

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETERMINAÇÃO DO EFEITO CURATIVO DE  
INFECÇÕES DE *Guignardia citricarpa* EM FRUTOS  
CÍTRICOS MEDIANTE O EMPREGO DE FUNGICIDAS  
SISTÊMICOS E MESOSTÊMICOS**

**Eliana Mayra Torrecillas Scaloppi**  
Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Março de 2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETERMINAÇÃO DO EFEITO CURATIVO DE  
INFECÇÕES DE *Guignardia citricarpa* EM FRUTOS  
CÍTRICOS MEDIANTE O EMPREGO DE FUNGICIDAS  
SISTÊMICOS E MESOSTÊMICOS**

**ELIANA MAYRA TORRECILLAS SCALOPPI**

**ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO DE GOES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal – UNESP, para a obtenção do Título de Mestre em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Março de 2006

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**ELIANA MAYRA TORRECILLAS SCALOPPI** – nascida a 08 de Março de 1979, em Ribeirão Preto, SP, formou-se Engenheira Agrônoma pela Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, SP, em 2002. Durante a graduação desenvolveu a monografia intitulada “Enraizamento de estacas de jambeiro rosa [*Syzygium jambos* (L.) Alston] e vermelho [*Syzygium malaccence* (L.) Merr & Perry]”, sob orientação do professor Dr. Antonio Baldo Geraldo Martins. É ingressante, como aluna regular, no curso de mestrado, Área de Concentração em Produção Vegetal, no Departamento de Fitossanidade da UNESP, Campus de Jaboticabal, como bolsista FAPESP. Auxilia na normatização dos trabalhos da Revista Brasileira de Fruticultura desde 2004. Publicou diversos trabalhos acadêmicos e demais atividades relacionadas à área de fruticultura.

**"O Senhor é o meu Senhor, ele é minha força, ele torna os meus pés como os das corças e faz-me andar nos meus lugares altos" Hab 3,19.**

Aos meus pais,

***Erivaldo e Carmem***

Que através da compreensão, dedicação, carinho, confiança e por seus exemplos edificantes, me ensinaram que aprender nunca é demais e por estar sempre perto em todos os momentos de minha vida, sem medir esforços.

**DEDICO**

Aos meus irmãos,

***Juninho e Eduardo***

Pela amizade, carinho, amor e apoio que me proporcionaram em todos os momentos.

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a **Deus**, razão maior da minha existência, pelo amor e cuidado a cada dia, dando-me forças, coragem e serenidade para que mais uma etapa se cumprisse em minha vida.

Ao meu namorado **Diogo**, “meu melhor amigo”, pelo amor, cuidado, carinho, dedicação e atenção. Por estar sempre presente e me incentivando em todos os momentos!!!!

E a algumas pessoas especiais que através de seu amor à vida e humildade ensinam todos os dias que “O que vale a pena na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”. Por isso gostaria de agradecer especialmente:

As minhas avós, **Enéa** (*in memoriam*) e **Maria**, pelo exemplo de vida, força, esperança, companheirismo, fé, coragem e por todas as orações.

Ao **Prof. Dr. Antonio de Goes** pela orientação sempre atenciosa e precisa em todos os momentos e principalmente pelos ensinamentos através dos fraternos laços de companheirismo, amizade, dedicação, compreensão, apoio, paciência e amor à profissão.

**MUITO OBRIGADA!!**

## **AGRADECIMENTOS**

- ✓ Aos Profs. do Departamento de Defesa Fitossanitária: Dra. Margarete Camargo, Dra. Rita de Cássia Panizzi e Dr. Modesto Barreto, pelo estímulo, apoio e amizade sempre presentes;
- ✓ A todos os professores da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, grandes mestres que “semearam” seus conhecimentos para minha formação profissional;
- ✓ À banca examinadora pelas correções e sugestões que foram de grande valia para este trabalho.
- ✓ À amiga Márcia de Holanda Nozaki, pela elaboração do Abstract;
- ✓ Ao proprietário da Fazenda Santa Helena, Rincão, SP, pelo elevado espírito de colaboração científica, ao permitir a utilização de sua propriedade nos experimentos;
- ✓ Aos funcionários da Fazenda Santa Helena, pela imprescindível colaboração nos trabalhos de campo;
- ✓ A todas as pessoas que ajudaram durante a montagem e condução do experimento, sem eles não teria sido possível a realização do mesmo;
- ✓ Aos amigos do Departamento: Márcia, Andressa (Carangueja), Cristiane, Thaís, Fernanda (Caramuja), Vanessa (Rapidex), Gabriela, André, Bruno (Tchalau), Davi (Jiló), Danilo (Tosco), Renato e José Antônio, pelo prazeroso convívio e pelos momentos de apoio e alegria;

