo. Desde que sejam férteis, podem ser indicadas áreas de textura arenosa à argilosa, sendo mais frequentemente recomendados solos argilo-arenosos. Dependendo do espaçamento de plantio e nível de fertilidade do solo, nos plantios mais adensados pode ser utilizado 30 t de esterco de curral/ha, bem curtido e livre de plantas invasoras. A palma é encontrada em uma ampla faixa de solos e o pH varia de subácido a subalcalino. Além da fertilidade, é fundamental que os solos sejam de boa drenagem. O bom rendimento dessa cultura está climaticamente relacionado às áreas com 400 a 800 mm anuais de chuva, umidade relativa acima de 40 % e temperatura de 25°C (LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012; OLIVEIRA et al., 2010).

3. Insetos-pragas e doenças da palma forrageira

Alem das dificuldades de produção da palma forrageira ocasionadas pelo desconhecimento dos produtores em relação ao manejo cultural (LOPES; SANTOS; VASCONCELOS, 2012), as pragas e as doenças destacam-se como limitantes na exploração da cultura (FLORES, 2001).

Em 2012 e 2013, a seca e as doenças da palma forrageira provocaram grandes impactos negativos na bacia leiteira do estado de Pernambuco. De acordo com a Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária (ADAGRO), a redução na produção do leite no Agreste Pernambucano foi de 40%. Foram produzidos 1,3 milhões de litros por dia em 2012, contra 2,2 milhões litros por dia em 2011. A relação entre produção de leite e emprego é de um emprego direto para cada 50 litros de leite produzidos. A queda da produção em 900 mil litros/dia significa 18 mil pessoas desempregadas (ESTADÃO, 2013).

Todas as áreas produtoras de palma forrageira estão sujeitas aos danos ocasionados por pragas. Os insetos desempenham um papel importante, em virtude da quantidade de espécies envolvidas e os danos que podem causar. Na literatura estão descritas mais de 120 espécies de insetos-pragas da palma, principalmente do gênero *Opuntia*, sendo que algumas mostram um comportamento quase polífago, tendo uma ampla gama de hospedeiras dentro do mesmo gênero da palma (LONGO; RAPISARDA, 2001). Dentre os insetos-praga mais importantes da palma forrageira no Brasil destacam-se a cochonilha-do-carmim, a cochonilha de escama (*Diapsis echinocacti* Bouche) e o pão-de-galinha (*Ligyris* spp.) (LOPES et al., 2012; SANTOS et al., 2006; SANTOS et al., 2011).

Apesar de ser nativa de regiões muito quentes e clima seco, a cultura da palma forrageira é afetada por vários patógenos, dentre os quais se encontram vários gêneros de fungos (*Aecidium*, *Alternaria*, *Armillaria*, *Aspergillus*, *Botryosphaeria*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Cytospora*, *Dothiorella*, *Fusarium*, *Gloesporium*, *Gnomonia*, *Lasioidiploida*, *Macrophomina*, *Mycosphaerella*, *Nigrospora*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Phyllosticta*, *Pleospora*, *Pseudocercospora*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Scytalidium* e *Sphaceloma*), oomicetos (*Phytophthora*), bactérias (*Rhizobium*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*), vírus (*Zygocactus virus* X) e fitoplasmas (16SrXIII-Mexican periwinkle virescence) (BARBOSA et al., 2012; FLORES-FLORES et al., 2013; MÉNDEZ-GALLEGOS; TALAVERA-MAGAÑA; GARCÍA-HERRERA, 2008; QUEZADA-SALINAS et al., 2006; SANTOS et al., 2006; SOUZA et al., 2010; SUASTE-DZUL et al., 2012).

As doenças de origem fúngica são as mais importantes na cultura da palma forrageira, podendo afetar cladódios, sistema radicular e frutos nas fases de pré e pós-colheita. A maior severidade das doenças fúngicas tem sido correlacionada com estresse nutricional, suscetibilidade de cultivares e clones, e adensamento da cultura. Neste grupo de doenças destacam-se as murchas e podridões de cladódios, as podridões de raízes e podridões de cladódios da base, e as manchas dos cladódios, que reduzem a produtividade e limitam o cultivo de espécie, cultivar ou clone de maior interesse de cultivo ou valor comercial (BARBOSA et al., 2012; GRANATA, 2001).

4. Doenças da palma forrageira no Brasil

As doenças da palma forrageira têm sido pouco estudadas no Brasil e quase todos os trabalhos apenas descrevem o assinalamento, a sintomatologia e a patogenicidade dos agentes causadores (BARBOSA et al., 2012).

4.1. Murchas, podridões de raízes e de cladódios da base

Dentre as murchas, podridões de raízes e de cladódios da base que ocorrem no Nordeste brasileiro destacam-se a podridão negra, a podridão seca escamosa, a gomose, a podridão-de-fusário, a podridão-de-macrothomina e a rizoctoniose (BARBOSA et al., 2012; SOUZA et al., 2010).

A podridão negra, causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl., constitui a doença de maior ocorrência em cultivos de palma gingante no estado de Pernambuco. Foi relatada em 1961 por A. P. Viegas e, posteriormente, descrita em 1963 em Caruaru – PE, causando severos danos em cladódios sementes. A podridão ocorre a partir do local de inserção dos cladódios primários, secundários ou terciários, sendo no início de cor marrom e, em seguida, torna-se escura devido à produção de estruturas do fungo. É consistente, com abundante exsudação de goma de coloração amarelo leitosa e tornando-se, posteriormente, enegrecida. As infecções em cladódios primários ou secundários promovem o tombamento de partes da planta, causando prejuízos na produção (BARBOSA et al., 2012).

A gomose é causada pelo fungo *Dothiorella ribis* (Grossenb. & Duggar) Sacc., que tem como teleomorfo *Botryosphaeria ribis* Grossenb. & Duggar. A doença ocorre nos principais países produtores de palma forrageira, tais como México, Brasil e Itália. No

Nordeste do Brasil tem sido observado com frequência na região do Sertão do estado de Pernambuco, causando prejuízos na produção. Induz lesões na forma de cancrs, ressecando os cladódios e provocando declínio da planta. Áreas acinzentadas podem ser detectadas nos tecidos infectados, devido à presença de várias frutificações do fungo (picnídio) que quebram a epiderme. Nos casos mais graves, quando a doença inclui o caule e a planta é jovem, ela morre dentro de poucos anos (BARBOSA et al., 2012).

A podridão-de-fusário é causada pelo fungo *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. e tem seu desenvolvimento frequentemente favorecido em solos de elevada acidez, baixa permeabilidade, umidade excessiva e níveis elevados de adubação orgânica. A doença pode afetar as cladódios-sementes e cladódios da base em plantas adultas, tendo sido assinalada em vários países produtores de palma forrageira. No Nordeste brasileiro foi descrita em Pernambuco e, possivelmente, ainda não relatada em outros estados por falta de estudos sobre doenças na cultura da palma. A podridão no cladódio da base é de consistência mole e coloração esverdeada. Os cladódios primários e secundários murcham e tombam sobre a planta poucos dias após a infecção. Os tecidos do cladódio infectado tornam-se aquosos, escurecem e expõem as estruturas internas lenhosas. As raízes apodrecem, exibindo coloração marrom-avermelhada (BARBOSA et al., 2012).

A podridão-de-esclerócio é causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc. e foi relatada no Agreste de Pernambuco. Ocorre sob a forma de podridão mole, incidindo sobre os cladódios mais próximas do solo. Em condições de elevada umidade, aparece sobre as lesões um crescimento micelial branco, sobre o qual se formam esclerócios esféricos, inicialmente brancos e posteriormente marrom-escuros. Os esclerócios podem sobreviver no solo por no mínimo um ano (BARBOSA et al., 2012).

A podridão-de-macrophomina, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid., foi relatada em Alagoas, infectando palma miúda e em Pernambuco foi assinalada nos municípios de Afogados da Ingazeira, Caruaru e Pesqueira. Os sintomas em cladódios caracterizam-se por lesões necróticas escuras, deprimidas, envolvidas por um halo clorótico. Com a evolução da doença, os tecidos necrosados se desprendem formando perfurações nos cladódios. Estresse hídrico e nutricional predispõe ao ataque da doença (BARBOSA et al., 2012).

A rizoctoniose, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, foi relatado nos estados do Rio Grande do Norte e Paraíba. Caracteriza-se por podridão aquosa de coloração castanha no início e, em seguida, negra. O ponto inicial de infecção são os cladódios tenros da base, podendo estender-se para outros cladódios. Na superfície da podridão são formados

esclerócios do fungo que constituem a forma propagativa e de sobrevivência (BARBOSA et al., 2012).