✓ As minhas amigas de República: Natália, Lonjoré, Érika e Simone, pelo amor, carinho, compreensão e amizade. Pela “família” que formamos e que ficará para sempre;

✓ À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, sem o qual seria impossível esta colaboração científica;

✓ Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, pela saudável convivência e prestimosas colaborações. Em especial a laboratorista Lúcia Rita Ramos por sua dedicação e atenção;

✓ Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, pela atenção a mim dispensada;

✓ A todos que de uma maneira ou outra colaboraram para que a realização deste trabalho se tornasse possível.

**MUITO OBRIGADA!!**



## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1. Histórico da doença.....	6
2.2. Agente causal.....	8
2.2.1. A espécie <i>Guignardia citricarpa</i> kiely [anamorfo: <i>Phyllosticta citricarpa</i> (Mc Alpine) Van de Aa].....	8
2.2.2. Etiologia da doença e sintomatologia.....	9
2.2.3. Epidemiologia.....	13
2.2.4. Controle.....	17
2.3. Curva de progresso da doença.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1. Implantação do experimento.....	26
3.2. Análise estatística.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1. Resultados da primeira fase.....	32
4.1.1. Incidência.....	32
4.1.2. Severidade.....	41
4.2. Resultados da segunda fase.....	45
4.2.1. Incidência.....	45
4.2.2. Severidade.....	51
4.3. Relação entre Índice de doença e precipitação (mm).....	62
4.4. Curva de crescimento dos frutos.....	64
4.5. Ajuste ao modelo matemático.....	65
5. CONCLUSÕES.....	68
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

7. APÊNDICE..... 79

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
1. Detalhe de um fruto de laranjeira 'Valência' ensacado, empregando-se saco de papel cristal, na fase de $\frac{3}{4}$ de pétalas caídas e marcado com fita de coloração correspondente à 5ª semana. Rincão/SP, 2006.....	28
2. Escala diagramática para avaliação de severidade (%) de mancha preta dos citros ( <i>Guignardia citricarpa</i> ). A parte superior corresponde ao sintoma tipo mancha preta e a parte inferior aos sintomas do tipo falsa melanose. (SPÓSITO, 2003).....	30
3. Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	34
4. Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	36
5. Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na quarta avaliação (30/08/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	38

6. Comparação entre as médias das avaliações (entre a 1ª e 8ª semanas), quanto à Incidência da mancha preta (em porcentagem), em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , em condições naturais de infecção. Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	40
7. Fruto de laranja 'Valência', com 57 mm de diâmetro, ainda verde, apresentando sintomas do tipo falsa melanose, no tratamento testemunha. Rincão/SP, 2006.....	41
8. Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	43
9. Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	45
10. Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	48
11. Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> , sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	49

12. Comparação entre as médias das avaliações (entre a 9<sup>a</sup> e 16<sup>a</sup> semanas), quanto à Incidência da mancha preta (em porcentagem), em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, em condições naturais de infecção. Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006..... 51
13. Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006..... 53
14. Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006..... 55
15. Valores do Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' e precipitação pluviométrica (mm), correspondente entre a 1<sup>a</sup> (23/09/2003) e a 16<sup>a</sup> (06/01/2004) semana de exposição dos frutos às infecções naturais de *Guignardia citricarpa*. Jaboticabal/SP. 2006..... 63
16. Curva de crescimento de frutos de laranja 'Valência', entre a terceira semana de exposição dos frutos às infecções naturais de *Guignardia citricarpa*, após a queda de  $\frac{3}{4}$  de pétalas (06/10/2003) até a colheita (04/09/2004). Jaboticabal/SP. 2006..... 64