Como medidas de controle das murchas, podridões de raízes e de cladódios da base são indicadas: utilização de cladódios-sementes sadios para evitar a introdução da doença nas áreas de produção, remoção e destruição dos cladódios infectados no campo, destruição das partes de plantas afetadas, correção do pH do solo, adubação equilibrada, evitar o adensamento de plantas e promover a drenagem do solo (BARBOSA et al., 2012).

4.2. Manchas de cladódios

Entre as manchas dos cladódios da palma forrageira no Nordeste brasileiro, as mais importantes são a mancha-escamosa e a mancha-marrom (BARBOSA et al., 2012; SANTOS et al., 2006; SOUZA et al., 2010).

A mancha-escamosa, causada pelo fungo *Scytalidium lignicola* Pesante, ocorre com bastante frequência nas áreas de plantio de palma forrageira. Em levantamento realizado em 2010, esta foi a principal doença detectada em palma gigante no estado da Paraíba (SOUZA et al., 2010). O desenvolvimento de sintomas constitui-se, essencialmente, por surgimento de manchas onduladas, semelhantes a escamas, sobre áreas com podridão seca. A infecção resulta em podridão a partir do local de inserção dos cladódios primários, secundários ou terciários, sem que se verifique o avanço da infecção para o artigo imediatamente inferior. Em virtude de infectar o ponto de inserção dos cladódios, causa prejuízos à cultura devido ao tombamento de partes da planta. Existem poucas informações sobre o controle dessa doença (BARBOSA et al., 2012; SOUZA et al., 2010).

A mancha-marrom é de ocorrência comum na palma forrageira miúda em vários países. A etiologia dessa doença tem sido controversa, sendo atribuída a diferentes espécies fúngicas, incluindo *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Alternaria tenuissima* (Nees) Wiltshire, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. & Sacc., *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Fusarium lunatum* (Ellis & Everhart) Arx e *Pseudocercospora opuntiae* Ayala-Escobar, U. Braun & Crous (BARBOSA et al., 2012; FLORES-FLORES et al., 2013; SOUZA et al., 2010). No Brasil, a mancha-marrom foi assinalada no ano de 2001 em cultivo de palma miúda em São Bento do Una - PE com elevada incidência (70%) e severidade. Atualmente a mancha-marrom ocorre em vários municípios das mesoregiões Agreste e Sertão de Pernambuco (BARBOSA et al., 2012), bem como em várias mesoregiões dos estados de

Alagoas e Paraíba (SOUZA et al., 2010), sendo atribuída exclusivamente a *A. tenuissima* (BARBOSA et al. 2012; LIMA et al. 2011).

Os sintomas da doença caracterizam-se por manchas de coloração inicialmente marrom e depois preta nos cladódios, nas formas circulares ou elípticas, medindo 1,0-3,0 cm de diâmetro com abundante esporulação na superfície da lesão. As lesões podem se estender de uma face à outra do cladódio, exibindo perfurações devido à queda do tecido infectado (Figura 1). As manchas podem coalescer, formando grandes áreas necrosadas e causando a queda dos cladódios (BARBOSA et al., 2012; GRANATA, 2001; SANTOS et al., 2006; SOUZA et al., 2010). A doença apresenta sintomas similares, independentemente do patógeno, porém pode ter leves variações dependendo da espécie do fungo, das variedades da cultura e das condições climáticas (FLORES-FLORES et al., 2013). As medidas de controle se baseiam na remoção e destruição dos cladódios afetados (BARBOSA et al., 2012; SOUZA et al., 2010).



Figura 1 – Sintomas da mancha-marrom em cladódios de palma forrageira miúda, com destaque nos detalhes das lesões e perfurações.

Não existem fungicidas registrados no Brasil para o controle das doenças da palma forrageira (MAPA, 2014). Como as opções de controle são muito reduzidas, há necessidade do desenvolvimento de novas estratégias de manejo da doença.

5. Amostragem de doenças de plantas

O manejo de doenças de plantas baseia-se no conhecimento epidemiológico, iniciando-se, em geral, com levantamentos nas áreas de produção. O manejo de doenças de plantas baseia-se no conhecimento epidemiológico, iniciando-se, em geral, com levantamentos nas áreas de produção. Levantamentos fitopatológicos têm como objetivos fornecer informações sobre a importância relativa das doenças, monitorar as flutuações em intensidade destas ao longo da estação de cultivo e dos anos, e verificar a eficácia e a aceitação das medidas de controle recomendadas (CAMPBELL; MADDEN, 1990; HOLDERNESS, 2002; KING, 1980; MADDEN; HUGHES, 1999; MADDEN; HUGHES; VAN DEN BOSCH, 2007). No entanto, para que os dados obtidos nos levantamentos sejam confiáveis, há necessidade de padronização nos métodos de amostragem das plantas no campo e na quantificação da doença (CAMPBELL; MADDEN, 1990; HOLDERNESS, 2002). Para a quantificação da mancha-marrom da palma forrageira foi desenvolvida uma escala diagramática que propicia um bom grau de precisão nas estimativas da severidade da doença (LIMA et al., 2011). Entretanto, não existe nenhum método estabelecido para amostragem da doença no campo.

A amostragem constitui uma das mais importantes atividades no estudo de epidemias de doenças de plantas e permite a obtenção de estimativas representativas das características da epidemia a um custo reduzido, com a maior exatidão e precisão possível (CAMPBELL; MADDEN, 1990; MADDEN; HUGHES; VAN DEN BOSCH, 2007). Devido às limitações de custo financeiro e tempo, geralmente é difícil tomar o censo completo de um campo de produção durante levantamento fitopatológico (CAMPBELL; MADDEN, 1990; HOLDERNESS, 2002; PARNELL et al., 2011). Por isso, o objetivo principal da amostragem para avaliações de doenças de plantas é obter um número mínimo de indivíduos que represente as características da epidemia de uma população determinada, com um custo razoável (NEHER; CAMPBELL, 1997). Além de reduzir os custos, a amostragem propicia economia no tempo de realização das atividades, permitindo a execução de levantamentos em mais áreas. Outro aspecto a considerar é que a amostragem de pequenas partes da população pode propiciar valores mais confiáveis devido ao trabalho e ao volume de avaliações serem reduzidos (COCHRAN, 1977).

Uma amostra é uma coleção de n -unidades que possuem em comum um ou mais atributos mensuráveis e se obtém com o propósito de estimar os parâmetros da população sobre a qual foi retirada a referida amostra. Uma população pode ser definida como a

totalidade do universo de n -unidades com determinado atributo presente em determinado tempo e espaço. Estas duas dimensões, tempo e espaço, conferem às populações um caráter dinâmico, sendo a razão para considerar a variabilidade do tamanho ótimo da amostra. Uma população tem pelo menos um atributo mensurável com dois parâmetros estatísticos associados: uma média μ e uma variância σ^2 . Portanto, se um subconjunto de unidades da população é extraído com um critério estatístico definido, então é possível estimar a μ e a σ^2 com certo grau de precisão e exatidão. Pode-se afirmar que este subconjunto, a amostra, é suficiente para caracterizar a população em relação a um atributo específico. Os estimadores de μ e σ^2 são denominados média e variância da amostra, porém são representados como \bar{x} e S^2 , respectivamente. Por essa razão se considera que a média e a variância constituem a base da amostragem (COCHRAN, 1977).

O desenvolvimento de um plano de amostragem requer o conhecimento minucioso do patossistema a ser amostrado, um claro conceito de como os dados obtidos serão avaliados e uma mensuração realista do tempo e/ou dos recursos financeiros disponíveis. Um plano de amostragem deve representar um acordo entre o que é biologicamente e estatisticamente razoável. Nesse sentido, para sucesso com um plano de amostragem requer-se que: a) os objetivos sejam definidos de forma clara e concisa; b) a unidade amostral seja claramente definida e a população amostral seja razoável sob o ponto de vista biológico; c) o método de amostragem deve permitir a obtenção de estimativas de níveis de doença que são exatos, precisos e reproduzíveis para toda a população; d) a amostragem seja efetuada eficientemente dentro de custo e tempo determinados (CAMPBELL; DUTHIE, 1989).

Um plano de amostragem é constituído de três etapas essenciais: a) definição do método de amostragem, b) determinação do tamanho ideal da amostra e c) execução da amostragem. Os métodos utilizados para avaliação de doenças em plantas incluem amostragens ao acaso, sistemática, estratificada e sequencial. A amostragem sistemática é de fácil execução, propicia resultados suficientemente acurados e precisos, sendo a mais utilizada na quantificação de doenças de plantas. Esse tipo de amostragem é realizado pela adoção de um padrão de caminharmento e tomada das unidades amostrais a distâncias pré-fixadas ao longo do caminho (KRANZ, 1993).