**LISTA DE TABELAS**

	Página
1. Esquema de tratamento correspondente à parcela subdividida, sendo apresentada na forma de “janelas” onde o mesmo procedimento foi feito para pyraclostrobin e testemunha.....	27
2. Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin na Incidência da doença em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento <i>versus</i> semana e os respectivos valores de D.M.S. Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	33
3. Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin no Índice de doença (ID) em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento <i>versus</i> semana e os respectivos valores de D.M.S. Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	42
4. Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin na Incidência da doença em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo <i>Guignardia citricarpa</i> e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento <i>versus</i> semana e os respectivos valores de D.M.S. Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.....	46

5. Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin no Índice de doença (ID) em frutos de laranjeira 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa* e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento *versus* semana e os respectivos valores de D.M.S. Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006..... 52
6. Valores do desvio padrão de  $x_0$  e  $r$  usados na escolha do modelo matemático, determinados através dos modelos Monomolecular, Logístico e de Gompertz, em frutos de laranjeira 'Valência', tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin e expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção nas duas fases do experimento. Jaboticabal/SP, 2006..... 67

**DETERMINAÇÃO DO EFEITO CURATIVO DE INFECÇÕES DE *Guignardia citricarpa* EM FRUTOS CÍTRICOS MEDIANTE O EMPREGO DE FUNGICIDAS SISTÊMICOS E MESOSTÊMICOS**

**RESUMO** - Embora o Brasil seja o maior produtor de laranja a nível mundial, a produção citrícola resente-se de vários problemas de natureza fitossanitária, entre estes a mancha preta dos frutos cítricos, causada por *Guignardia citricarpa*. Esse fungo além de depreciar comercialmente os frutos, pode levar à queda precoce de mais de 80% da produção. O controle baseia-se no uso de fungicidas, sendo importante determinar o período curativo em que estes produtos estão sendo mais eficientes. Neste trabalho foi determinado o período curativo do pyraclostrobim e do carbendazim, em duas etapas fisiológicas do desenvolvimento dos frutos, sendo a primeira na fase de  $\frac{3}{4}$  de queda de pétalas até a 8<sup>a</sup> semana, e a segunda repetindo-se o tratamento, porém a partir da 9<sup>a</sup> semana após a queda das pétalas. Para tal, procedeu-se o tratamento dos frutos com os fungicidas, os quais foram aplicados sob a forma de imersão, durante 1 minuto, sendo posteriormente ensacados com sacos de papel cristal, e mantidos assim até a 42<sup>a</sup> semana. Na primeira etapa, os níveis de incidência e severidade nos frutos tratados com fungicidas foram baixos até a 4<sup>a</sup> semana de exposição às infecções naturais, não diferindo estatisticamente entre si. Na segunda etapa, constatou-se maior eficiência do fungicida carbendazim, a qual se estendeu até a 6<sup>a</sup> semana de exposição. O pyraclostrobin, embora tenha se mostrado eficiente no controle da doença, manteve sua efetividade de forma mais consistente nas duas primeiras semanas de exposição. Admite-se que os fungicidas testados apresentaram excelente efeito curativo, resultados esses coerentes às respostas que têm sido observadas sob condições naturais de infecção.

**Palavras-chave:** *Citrus sinensis*, controle químico, *Phyllosticta citricarpa*.



**DETERMINATION OF THE CURATIVE EFFECT OF *Guignardia citricarpa*  
INFECTIONS IN CITRIC FRUITS USING SISTEMIC AND MESOSYSTEMIC  
FUNGICIDES**

**SUMMARY** - Although Brazil is the largest world-wide orange producer, its production presents several disease problems, among these is the Citrus Black Spot (CBS) caused by *Guignardia citricarpa*. This fungus besides depreciating the fruits commercially can cause premature fall of more than 80% of the production. The control is based on the use of fungicides, being important to determine the healing period, in which these products are more efficient. In the present work the healing period of pyraclostrobin and carbendazim was determined on two physiological stages of the fruits development, being the first in the  $\frac{3}{4}$  petals fall stage until the 8<sup>th</sup> week and the second repeating the treatment, however starting from the 9<sup>th</sup> week after the petals fall. The fruits were treated with the fungicides, which were applied on immersion form, during 1 minute, being after sacked with crystal paper bags and maintained like this until the 42<sup>nd</sup> weekend. In the first stage, the incidence levels and severity on the treated fruits were low until the 4<sup>th</sup> week of exposure to natural infections, presenting no statistic differences between them. In the second stage, the efficiency of carbendazim was larger, which extended for 6 weeks of exposure. The pyraclostrobin, although has shown efficient in the disease control, maintained its effectiveness in a consistent form on the first two weeks. It is admitted that the tested fungicides presented excellent healing effect, corresponding to the results observed under natural conditions of infection.