A exatidão e a precisão das estimativas de uma população são, em geral, diretamente proporcionais ao número de unidades n em uma amostra, ou seja, o tamanho da amostra, motivo pelo qual determinar o número ótimo das n -unidades resulta em um dos aspectos analíticos fundamentais da amostragem (COCHRAN, 1977). O tamanho da amostra em

experimento ou levantamento de campo normalmente determina a qualidade ou a confiabilidade dos dados de quantificação da doença obtidos e o custo da iniciativa. Poucas amostras poderão resultar em dados não confiáveis e não representativos, enquanto muitas amostras poderão oferecer dados de melhor qualidade, mas desperdiçar recursos valiosos. Consequentemente, o objetivo da amostragem é alocar os recursos sabiamente e, ao mesmo tempo, determinar o número de amostras que pode ser tomado para atingir um determinado nível de confiabilidade e precisão (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Há pelo menos três métodos para estimar tamanho de amostra, os quais dependem da definição operacional da confiabilidade e dos custos impostos na coleta das amostras: (i) confiabilidade é definida pelo coeficiente de variação da média ou erro padrão; (ii) confiabilidade é definida por equações de probabilidade; (iii) componentes da variância e funções de custo são usados para otimizar o número de amostras, considerando que cada tipo de amostra tem um custo associado (CAMPBELL; DUTHIE, 1989; CAMPBELL; MADDEN, 1990).

O método baseado no coeficiente de variação da média, especificando o nível de erro aceitável (5, 10 ou 20%), tem sido utilizado na determinação dos tamanhos ideais das amostras para quantificação de várias doenças de plantas, incluindo mancha parda [*Cercosporidium henningsii* (Alesch.) Deighton] da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (MICHEREFF et al., 1998), podridão negra [*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson] e alternariose [*Alternaria brassicicola* (Schwn.) Wilt.] do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) (AZEVEDO; MARIANO; MICHEREFF, 2000), murcha bacteriana [*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.] do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (TAVARES et al., 2000), murcha-de-fusário [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen] do tomateiro (ANDRADE; MICHEREFF, 2000), mancha-aquosa [*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et al.) Willems et al.] do meloeiro (*Cucumis melo* L.) (SILVA et al., 2003), queima das folhas [*Curvularia eragrostidis* (Henn.) Meyer] do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) (MICHEREFF; NORONHA; MAFFIA, 2008), podridão-mole [*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben et al.] da alface (*Lactuca sativa* L.) e da couve-chinesa (*Brassica pekinensis* L.) (SILVA et al., 2008), Sigatoka amarela [*Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton] da bananeira (*Musa* spp.), (ROCHA JÚNIOR et al., 2010) e cercosporiose (*Cercospora capsici* Heald et Wolf) do pimentão (*Capsicum annuum* L.) (MICHEREFF et al., 2011).

Todos os métodos utilizados na determinação do tamanho de amostras se baseiam em amostragens-piloto, que consistem na avaliação da intensidade da doença numa pequena

parcela da população, normalmente entre 30 e 100 plantas. Preferencialmente, devem ser efetuadas amostragens-piloto em cultivos em diferentes estádios fenológicos e níveis de intensidade da doença. Um pressuposto básico para estimar o tamanho da amostra é que os dados dos locais analisados são representativos do que poderia ocorrer em outros campos, sendo a validade desses pressupostos variável entre patossistemas (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Outro aspecto importante a considerar, é que o tamanho da amostra para quantificação da doença necessita ser dinâmico, uma vez que pode variar com o progresso da doença (KRANZ, 1988; DUTHIE; CAMPBELL; NELSON, 1991) e com as mudanças do padrão espacial de plantas doentes no campo durante o desenvolvimento da epidemia (CAMPBELL; DUTHIE, 1989; JEGER, 1990).

Considerando que a confiabilidade da estimativa de uma doença é relacionada diretamente ao tamanho da amostra e à sua heterogeneidade espacial, os métodos de determinação do tamanho da amostra podem estar associados a distribuições, que representam diferentes padrões espaciais da doença no campo (PERRY, 1994). Nesse contexto, o conhecimento do arranjo espacial das plantas doentes é um pré-requisito para a determinação do tamanho da amostra (KRANZ, 1993; MADDEN; HUGHES; VAN DEN BOSCH, 2007), motivo pelo qual a análise do padrão espacial da doença deve ser realizada e inferências sobre esse aspecto podem ser determinadas a partir dos dados das amostragens-piloto (PARNELL et al., 2011).

Em doenças de plantas, o padrão espacial é definido como o arranjo ou posicionamento das plantas doentes, umas em relação às outras, podendo apresentar três classificações: uniforme, aleatório e agregado. No padrão uniforme a variância é menor do que a média, indicando subdispersão; no padrão aleatório, a variância e a média são iguais, indicando dispersão ou distribuição independente ou aleatória das plantas doentes; no padrão agregado, a variância é maior do que a média, indicando superdispersão (CAMPBELL; MADDEN, 1990; KRANZ, 1993; MADDEN; HUGHES; VAN DEN BOSCH, 2007).

Com a expansão das áreas cultivadas com palma miúda no Nordeste brasileiro, surgiram preocupações quanto à elevada suscetibilidade à mancha-marrom. Apesar da ocorrência comum em palma miúda em vários países, incluindo o Brasil, não existem informações precisas sobre a intensidade dessa doença. Além disso, como é uma doença de difícil controle, torna-se indispensável a utilização de medidas integradas de manejo, baseadas em conhecimentos epidemiológicos. Até o momento não existem informações sobre os procedimentos para amostragem da doença visando a quantificação precisa da severidade nas áreas de produção. Portanto, o objetivo da presente dissertação foi determinar os tamanhos

ideais das amostras para quantificação da mancha-marrom em diferentes áreas de cultivo de palma miúda com níveis variáveis de severidade da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, D. E. G. T.; MICHEREFF, S. J. Incidência da murcha-de-fusário do tomateiro no Agreste de Pernambuco e determinação do tamanho da amostra para quantificação da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p.3 6-41, 2000.
- AZEVEDO, S. S.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J. Levantamento da intensidade da podridão negra e da alternariose do repolho no Agreste de Pernambuco e determinação do tamanho das amostras para sua quantificação. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 299-306, 2000.
- BARBERA, G. História e importância econômica e agroecológica. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma/Brasília: FAO/Sebrae, 2001. p. 1-11.
- BARBOSA, R. S.; CALVALCANTI, V. A. L.; LOPES, E. B.; ARAÚJO, E. Doenças da palma forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.). **Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino**. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, 2012. p. 81-98.
- BARRIOS, E. P.; MUÑOZ-URÍAS, A. Domesticação das opuntias e variedades cultivadas. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma/Brasília: FAO/Sebrae, 2001. p. 58-64.
- CAMPBELL C. L.; MADDEN L. V. Designing of experiments and sampling. In: CAMPBELL C. L.; MADDEN L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley. 1990. p. 353-391.
- CAMPBELL, C. L.; DUTHIE, J. A. Sampling for disease assessment. **Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases**, St. Paul, v. 4, p. 5-8, 1989.
- COCHRAN, W. G. **Sampling techniques**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 1977. 428 p.
- DUTHIE, J. A.; CAMPBELL, C. L.; NELSON, L. A. Efficiency of multistage sampling for estimating of intensity of leaf spot diseases of alfalfa in field experiments. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n. 9, p. 959-964, 1991.
- ESTADÃO. **Seca e praga abrem crise na produção de leite em PE**. São Paulo: O Estado de São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/noticias/impreso,seca-e-praga-abrem-crise-na-producao-de-leite-em-pe--,948977,0.htm>>. Acesso em: 04 abr. 2014.
- FARIAS, I.; SANTOS, D. C.; DUBEUX JÚNIOR, J. C. B. Estabelecimento e manejo da palma forrageira. In: MENEZES, R. S. C.; SIMÕES, D. A.; SAMPAIO, E. V. (Eds.). **A palma no Nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2005. p. 81-103.
- FLORES, C. A. Produção, industrialização e comercialização de verdura de palma forrageira. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma/Brasília: FAO/Sebrae, 2001. p. 94-102.