**Keywords:** *Citrus sinensis*, chemical control, *Phyllosticta citricarpa*.

## 1. INTRODUÇÃO

De todas as árvores frutíferas, uma das mais conhecidas, cultivadas e estudadas em todo o mundo é a laranjeira. Como todo o gênero *Citrus*, a laranjeira é nativa da Ásia Meridional, mas a região de origem é motivo de controvérsias. Alguns historiadores afirmam que os cítricos teriam surgido no leste Asiático, nas regiões que incluem hoje Índia, China, Butão, Birmânia e Malásia. Com a colonização portuguesa, foram plantadas no Brasil as primeiras plantas cítricas, e é a partir daí, nos anos 1530/40, que os estudiosos costumam situar o princípio da citricultura no Brasil. Os documentos e livros que retratam o Brasil do início da colonização citam a excelente adaptação climática das árvores cítricas na costa brasileira (ABECITRUS, 2005).

Atualmente, os pomares mais produtivos, resultantes de uma citricultura estruturada, estão nas regiões de clima tropical e sub-tropical, destacando-se o Brasil, Estados Unidos, México, China e África do Sul.

Hoje a citricultura brasileira pode ser caracterizada como uma das mais típicas atividades agro-indústrias, com mais de 1 milhão de hectares de plantas. A maior parte da produção brasileira de laranjas destina-se à indústria do suco concentrado, pectina e óleo, concentrada no estado de São Paulo, que representa cerca de 85% da produção brasileira de citros e 98% do suco que o Brasil produz. O Sistema Agroindustrial Cítrico do estado de São Paulo representou em 2003 1,87% da pauta da exportação brasileira e 4,47% das exportações de produtos agrícolas, e movimentando em 2004 US\$ 3,23 bilhões (FUNDECITRUS, 2004).

O Brasil assumiu nas últimas décadas a liderança mundial de produção de frutos cítricos, seguido pelos Estados Unidos, não havendo a curto e médio prazo perspectivas de mudança em tal panorama, uma vez que não há um grande aumento na taxa de expansão de novos mercados, do mesmo modo que o

incremento de novas áreas de plantio em outros países ainda não é comparável às atuais no Brasil.

Nos últimos anos, a produção brasileira tem estado ao redor de 380 milhões de caixas, sendo 80% dessa produção destinada à industrialização, exclusivamente à produção de suco concentrado e congelado, exportado para países como Rússia, Bélgica, Países Baixos, Estados Unidos e Japão, e os 20% restantes destinadas ao consumo *in natura*, tanto para consumo interno como para exportação.

A principal comercialização no mercado internacional é a do suco de laranja concentrado congelado, que representa 72% do valor dessas exportações. O suco concentrado congelado ocupou em 2003 a segunda posição entre os produtos comercializados pelo Brasil no mercado internacional (ABECITRUS, 2005).

Não obstante a importância econômica e social que representa a citricultura para o País, notadamente para o estado de São Paulo, as plantas cítricas podem ser afetadas por vários agentes fitopatogênicos que, agindo isolado ou em conjunto, podem em determinadas circunstâncias tornarem-se limitantes à citricultura. Dentre tais agentes insere o fungo *Guignardia citricarpa* Kiely, cuja fase anamórfica corresponde a *Phyllosticta citricarpa* McAlp. Van Der Aa, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. Além de depreciar comercialmente os frutos quando não adequadamente protegidos, pode levar à queda precoce de mais de 80% dos frutos. Além disso, essa doença dificulta a comercialização dos frutos *in natura*, especialmente aos países importadores de fruta fresca, onde a doença encontra-se indene (AGUILAR-VILDOSO et al., 2002).