FLORES-FLORES, R.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M. G.; LÉON-RODRIGUEZ, L.; FLORES-MOCTEZUMA, H. E.; HERNÁNDEZ-LAUZUARDO, A. N. Identification of fungal species associated with cladode spot of prickly pear and their sensitivity to chitosan. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 161, n. 7-8, p. 544-552, 2013.

GRANATA, G. Doenças bióticas e abióticas. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma/Brasília: FAO/Sebrae, 2001. p. 112-122.

HOFFMANN, W. Etnobotânica. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma/Brasília: FAO/Sebrae, 2001. p. 12-19.

HOLDERNESS, M. Surveys and sampling. In: WALLER, J. M.; LENNÉ, J.; WALLER, S. J. (Eds.). **Plant pathologist's pocketbook**. 3. ed. Wallingford: CAB International, 2002. p. 545-640.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/aba-te-leite-couro-ovos_201303_2.shtm>. Acesso em: 04 abr. 2014.

JEGER, M. J. Mathematical analysis and modeling of spatial aspects of plant disease epidemics. In: KRANZ, J. (Ed.). **Epidemics of plant diseases: mathematical analysis and modeling**. 2. ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 53-95.

KING, J. E. Cereal survey methodology in England and Wales. In: TENG, P. S., KRUPA, S. V. (Eds.). **Crop loss assessment which constrain production and crop improvement in agriculture and forestry**. Minnesota: University of Minnesota, 1980. p. 124-133. (Agricultural Experiment Station – University of Minnesota. Miscellaneous Publication, 7).

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

KRANZ, J. Introduction to sampling in crop protection. In: KRANZ, J.; HOLZ, F. (Eds.). **Basics of decision-making and planning for integrated pest management (IPM): material for a course**. Feldafing: Zentralstelle für Ernährung und Landwirtschaft, 1993. p. 33-39.

LIMA, C. D. S.; GOMES, H. S.; DETONI, C. E. Adição de uréia e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* no enriquecimento protéico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. miúda. **Revista Magistra**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2004.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; MARTINS, R. B.; SANTOS, H. V.; MICHEREFF, S. J. Development and validation of a standard area diagram set for assessment of alternaria spot on the cladodes of the prickly pear cactus. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 93, n. 3. p. 691-695, 2011.

LIMA, W. B.; PEREIRA, D. D.; NASCIMENTO, A. R. L.; ALBUQUERQUE, A. G. Produção de mudas de palma forrageira resistente a cochonilha-do-carmim, variedade orelha-de-elefante-mexicana (*Opuntia tuna* (L.) Mill). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PALMA E OUTRAS CACTÁCEAS, 3., 2013, Fortaleza, Brasil. **Anais ...** Fortaleza:

Federação da Agricultura e Pecuária do Estado do Ceará, 2013. 4 p.
<http://pecnordestefaec.org.br/palma/trabalhos.php>

LONGO, S.; RAPISARDA, C. Pragas da palma forrageira. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma/Brasília: FAO/Sebrae, 2001. p. 103-111.

LOPES, E. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H.; SANTOS, D. C. Pragas da palma forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.). **Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino**. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, 2012. p. 61-80.

LOPES, E. B.; SANTOS, D. C. E.; VASCONCELOS, M. F. Cultivo da palma forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.). **Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino**. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, 2012. p. 21-60.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G. Sampling for plant disease incidence. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 11, p. 1088-1103, 1999.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; VAN DEN BOSCH, F. Estimating plant disease by sampling. In: MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; VAN DEN BOSCH, F. **The study of plant disease epidemics**. St. Paul: APS Press, 2007. p. 279-318.

MAJURE, L. C.; PUENTE, R.; GRIFFITH, M. P.; JUDD, W. S.; SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. Phylogeny of *Opuntia* s. s. (Cactaceae): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 99, n. 5, p. 847-864, 2012.

MAPA. **AGROFIT** - Sistema de agrotóxicos fitossanitários [on line]. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2014. Disponível em:
 <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 abr. 2014.

MATTOS, L. M. E.; FERREIRA, M. A.; SANTOS, D. C.; LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; BATISTA, A. M. V.; VÉRAS, A. S. C. Associação da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) com diferentes fontes de fibra na alimentação de vacas 5/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 2128-2134, 2000.

MELO, A. P. S.; FERREIRA, M. A.; VÉRAS, A. S. C.; LIRA, M. A.; LIMA, L. E.; VILELA, M. S.; MELO, E. O. S.; ARAÚJO, P. R. B. Substituição parcial do farelo de soja por uréia e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) em dietas para vacas em lactação - desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 727-736, 2003.

MÉNDEZ-GALLEGOS, S. J.; TALAVERA-MAGAÑA, D.; GARCÍA-HERRERA, E. J. Identificación y control de las principales enfermedades del nopal. In: SIMPOSIUM-TALLER “PRODUCCIÓN Y APROVECHAMIENTO DEL NOPAL EN EL NORDESTE DE MÉXICO”, 7., 2008, Mina, México. **Anais...** Mina: Facultad de Agronomía, UNAL / Museo Bernabé de las Casas, 2008. p. 55-66.

MICHEREFF, S. J.; MARTINS, R. B.; NORONHA, M. A.; MACHADO, L. P. Sample size for quantification of cercospora leaf spot in sweet pepper. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 93, n. 1, p. 183-186, 2011.

MICHEREFF, S. J.; NORONHA, M. A.; MAFFIA, L. A. Tamanho de amostras para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 2, p. 189-191, 2008.

MICHEREFF, S. J.; PEDROSA, R. A.; NORONHA, M. A.; MARTINS, R. B.; SILVA, F. V. Escala diagramática e tamanho de amostras para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca (*Cercosporidium henningsii*). **Agrotrópica**, Itabuna, v. 10, n. 3, p. 143-148, 1998.

NEHER, D. A.; CAMPBELL, C. L. Determining sample size. In: FRANCL, L. J.; NEHER, D. A. (Eds.). **Exercises in plant disease epidemiology**. St. Paul: APS Press, 1997. p. 12-15.

OLIVEIRA, A. S. C.; CAVALCANTE FILHO, F. N.; RANGEL, A. H. N.; LOPES, K. B. P. A palma forrageira: alternativa para o semi-árido. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 3, p. 49-58, 2011.

OLIVEIRA, F. T.; SOUTO, J. S.; SILVA, R. P.; ANDRADE FILHO, F. C.; PEREIRA JÚNIOR, E. B. Palma forrageira: adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 4, p. 27-37, 2010.

PARNELL, S.; GOTTWALD, T. R.; IREY, M. S.; LUO, W.; VAN DEN BOSCH, F. A stochastic optimization method to estimate the spatial distribution of a pathogen from a sample. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 10, p. 1184-1190, 2011.

PERRY, J. N. Sampling and applied statistics for pests and diseases. **Aspects of Applied Biology**, London, v. 37, n. 1, p. 1-14, 1994.

QUEZADA-SALINAS, A.; SANDOVAL-ISLAS, S.; ALVARADO-ROSALES, D., CÁRDENAS-SORIANO, E. Etiologia de la mancha negra del nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill) em Tlalnepantla, Morelos, México. **Agrociencia**, Montecillo, v. 40, n. 1, p. 641-653, 2006.

REBMAN, J. P.; PINKAVA, D. J. *Opuntia* cacti of North America – an overview. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, n. 4, p. 474-483, 2001.

REYES-AGUERO, J. A.; AGUIRRE-RIVERA, J. R.; HERNÁNDEZ, H. M. Notas sistemáticas y descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. (Cactaceae). **Agrociencia**, Texcoco, v. 39, n. 3, p. 395-408, 2005.

ROCHA JÚNIOR, O. M.; CÂMARA, M. P. S.; MICHEREFF, S. J.; OLIVEIRA, M. J.; MORA-AGUILERA, G.; GARCÍA, N. R. Caracterización espacial de la Sigatoka amarilla del banano e implicaciones en el muestreo. **Agrociencia**, Montecillo, v. 44, n. 3, p. 351-356, 2010.

SANTOS, D. C. E.; ARAÚJO, L. F.; LOPES, E. B.; VASCONCELOS, M. F. Usos e aplicações da palma forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.). **Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino**. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, 2012. p. 99-150.

SANTOS, D. C.; FARIAS, I.; LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; ARRUDA, G. P.; COELHO, R. S. B.; DIAS, F. M.; MELO, J. N. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: IPA, 2006. 48 p. (IPA. Documentos, 30).