Atualmente o patógeno encontra-se relatado na Oceania, Ásia, África e América do Sul, tendo uma maior importância em países como África do Sul, Argentina e Brasil.

O controle dessa doença baseia-se no uso de fungicidas cúpricos e benzimidazóis, e mais recentemente tem sido incluído o do grupo das estrobilurinas. Tem se observado que mesmo sob boas condições de pulverização, condições climáticas e cuidados na operacionalização das aplicações, nem sempre os níveis de controle tem alcançado os índices

desejáveis. Em vista disso, com o presente trabalho pretende-se determinar, sob condições naturais de infecção de *G. citricarpa*, o efeito curativo dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin no controle da doença.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Histórico da doença

O fungo causador da Mancha Preta em Frutos Cítricos (MPC) foi primeiramente descrito por McAlpine na sua forma assexuada ou anamorfa e recebeu a designação de *Phoma citricarpa* McAlpine, em 1899, permanecendo com esse nome até 1953. Posteriormente surgiram duas novas propostas para a recombinação do binômio, *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa. e *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Petrak. Segundo ROBBS et al. (1980), ambas designações são adotadas indistintamente pelos fitopatologistas.

O primeiro relato da mancha preta dos frutos cítricos deu-se na Austrália, em 1895, afetando severamente frutos de laranja 'Valência', nas fases de pré e pós-colheita (SUTTON & WATERSTON, 1966). Posteriormente, em 1925, foi encontrada na África do Sul, na região litorânea e úmida da província de Natal. Vinte anos depois, o fungo já havia se disseminado para as principais regiões produtoras da província, tornando impróprios para a exportação mais de 90% dos frutos produzidos nos pomares que não realizaram o controle da doença (KOTZÉ, 1963).

Segundo ROBBS (1990), todas as plantas cítricas são afetadas, registrando-se os maiores danos no pomelo, limões, laranja 'Valência' e outras variedades, principalmente as de maturação tardia. Além de depreciar frutos para comercialização *in natura*, a enfermidade pode ocasionar uma queda prematura (KOTZÉ, 1981). Atualmente, segundo TIMMER et al. (2000), a enfermidade possui ampla faixa de distribuição geográfica, sendo registrada em países da África (Swazilândia, Quênia, Nigéria, Rodésia, Moçambique, Zimbábue, África do Sul), Ásia (China, Coréia, Hong-Kong, Filipinas, Taiwan, Japão), Oceania (Austrália) e

América do Sul (Argentina, Peru, Venezuela e Brasil). Dentre estes países, as maiores perdas têm sido registradas no Brasil, África do Sul e Argentina.

No Brasil, a primeira constatação de frutos com sintomas de mancha preta ocorreu em meados de agosto de 1937, a partir do exame de diversos lotes de laranjas 'Seleta' e 'Pêra', coletados em uma feira livre na cidade de Piracicaba, estado de São Paulo (AVERNA-SACCÁ, 1940). No início da década de 80, sua ocorrência foi relatada no estado do Rio de Janeiro, em caráter epidêmico, atingindo vários municípios produtores da Baixada Fluminense, afetando diferentes espécies cítricas (ROBBS et al., 1980). Nesse período os danos já foram notáveis, especialmente em mexeriqueira 'do Rio', altamente suscetível. Este foi o principal motivo pelo qual essa variedade foi substituída pela tangerina 'Dancy' (*C. reticulata*) resistente ao patógeno (GOES, 1998).

Em 1986 a MPC foi constatada no Rio Grande do Sul provocando prejuízos em citros localizados no Vale do Caí, principal região produtora sul-rio grandense (FEICHTENBERGER, 1996). Em 1992, a doença foi novamente relatada em pomares do estado de São Paulo, em uma importante região citrícola, compreendida pelos municípios de Conchal e Mogi-Guaçu (GOES & FEICHTENBERGER, 1993).