SANTOS, M. V. F.; CUNHA, M. V.; LIRA, M. A.; DUBEUX JR., J. C. B.; FREIRE, J. L.; PINTO, M. S. C.; SANTOS, D. C.; SOUZA, T. C.; SILVA, M. C. Manejo da palma forrageira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PALMA E OUTRAS CACTÁCEAS, 2., 2011, Garanhuns, Brasil. **Anais ...** Fortaleza: Federação da Agricultura e Pecuária do Estado do Ceará, 2013. 15 p. <http://pecnordestefaec.org.br/palma/artigos/MANEJO-DA-PALMA-FORRAGEIRA.pdf>

SILVA, A. M. F.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; SILVA, A. J. Tamanho de amostras para quantificação da podridão-mole da alface e da couve-chinesa. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 90-92, 2008.

SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Electrónica de Veterinária**, Toledo, v. 7, n. 10, p. 1-13, 2006. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html>.

SILVA, E. I.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J.; SALES JR., R.; OLIVEIRA, I. S. Levantamento da incidência da mancha-aquosa do melão no Rio Grande do Norte e determinação do tamanho das amostras para quantificação da doença. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 2, p. 172-176, 2003.

SIMÕES, D. A.; SANTOS, D. C.; DIAS, F. M. Introdução da palma forrageira no Brasil. In: MENEZES, R. S. C.; SIMÕES, D. A.; SAMPAIO, E. V. S. B. (Eds.). **A palma no Nordeste do Brasil**: conhecimento atual e novas perspectivas de uso. Recife: Editora da Universitária da UFPE, 2005. 258 p.

SOUZA, A. E. F.; NASCIMENTO, L.C.; ARAÚJO, E.; LOPES, E.B.; SOUTO, F. M. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido paraibano. **Biotemas**, Florianópolis, v. 23, n. 3, p. 11-20, 2010.

SUASTE-DZUL, A.; ROJAS-MARTÍNEZ, R. I.; ZAVALA-MEJÍA, E.; PÉREZ-BRITO, D. Detección molecular de fitoplasmas em nopal tunero (*Opuntia ficus-indica*) con sintomas de engrosamiento del cladódio. **Revista Mexicana de Fitopatología**, Chapingo, v. 30, n. 1, p. 72-80, 2012.

TAVARES, L. A.; MICHEREFF, S. J.; SOUZA, R. M.; MARIANO, R. L. R. Plano de amostragem para quantificação da murcha bacteriana do tomateiro no campo. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 306-310, 2000.

Capítulo II

Tamanho de amostras para quantificação da severidade da mancha-marrom dos cladódios em palma forrageira

Submissão: **Journal of Phytopathology**
Berlim, Alemanha
Qualis CAPES (Ciências Agrárias I) = B1

Amostragem mancha-marrom da palma forrageira

Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

Tamanho de amostras para quantificação da severidade da mancha-marrom dos cladódios em palma forrageira

Sample size for severity quantification of cladode brown spot in cactus prickly pear

José María Garcete Gómez¹, Cinthia Conforto^{1,2}, Gustavo Mora-Aguilera³ and Sami Jorge Michereff¹

¹ *Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 52171-900, Pernambuco, Brasil*

² *Instituto de Patología Vegetal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Córdoba, 5119, Córdoba, Argentina*

³ *Programa de Fitopatología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Montecillo, 56230, Estado de México, México*

Correspondência

S.J. Michereff, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

E-mail: sami@depa.ufrpe.br

Resumo

A palma forrageira miúda (*Nopalea cochenillifera*) é muito importante para a subsistência da pecuária nas regiões semiáridas do Nordeste do Brasil e a mancha-marrom, causada por *Alternaria tenuissima*, causa sérios danos nos cladódios dessa cactácea. Apesar da importância, até o momento não foram realizados estudos para estabelecer procedimentos padronizados de amostragem para quantificação da severidade dessa doença. Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar os tamanhos ideais das amostras para quantificação da mancha-marrom em diferentes áreas de cultivo de palma miúda. Amostragens-piloto foram conduzidas para avaliar a severidade da doença em 18 áreas de plantio de palma forrageira miúda, localizadas na mesorregião do Agreste do estado de Pernambuco, Brasil. Em cada área foi delimitada uma subparcela de aproximadamente 0,3 ha (45 x 68 m). Em cada população foi selecionada uma amostra sistemática simples de 50 plantas. Com o auxílio de escala diagramática foi efetuada a estimativa da severidade da doença nas plantas selecionadas, considerando-se amostras de 2, 4 e 6 cladódios/planta. O arranjo espacial das plantas doentes foi estimado pelo índice de agregação de Lloyd (LIP) e os tamanhos ideais das amostras foram calculados com base nos níveis de erros aceitáveis (5, 10 e 20%). Em 59,3% das situações o arranjo espacial da doença no campo foi aleatório, enquanto 24,1% foi agregado e 16,6% foi uniforme. Houve correlação negativa significativa ($r = -0,61$; $P < 0,01$) entre os níveis de severidade da doença e os tamanhos das amostras. Considerando a amostragem de 2 cladódios/planta com níveis de erros aceitáveis de 5, 10 e 20%, os tamanhos ideais médios das amostras foram 253, 63 e 16 plantas, respectivamente, para cada 0,3 ha de área cultivada.

Palavras-chave *Nopalea cochenillifera*, *Alternaria tenuissima*, amostragem, epidemiologia.

Abstract

Cactus prickly pear (*Nopalea cochenillifera*) is very important to livestock subsistence in semi-arid regions in Northeast of Brazil and the brown spot, caused by *Alternaria tenuissima*, damages seriously the cladodes. Despite its importance, no studies have been conducted so far to establish standardized sampling procedures for quantifying the disease severity. Therefore, the aim of this study was determine the optimal sample size for quantification of brown spot in different cultivated fields of cactus prickly pear with different brown sport severity levels.

Pilot-samplings were conducted to assess the disease severity in 18 fields of cactus prickly pear, located in the Agreste region of the state of Pernambuco, Brazil. Each area was subplot in approximately 0.3 ha (45 x 68 m). A simple systematic sample of 50 plants was selected in each population. In selected plants the disease severity was estimated with the aid of diagrammatic scale, considering samples of 2, 4 and 6 cladodes/plant. The spatial pattern of diseased plants was estimated by the Lloyd's Index of Patchiness (LIP) and ideal sample sizes were calculated based on degrees of acceptable error (5, 10 and 20%). Disease severity ranged from 0.4 to 8.7%. In 59.3% of cases the spatial pattern of disease in the field was random, while 24.1% was aggregated and 16.6% was uniform. There was a significant negative correlation ($r = -0.61$; $P < 0.01$) between disease severity levels and the sample sizes. There was no significant difference ($P > 0.05$) in the sample sizes for the disease quantification when 2, 4 or 6 cladodes per plant were evaluated. Considering a sampling of 2 cladodes/plant with 5, 10 and 20% of acceptable error, the ideal mean sample size was 253, 63 and 16 plants, respectively, for each 0.3 ha of cultivated field.

Keywords *Nopalea cochenillifera*, *Alternaria tenuissima*, sampling, epidemiology.

Introdução

A palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) é muito importante para a subsistência da pecuária nas regiões semiáridas do Nordeste do Brasil, onde existe a maior área cultivada do mundo, estimada em 600 mil hectares (Lopes et al. 2012b). Essa cactácea é um alimento de grande importância para os rebanhos, notadamente nos períodos de estiagens prolongadas. Além de fornecer um alimento verde, supre grande parte das necessidades de água dos animais nas épocas de escassez, devido ao alto grau de resistência à seca e às altas temperaturas, adaptabilidade a solos poucos férteis e alta produtividade decorrente de sua elevada eficácia no uso da água (Barbera 2001; Santos et al. 2006).

No Nordeste brasileiro são cultivadas principalmente duas espécies de palma forrageira, a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., com os tipos gigante e redonda, e a *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm. Dyck., com o tipo miúda ou doce (Farias et al. 2005; Oliveira et al. 2010; Lopes et al. 2012b). Nos últimos anos, tem sido registrada uma grande expansão das áreas cultivadas com palma miúda no Nordeste brasileiro em função das excelentes

características de palatabilidade e digestibilidade para ruminantes, além da elevada resistência à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell), inseto-praga que vem dizimando os cultivos de palma gigante nas regiões semiáridas do Brasil (Lopes et al. 2012a,b).

A palma forrageira é nativa de regiões muito quentes e clima seco, entretanto, é afetada por vários patógenos (Barbera 2001). A mancha-marrom é uma doença de ocorrência comum na palma forrageira miúda em vários países. A etiologia dessa doença tem sido controversa em nível mundial, sendo atribuída a diferentes espécies fúngicas, incluindo *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Alternaria tenuissima* (Nees) Wiltshire, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. & Sacc., *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Fusarium lunatum* (Ellis & Everhart) Arx e *Pseudocercospora opuntiae* Ayala-Escobar, U. Braun & Crous (Souza et al. 2010; Lima et al. 2011; Barbosa et al. 2012; Flores-Flores et al. 2013).

No Brasil, a mancha-marrom foi assinalada em 2001 em cultivo de palma miúda no município de São Bento do UNa (estado de Pernambuco) com elevada incidência (70%) e severidade. Atualmente a doença ocorre em vários mesoregiões do Nordeste brasileiro, sendo atribuída exclusivamente a *A. tenuissima* (Souza et al. 2010; Lima et al. 2011; Barbosa et al. 2012). Os sintomas caracterizam-se por manchas de coloração inicialmente marrom e depois preta nos cladódios, nas formas circulares ou elípticas, medindo 1,0-3,0 cm de diâmetro com abundante esporulação na superfície da lesão. As lesões podem se estender de uma face à outra do cladódio, exibindo perfurações devido à queda do tecido infectado. As manchas podem coalescer, formando grandes áreas necrosadas e causando a queda dos cladódios (Souza et al. 2010; Lima et al. 2011; Barbosa et al. 2012). As medidas de controle da doença se baseiam na remoção e destruição dos cladódios afetados (Souza et al. 2010; Barbosa et al. 2012), não existindo fungicidas registrados no Brasil para o controle dessa e de outras doenças da palma forrageira (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 2014). Como as opções de controle são muito reduzidas, há necessidade do desenvolvimento de novas estratégias de manejo da mancha-marrom.

Levantamentos fitopatológicos são fundamentais para a elaboração, planejamento, implementação e avaliação de estratégias de manejo de doenças de plantas (Campbell e Madden 1990; Holderness 2002). Através desses levantamentos, é possível determinar a importância relativa das doenças, monitorar flutuações na intensidade durante a estação de cultivo e verificar a eficácia e a aceitação das medidas de controle recomendadas (Holderness 2002). No entanto, levantamentos somente são confiáveis quando os métodos empregados na quantificação da intensidade da doença e de amostragem são padronizados. Em outras palavras, os métodos precisam ser estabelecidos previamente quanto à avaliação da

severidade, número de amostras e maneira de coleta (Campbell e Madden 1990; Holderness 2002; Madden et al. 2007). Para a quantificação da mancha-marrom da palma forrageira miúda foi desenvolvida uma escala diagramática que propicia um bom grau de precisão nas estimativas da severidade da doença (Lima et al. 2011). Entretanto, não existe nenhum método estabelecido para amostragem da doença no campo.

O tamanho da amostra pode otimizar o balanço entre o número de amostras e a confiabilidade dos dados. Embora mais rápidos e fáceis para executar, pequenos tamanhos de amostras podem resultar em dados não confiáveis, enquanto um número muito elevado de amostras pode contribuir pouco para a confiabilidade quando comparado com o nível de confiança e precisão de um número intermediário de amostras (Campbell e Madden 1990).

Há pelo menos três métodos para estimar tamanho de amostra, os quais dependem da definição operacional da confiabilidade e dos custos impostos na coleta das amostras: (i) confiabilidade é definida pelo coeficiente de variação da média ou erro padrão; (ii) confiabilidade é definida por equações de probabilidade; (iii) componentes da variância e funções de custo são usados para otimizar o número de amostras, considerando que cada tipo de amostra tem um custo associado (Campbell e Madden 1990). Considerando que a confiabilidade da estimativa da doença é relacionada diretamente ao tamanho da amostra e à sua heterogeneidade espacial, todos os métodos acima podem ser associados a distribuições, que representam diferentes padrões espaciais da doença no campo (Kranz, 1988; Perry 1994).

Apesar da importância da mancha-marrom na palma forrageira miúda, até o momento não foram realizados estudos para estabelecer o número de plantas e cladódios a serem amostrados para quantificação da severidade da doença. Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar os tamanhos ideais das amostras para quantificação da mancha-marrom em diferentes áreas de cultivo de palma miúda com níveis variáveis de severidade da doença.

Materiais e Métodos

Amostragens-piloto foram conduzidas para avaliar a severidade da mancha-marrom em 18 áreas de plantio de palma forrageira miúda, localizadas na mesorregião do Agreste de Pernambuco (Tabela 1). A distância mínima entre as áreas foi 1,5 km. Em todos os plantios, as plantas tinham no mínimo três anos de idade e o sistema de condução era similar, com espaçamento de 1,0 x 1,2 m entre linhas e covas, respectivamente. O manejo cultural era

efetuado com práticas regionais, sem irrigação e sem a aplicação de fungicidas. Todas as plantas estavam no estágio vegetativo quando avaliadas.

Em cada área foi delimitada uma subparcela de aproximadamente 0,3 h (45 x 68 m), constituída por $N_1 = 30$ linhas e $N_2 = 45$ plantas por linha, totalizando 1.350 plantas. Em cada população foi selecionada uma amostra sistemática simples de 50 plantas, com $n_1 = 5$ linhas e $n_2 = 10$ plantas por linha. Com um intervalo de amostragem de $k_1 = 30/5 \approx 6$ linhas e $k_2 = 50/10 \approx 5$ plantas, foi selecionado aleatoriamente o sulco $r_1 = 6$ e a planta $r_2 = 5$ como primeiro ponto de amostragem. Os demais sulcos foram selecionados conforme $r_1 + (i-1) k_1$, $i = 1, \dots, n_1$, e dentro de cada linha selecionada a planta foi selecionada na posição $r_2 + (j-1) k_2$, $j = 1, \dots, n_2$. O ponto de início foi localizado na esquina esquerda superior, do qual foi avaliada a severidade nas plantas localizadas nas coordenadas proporcionadas pelo esquema de amostragem sistemática. Com o auxílio de escala diagramática, que inclui níveis de 2% a 40% de área de cladódio lesionada (Lima et al. 2011), foi efetuada a estimativa da severidade da mancha-marrom nas 50 plantas selecionadas, considerando-se amostras de 2, 4 e 6 cladódios/planta. Na amostra de dois cladódios, foi avaliado um cladódio do terço superior e outro do terço médio da planta. Em 4 e 6 cladódios amostrados, dois e três cladódios foram avaliados em cada terço (superior e médio) da planta, respectivamente.

Os dados de severidade da mancha-marrom obtidos nas amostragens sistemáticas foram utilizados para estimar o tamanho da amostra por parcela baseado no arranjo espacial das plantas doentes. O arranjo espacial foi estimado, para cada área de plantio, pelo índice de agregação de Lloyd (LIP), através da equação: $LIP = [(\bar{x} + (S^2 / \bar{x}) - 1)] / \bar{x}$, onde \bar{x} corresponde à severidade média da doença em 50 plantas, considerando 2, 4 e 6 avaliados cladódios/planta, e S^2 à variância amostral. Valores de LIP menores, iguais ou maiores que 1,0 indicam arranjos espaciais uniforme, aleatório ou agregado, respectivamente (Campbell e Madden 1990). A significância ($P = 0,05$) dos valores observados foi avaliada pelo teste de qui-quadrado (χ^2) com $(n-1)$ graus de liberdade. A análise de correlação de Pearson ($P=0,05$) foi usada para determinar a possível influência do nível de severidade da doença na intensidade da agregação (LIP) entre as plantas doentes nos diferentes tamanhos das amostras.

Os tamanhos ideais das amostras foram estimados para cada área de plantio, baseado nos níveis de erros aceitáveis e no arranjo indeterminado de plantas doentes. A adoção desse procedimento se justifica pela ausência de um mesmo arranjo espacial da doença em diferentes situações de campo (Campbell e Madden 1990; Michereff et al. 2008). Considerando a amostragem de 2, 4 e 6 cladódios/planta, os tamanhos ideais das amostras (n)

foram calculados pela equação: $n = S^2 / (\bar{x}^2 \cdot CV_x^2)$, em que CV_x é coeficiente de variação da média e corresponde aos erros aceitáveis pré-estabelecidos de 5, 10 e 20% ($CV_x = 0,05; 0,1$ e $0,2$) (Campbell e Madden 1990). Utilizando os dados obtidos de cada plantio, foi calculado o tamanho ideal médio da amostra quando 2, 4 e 6 cladódios/planta foram avaliados. Os tamanhos médios das amostras dentro de cada nível aceitável de erro foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis ($P=0,05$).