A partir de 1992, no estado de São Paulo, a evolução e distribuição geográfica da doença deram-se de forma muito rápida, favorecida pela existência de condições de ambiente que se mostraram altamente favoráveis à multiplicação do fungo, ocorrida em 1994 (FEICHTENBERGER, 1996). Segundo esse pesquisador, naquele ano foi registrada ocorrência de uma geada no mês de julho, acompanhada de estiagem que se estendeu até o mês de outubro. Essas condições foram responsáveis por um estresse hídrico que redundou em pesada desfolha das plantas que, certamente, contribuiu para a formação de intensa produção de ascósporos do fungo que, posteriormente, disseminou-se com grande intensidade para toda a região e municípios limítrofes. Dessa forma, verificou-se que, já no ano seguinte, a doença encontrava-se presente nos municípios de Mogi-Mirim, Engenheiro Coelho, Artur Nogueira, Limeira e em Cordeirópolis, ampliando dessa forma a sua distribuição geográfica. Nos anos

subseqüentes, dada às condições favoráveis, a doença passou a ocupar, de forma gradativa, pomares em áreas anteriormente indenés.

Segundo dados do FUNDECITRUS (1999), a mancha preta dos citros encontrava-se presente em 44 municípios do estado de São Paulo. É provável, todavia, que a sua abrangência geográfica deve ser ainda mais expressiva, considerando-se que a mesma possa estar presente em algumas áreas, sem ter sido diagnosticada.

Dada à facilidade de disseminação, tanto através do vento, como em material de propagação vegetativa, a MPC encontra-se presente de forma endêmica em Minas Gerais (BALDASSARI et al., 2004), Espírito Santo (COSTA et al., 2003), Santa Catarina (ANDRADE et al., 2004), Amazonas (GASPAROTTO et al., 2004) e Paraná (CAIXETA et al., 2005). Em todos os locais onde é relatada, adverte-se quanto aos severos prejuízos proporcionados, uma vez que induz grande percentual de queda prematura de frutos e causa a sua depreciação comercial. Como se não bastasse, ainda restringe a comercialização de material de propagação.

## **2.2. Agente causal**

### **2.2.1. A espécie *Guignardia citricarpa* Kiely [anamorfo: *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa.]**

Segundo SIVANESAM (1984), *Guignardia citricarpa* é um ascomycota, Loculoascomiceto, da ordem Dothideales e família Dothideaceae. Este fungo possui estroma plectenquimatoso, pseudotécio globoso e subgloboso, medindo 125 a 360 µm de diâmetro, contendo um poro de 14 a 16 µm, paredes espessas com 20 a 22 µm. O asco apresenta a forma de clava, arredondado na extremidade superior, bitunicado, contendo grânulos e um grande vacúolo central. Os ascósporos apresentam um quepe gelatinoso nas extremidades, medindo 8-17 x 3,3-8 µm. Segundo SIVANESAM (1984), pseudoparáfises são encontradas em pseudotécios maduros.

De acordo com JOHNSTON & FULLERTON (1988), as formas anamorfa e teleomorfa geralmente são encontradas associadas. As estruturas de frutificação da forma assexuada são representadas pelos picnídios, os quais são pequenos, globosos, pretos e semi-eruptivos. Em corte vertical eles são globosos, com 70 a 330  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com parede marrom escura pseudoparenquimatosa.

A colônia de *G. citricarpa* cresce lentamente em meio de cultura, atingindo diâmetro de 7 cm em 20 dias, em vários meios de cultura, a 20°C, e o micélio fortemente pigmentado é submerso, formando uma crosta plectenquimatosa. As células conidiogênicas são cilíndricas, com cerca de 4-8 x 2-3,5  $\mu\text{m}$ . O conídio é unicelular, ovóide, elíptico ou subgloboso, algumas vezes clavado quando jovem, com uma base truncada, contendo gútulas, com um apêndice apical de 5 a 15  $\mu\text{m}$  de comprimento, que segundo PUNITHALINGAM (1982) é característico de espécie de *Phyllosticta* e facilmente perdido. O mesmo autor descreve uma membrana gelatinosa recobrimdo os conídios, que serve de proteção contra o ressecamento durante a dispersão.

### **2.2.2. Etiologia da doença e sintomatologia**

A mancha preta dos frutos cítricos é causada pelo fungo *G. citricarpa* Kiely, cuja fase perfeita foi descrita por KIELY (1948), na Austrália, na região de New South Wales. Este fungo é invasor assintomático de folhas de citros (SUTTON & WATERSTON, 1966).