Resultados e Discussão

Os sintomas da mancha-marrom da palma forrageira miúda foram constatados em todas as áreas de plantio amostradas, evidenciando a elevada prevalência da doença na mesorregião do Agreste de Pernambuco. A severidade da doença variou de 0,4 a 8,7%, com média de 3,6% (Tabela 1). Em 50% das áreas os níveis de severidade da mancha-marrom foram inferiores a 2,0%, enquanto em 33,3% das áreas a severidade foi superior a 6%.

Como o tamanho ideal da amostra pode variar dependendo do arranjo espacial da doença no campo (Kranz 1988; Perry 1994), o arranjo espacial da mancha-marrom da palma forrageira foi estimado usando o índice de agregação de Lloyd (LIP). Em 59,3% das situações o arranjo espacial da mancha-marrom no campo foi aleatório, enquanto em 24,1% foi agregado e em 16,6% foi uniforme (Tabela 1). O arranjo aleatório indica que plantas doentes, relativamente distantes do conjunto de plantas sadias, podem ter servido como fonte de inóculo. Por outro lado, o arranjo agregado sugere que houve disseminação do inóculo de fontes próximas, ou mesmo, dentro de populações do hospedeiro (planta a planta) (Burdon 1987). A predominância do arranjo espacial aleatório de plantas de palma forrageira com mancha-marrom sugere que o inóculo predominante para as infecções foi exógeno à área de plantio. No entanto, a ocorrência do arranjo agregado em algumas situações indica que houve a contribuição do inóculo secundário e a dispersão deste a curtas distâncias para plantas sadias adjacentes. Esse padrão de dispersão de inóculo é normalmente associado a patógenos com dispersão anemófila de esporos pelo vento (McCartney et al. 2006), o que ocorre com *Alternaria* (Rotem 1994), o gênero fúngico causador da mancha-marrom da palma forrageira no Nordeste brasileiro (Souza et al. 2010; Lima et al. 2011; Barbosa et al. 2012).

Houve correlação positiva significativa ($r = 0,56$; $P < 0,01$) entre os níveis de severidade da doença e a intensidade de agregação dentro das amostras com diferentes

números de cladódios. Esse fato é compreensível ao se considerar que em plantas com elevada severidade há maior concentração de fontes de inóculo primário, as quais poderão induzir maior número de ciclos secundários em menor espaço de tempo, disseminado esse inóculo para plantas sadias próximas e gerando agregados de plantas doentes.

As amostragens de 2, 4 e 6 cladódios por planta não afetaram o arranjo espacial da mancha-marrom em 13 áreas de plantio de palma forrageira. No entanto, em cinco áreas (A, B, D, L e M) o número de cladódios amostrados afetou o arranjo espacial da doença. A diferença de comportamento entre as áreas de plantio quanto à influência do número de cladódios amostrados sobre o arranjo espacial e as variações no arranjo espacial constatadas entre as áreas, podem ser decorrentes da heterogeneidade das condições das áreas e das fontes de inóculo existentes. A dispersão do inóculo é resultante das características reprodutivas, dispersivas e interativas de um patógeno, enquanto o arranjo espacial das unidades básicas reflete a heterogeneidade das condições do campo e das fontes de inóculo (Gaunt e Cole 1992). Além disso, podem ocorrer mudanças no arranjo espacial de plantas doentes no campo durante o desenvolvimento da epidemia (Kranz 1988).

Os tamanhos das amostras para quantificação da mancha-marrom da palma-forrageira foram estimados baseados no arranjo espacial indeterminado de plantas doentes, tendo em vista que o arranjo não foi o mesmo em todas as situações de campo. Os tamanhos das amostras associados aos arranjos espaciais uniforme e aleatório são menores que os associados ao arranjo agregado. No caso do arranjo indeterminado, o tamanho da amostra é muito similar ao arranjo agregado, apesar das fórmulas para cálculo dos tamanhos das amostras serem diferentes (Campbell e Madden 1990).

Houve correlação negativa significativa ($r = -0,61$; $P < 0,01$) entre os níveis de severidade da mancha-marrom e os tamanhos das amostras, indicando que o número de plantas a ser amostrado reduz com a elevação da severidade da doença, e assemelhando-se ao constatado em outros patossistemas (Rossi e Battilani 1989; Jong 1995; Michereff et al. 1998; Michereff et al 2008; Rocha Júnior et al. 2010).

Em termos de média entre áreas, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) no tamanho das amostras para a quantificação da mancha-marrom quando 2, 4 ou 6 cladódios/planta foram avaliados (Tabela 1). O número de plantas a ser amostrado reduziu com a elevação do nível de erro aceitável, independentemente do número de cladódios avaliados (Tabela 1). Como a escolha do nível de erro aceitável depende do propósito da amostragem (Kranz 1988), um erro de 20% é aceitável em levantamentos fitopatológicos regionais, tendo em vista as freqüentes limitações financeiras, de equipe técnica e de tempo

para execução (Holderness 2002). Considerando esse nível de erro e os valores médios obtidos, em futuros levantamentos da severidade da mancha-marrom em palma forrageira é recomendada a amostragem de 16 plantas com 2 cladódios/planta para cada 0,3 ha de área cultivada (Tabela 1). Caso não existam limitações para execução dos levantamentos, pode ser adotado um erro de 10%, considerado ideal em levantamentos de campo (Southwood 1978), situação em que o número de amostras para quantificação da doença se elevaria para 63 plantas com 2 cladódios/planta para cada 0,3 ha de área cultivada (Tabela 1). Se houver necessidade de maior precisão nos levantamentos, um erro de 5% pode ser utilizado, exigindo a amostragem de 253 plantas com 2 cladódios/planta para cada 0,3 ha de área cultivada (Tabela 1). A opção pela amostragem de menor número de cladódios por planta, em detrimento da redução do número de plantas, justifica-se pela consideração de que a estimativa de doenças foliares é mais eficiente com o aumento do número de unidades amostradas na parcela (plantas), embora seja mais econômico o aumento do número de subunidades amostrais (folhas) (Duthie et al. 1991).

Quando são usados diferentes métodos para estimativa do tamanho de amostra, os dados dos locais analisados precisam ser representativos do que poderia ocorrer em outros campos, sendo a validade desses pressupostos variável entre patossistemas (Campbell e Madden 1990). Portanto, os tamanhos das amostras originados desse estudo servem como referência para futuros levantamentos da severidade da mancha-marrom da palma forrageira miúda, uma vez que os dados foram provenientes de áreas sob diferentes condições e estimados considerando necessidades crescentes de precisão.

Referências

- Barbera G. (2001) História e importância econômica e agroecológica. In: Barbera G, Inglese P, Pimienta-Barrios E. (eds) Agroecologia, Cultivo e Usos da Palma Forrageira. Brasília, Brazil, FAO/SEBRAE. pp 1-11.
- Barbosa RS, Calvalcanti VAL, Lopes EB, Araújo E. (2012) Doenças da palma forrageira. In: Lopes EB. (ed) Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de Utilização no Semiárido Nordeste. João Pessoa, Brazil, EMEPA/FAEPA. pp 81-98.
- Burdon JJ. (1987) Diseases and Plant Population Biology. Cambridge, UK, Cambridge University Press.

- Campbell CL, Madden LV. (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, USA, John Wiley & Sons.
- Duthie JA, Campbell CL, Nelson LA. (1991) Efficiency of multistage sampling for estimating of intensity of leaf spot diseases of alfalfa in field experiments. *Phytopathology* 81:959-964.
- Farias I, Santos D C, Dubeux Júnior Jcb. (2005) Estabelecimento e manejo da palma forrageira. In: Menezes RSC, Simões DA, Sampaio EV. (eds) *A Palma no Nordeste do Brasil: Conhecimento Atual e Novas Perspectivas de Uso*. Recife, Brazil, Editora Universitária da UFPE. pp 81-103.
- Flores-Flores R, Velázquez-Del Valle MG, León-Rodríguez L, Flores-Moctezuma HE, Hernández-Lauzuardo AN. (2013) Identification of fungal species associated with cladode spot of prickly pear and their sensitivity to chitosan. *J Phytopathol* 161:544-552.
- Gaunt RE, Cole MJ. (1992) Spatial analysis of wheat stripe rust epidemics. *Crop Prot* 11:131-137.
- Holderness M. (2002) Surveys and sampling. In: Waller JM, Lenné J, Waller SJ (eds). *Plant Pathologist's Pocketbook*. 3rd ed. Wallingford, UK, CAB International, pp 545-640.
- Jong PD. (1995) Sampling for detection: leek rust as an example. *International J Pest Manage* 41:31-35.
- Kranz J. (1988). Measuring plant disease. In: Kranz J, Rotem J (eds) *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*. Heidelberg, Germany, Springer-Verlag. pp 35-50.
- Lima GSA, Assunção IP, Martins RB, Santos HV, Michereff SJ. (2011) Development and validation of a standard area diagram set for assessment of *Alternaria* spot on the cladodes of the prickly pear cactus. *J Plant Pathol* 93:691-695.
- Lopes EB, Batista JL, Brito CH, Santos DC. (2012a) Pragas da palma forrageira. In: Lopes EB. (ed) *Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de Utilização no Semiárido Nordeste*. João Pessoa, Brazil, EMEPA/FAEPA. pp 61-80.
- Lopes EB, Santos DCE, Vasconcelos MF. (2012b) Cultivo da palma forrageira. In: Lopes EB. (ed) *Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de Utilização no Semiárido Nordeste*. João Pessoa, Brazil, EMEPA/FAEPA. pp 21-60.
- Madden LV, Hughes G, van den Bosch F. (2007) *The Study of Plant Disease Epidemics*. St. Paul, USA, APS Press.
- McCartney HA, Fitt BDL, West JS. (2006) Dispersal of foliar plant pathogens: mechanisms, gradients and spatial patterns. In: Cooke BM, Gareth Jones D, Kaye B. (eds) *The*