Com exceção da lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Osbeck) e da laranja 'Azeda' (*Citrus aurantium* L.) e seus híbridos, praticamente todas as variedades de laranjas doces, principalmente as de maturação média e tardia, como é o caso da 'Pêra-Rio', 'Valência' e 'Natal', são suscetíveis à doença. Além dessas variedades, essa doença é também de importância relevante em limões (*Citrus limon*), pomelos (*Citrus paradisi*), algumas variedades de tangerinas como a 'Ponkan', 'Cravo' e 'do Rio', em limeiras, como a lima 'da Pérsia' e 'tangores', especialmente o 'Murcott'. O que se observa no campo são inexpressíveis diferenças nos níveis de incidência e severidade, muitas vezes devido a particularidades climáticas



pontuais, condições de manejo dos pomares e estádios fenológicos dos frutos, interferindo positiva ou negativamente no incremento da quantidade de doença.

Existem descritos na literatura duas formas de *G. citricarpa* morfológicamente idênticas: uma que provoca a mancha preta dos frutos cítricos e pode produzir infecções assintomáticas em folhas e frutos, e outra que não provoca sintomas. Aparentemente, a forma que provoca a mancha preta dos frutos cítricos só infecta tecidos de plantas cítricas, enquanto a forma assintomática pode ocorrer em outros hospedeiros (McONIE, 1964<sub>a</sub>).

As estruturas de frutificação da forma assexuada são representadas pelos picnídios que são formados em lesões de frutos e pedúnculo (BEETON et al., 1996), em grande número de folhas mortas e, ocasionalmente, no pecíolo das folhas. Entretanto, os sintomas em laranjeiras doces são visíveis e problemáticos apenas em frutos. As lesões ficam limitadas ao flavedo (CARDOSO FILHO, 2003), depreciando os frutos para a comercialização no mercado interno de fruta fresca e restringindo as exportações para a União Européia, maior importador dos frutos cítricos brasileiros. Uma das medidas sanitárias aplicadas por esses países para evitar sua introdução é a classificação desta doença como quarentenária A1. A tolerância em relação a frutos importados com sintomas da doença é zero. Em anos recentes, mesmo quando a medida de adoção de doença quarentenária A1 ainda não havia sido deliberada, a presença de suposta lesão em frutos provocou o impedimento da continuidade das exportações de frutos cítricos brasileiros a países Europeus.

As lesões observadas em folhas, ramos e espinhos não têm importância do ponto de vista econômico, por serem de frequência relativamente rara, e mesmo em variedades suscetíveis como os limoeiros, não chegam a comprometer a produção (AGUILAR-VILDOSO et al., 2002). Tais sintomas, no entanto, são importantes do ponto de vista epidemiológico, já que contribuem para formação de inóculo que pode incrementar o nível de doença na planta.

As estruturas de frutificação da forma sexuada são representadas pelos pseudotécios, que somente ocorrem em folhas de citros em decomposição (SUTTON & WATERSTON, 1966).

Os sintomas da mancha preta em folhas e no pedúnculo dos frutos caracterizam-se pela presença de lesões necróticas pequenas, com centro acinzentado e bordas bem definidas, de coloração marrom-escura, acompanhada de um pequeno halo amarelo (McONIE, 1967).

Em pomares com histórico da doença, os sintomas são verificados com grande frequência nas fases iniciais de maturação dos frutos, intensificando-se nas etapas subseqüentes. Entretanto, um fato de importância relevante trata-se do aparecimento de sintomas nas fases de pós-colheita. Tem-se verificado que frutos, mesmo após criteriosa seleção e tratamento pós-colheita, têm exibido sintomas nas fases de transporte e durante armazenamento, no local do destino. Dessa forma, dado ao caráter quarentenário da doença, a presença de uma única lesão em um fruto amostrado implica na suspensão do desembarque de todo o carregamento existente no navio. Dessa forma, o conhecimento dos mecanismos envolvidos na expressão do aparecimento desses sintomas e a determinação de alternativas que viabilizem a sua supressão torna-se de importância relevante, podendo significar a possibilidade da continuação de exportação e a redenção do potencial de exportação de frutos pelas empresas brasileiras.