- Epidemiology of Plant Diseases. 2nd ed. Dordrecht, The Netherlands, Springer, pp 159-192.
- Michereff SJ, Noronha MA, Maffia LA. (2008) Sample size for assessment of yam leaf blight severity. *Summa Phytopathol* 34:189-191.
- Michereff SJ, Pedrosa RA, Noronha MA, Martins RB, Silva FV. (1998) Escala diagramática e tamanho de amostras para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca (*Cercosporidium henningsii*). *Agrotrópica* 10:143-148.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2014) Agrofit - Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Internet Resource: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons (verified Apr 10, 2014).
- Oliveira FT, Souto JS, Silva RP, Andrade Filho FC, Pereira Júnior EB. (2010) Palma forrageira: adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. *Ver Verde* 5:27-37.
- Perry JN. (1994) Sampling and applied statistics for pests and diseases. *Asp Appl Biol* 37:1-14.
- Rocha Júnior OM, Câmara MPS, Michereff SM, Oliveira MJ, Mora-Aguilera G, García N-R. (2010) Spatial characterization of banana Yellow Sigatoka and its implications for sampling *Agrociencia* 44: 351-361. 2010
- Rossi V, Battilani P. (1989) Assessment of intensity of *Cercospora* disease on sugarbeet. II. *J Phytopathol* 124:67-70.
- Rotem J. (1994) The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. St. Paul, USA, APS Press.
- Santos DC, Farias I, Lira MA, Santos MVF, Arruda GP, Coelho RSB, Dias FM, Melo JN. (2006) Manejo e Utilização da Palma Forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. Recife, Brazil, IPA.
- Southwood TRE. (1978) Ecological Methods. 2nd ed. London, UK, Chapman & Hall.
- Souza AE.F, Nascimento LC, Araújo E, Lopes EB, Souto FM. (2010) Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido paraibano. *Biotemas* 23:11-20.

Tabela 1 Número de plantas de palma forrageira miúda a serem amostradas em 0,3 ha de superfície para quantificação da severidade da mancha-marrom dos cladódios, baseado em amostragens-piloto realizadas em 18 áreas de plantio no estado de Pernambuco e três quantidades de cladódios amostrados por planta, com a confiabilidade definida pelo nível de erro aceitável

Área	Localização (cidade)	Número de cladódios/planta	Severidade (%) ^a	LIP ^b	Tamanho da amostra ^c Erro/Número de plantas		
					5%	10%	20%
A	Bom Conselho	2	1,5 ± 1,2	0.9**	213	53	12
		4	1,3 ± 0,4	0.5*	95	24	6
		6	1,4 ± 0,4	0.4*	82	20	5
B	Bom Conselho	2	2,2 ± 0,7	0.7**	58	14	4
		4	2,0 ± 0,6	0.7**	60	15	4
		6	1,9 ± 0,5	0.6*	55	14	3
C	Caruaru	2	7,9 ± 9,3	1.0**	60	15	4
		4	7,7 ± 8,3	1.0**	56	14	3
		6	7,5 ± 7,8	1.0**	55	14	3
D	Caruaru	2	0,6 ± 0,4	0.4*	444	111	28
		4	0,8 ± 0,7	0.8**	438	109	27
		6	1,0 ± 1,0	1.0**	400	100	25
E	Caruaru	2	1,1 ± 1,0	1.0**	364	91	23
		4	1,0 ± 0,9	0.9**	360	90	23
		6	1,4 ± 1,4	1.0**	286	71	18
F	Jucati	2	1,1 ± 1,1	1.0**	364	91	23
		4	1,4 ± 1,4	1.0**	286	71	18
		6	1,6 ± 1,6	1.0**	250	63	16
G	São Bento do Una	2	6,7 ± 22,5	1.4***	200	50	13
		4	6,3 ± 17,2	1.4***	173	43	11
		6	6,5 ± 16,9	1.4***	160	40	10
H	São João	2	8,7 ± 21,0	1.2**	111	28	7
		4	8,2 ± 16,7	1.1**	99	25	6
		6	8,0 ± 15,4	1.1**	96	24	6
I	São João	2	8,0 ± 10,9	1.0**	68	17	4
		4	8,1 ± 10,0	1.0**	61	15	4
		6	8,0 ± 9,7	1.0**	61	15	4
J	São João	2	7,3 ± 16,5	1.2**	124	31	8
		4	7,0 ± 13,2	1.1**	108	27	7
		6	6,7 ± 10,6	1.1**	94	24	6
K	São João	2	2,6 ± 3,6	1.1**	213	53	13

		4	2,2 ± 2,9	1.1**	240	60	15
		6	2,0 ± 2,1	1.0**	210	53	13
L	São João	2	0,7 ± 0,8	1.2**	653	163	41
		4	0,7 ± 0,5	0.6*	408	102	26
		6	0,6 ± 0,3	0.2*	333	83	21
M	São João	2	1,2 ± 0,9	0.8**	250	63	16
		4	0,9 ± 0,5	0.5*	247	62	15
		6	1,5 ± 1,3	0.9**	231	58	14
N	São João	2	0,5 ± 0,3	0.2*	480	120	30
		4	0,5 ± 0,2	0.3*	320	80	20
		6	0,4 ± 0,1	0.2*	250	63	16
O	São João	2	1,5 ± 0,6	0.6*	107	27	7
		4	1,4 ± 0,5	0.5*	102	26	6
		6	1,4 ± 0,4	0.5*	82	20	5
P	São João	2	7,6 ± 26,4	1.2**	183	46	11
		4	8,1 ± 20,8	1.2**	127	32	8
		6	8,0 ± 16,3	1.1**	102	25	6
Q	São João	2	4,8 ± 16,5	1.5***	286	72	18
		4	4,6 ± 14,2	1.5***	268	67	17
		6	4,8 ± 12,9	1.4***	224	56	14
R	São João	2	2,6 ± 6,3	1.5***	373	93	23
		4	2,9 ± 6,2	1.4***	295	74	18
		6	2,4 ± 4,3	1.4***	299	75	19
Média		2	3,7 ± 7,8	-	253 a ^d	63 a	16 a
		4	3,6 ± 6,4	-	208 a	52 a	13 a
		6	3,5 ± 5,5	-	182 a	45 a	11 a

^aEstimada com escala diagramática (Lima et al. 2011). Média ± variância de 50 plantas avaliadas por área

^bÍndice de agregação de Lloyd. Valores seguidos por um, dois ou três asteriscos são significativamente menores, iguais ou maiores que 1,0 (P = 0,05) e indicam que o arranjo espacial da doença segue o padrão uniforme, aleatório ou agregado, respectivamente (Campbell e Madden 1990)

^cCalculado considerando um arranjo indeterminado de plantas doentes, baseado na severidade média, variância e nível de erro aceitável (Campbell e Madden 1990)

^dMédias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis (P=0,05).

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. A mancha-marrom está amplamente disseminada nas áreas de plantio de palma forrageira miúda da mesorregião do Agreste do estado de Pernambuco;
2. O arranjo espacial das plantas de palma forrageira miúda com sintomas de mancha-marrom é predominantemente aleatório;
3. Os tamanhos ideais das amostras para quantificação da severidade da mancha-marrom da palma forrageira servem como referência para futuros levantamentos da severidade da doença, uma vez que os dados foram provenientes de áreas sob diferentes condições e estimados considerando necessidades crescentes de precisão.