A literatura internacional cita quatro diferentes sintomas associados à mancha preta dos citros: mancha dura, falsa melanose, mancha sardenta e mancha virulenta (TIMMER et al., 2000). No Brasil são também incluídos os sintomas designados mancha trincada e mancha rendilhada (GOES et al., 2000).

As características de tais sintomas são: (i) Mancha dura ou mancha preta - é a lesão mais comum e típica da doença. Geralmente começa a aparecer no período que inicia a mudança da coloração dos frutos, de verde para amarelo. As lesões apresentam o centro necrótico deprimido, marrom-claro, e as bordas salientes, marrom-escuras. Em frutos mais esverdeados, a lesão é circundada por um halo amarelo. Em frutos mais maduros a lesão é circundada por um halo esverdeado. Uma característica típica dessa lesão é a presença de pontos negros em seu interior, que se constituem nos corpos de frutificação do fungo, os picnídios; (ii) Falsa melanose - caracteriza-se por apresentar manchas escuras e pequenas, normalmente sem textura áspera ao tato, de tamanho variado, mas

predominantemente pequenas, com cerca de 2 mm de diâmetro, por vezes circundadas por numerosos pontos escuros, constituindo as lesões satélites. Este sintoma pode ser confundido com os de outra doença fúngica, a melanose (*Diaporthe citri*). Entretanto, nesta última, as lesões são ásperas; (iii) Mancha sardenta - caracteriza-se por apresentar pequenas lesões deprimidas e avermelhadas, onde nos dias subseqüentes da sua formação, são produzidos picnídios na região interna das mesmas. Tal sintoma ocorre no período de maturação dos frutos e em pós-colheita; (iv) Mancha rendilhada - tal sintoma é aparentemente uma variante do sintoma do tipo falsa melanose, resultado do escorrimento dos conídios. Tais sintomas caracterizam-se pela presença de dezenas a centenas de pequenas manchas superficiais, irregularmente distribuídas em uma face do fruto, atingindo grandes áreas, iniciando-se quando estes ainda apresentam-se verdes. Estas lesões não apresentam corpos de frutificação; (v) Mancha trincada - a expressão dos sintomas está associada aos danos causados pelo ácaro da falsa ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora*). As lesões são irregulares, superficiais, de tamanho variado, inicialmente de aspecto oleoso, escuras ou às vezes levemente castanhas, ocorrendo em frutos ainda verdes. Com a maturação dos frutos as lesões apresentam trincas em sua superfície, não apresentando corpos de frutificação, de forma semelhante aos sintomas dos tipos falsa melanose. Este sintoma não é relatado em outro país; (vi) Mancha virulenta - este sintoma caracteriza-se pela coalescência das lesões dos diferentes tipos de sintomas, atingindo, portanto, grandes áreas da superfície dos frutos. Tais lesões são mais comuns nas áreas dos frutos mais expostas ao sol e atingem desde cerca de 5 mm de diâmetro, até cerca de mais de 30 mm de diâmetro.

Nas células danificadas por doenças, no caso específico de infecções por fungos, geralmente ocorre um aumento na produção de etileno que causa amadurecimento dos frutos, com conseqüente mudança na taxa de respiração, nos teores de carboidratos, na coloração e abscisão dos frutos (FELLIPE, 1979). A abscisão pode estar relacionada ao aumento endógeno do teor de etileno e de acordo com FAGAN & GOES (1999) existe uma correlação positiva entre severidade da doença, oriunda especialmente dos sintomas dos tipos mancha

dura e mancha virulenta, e o percentual de queda de frutos. Embora, mesmo com poucas lesões próximas ao pedúnculo pode ocorrer a queda dos frutos, levando-se a suspeitar do efeito de infecções sistêmicas (SMITH, 1996) ou de infecções ocorridas no pedúnculo dos mesmos (KOTZÉ, 1981).

Sob condições favoráveis, a queda precoce dos frutos pode exceder a cerca de 80% e, dada à possibilidade da contaminação microbiológica, estes frutos caídos podem ser rejeitados pela indústria, aumentando significativamente os prejuízos. Do ponto de vista industrial, apesar da doença praticamente não alterar os padrões tecnológicos, os frutos caídos são normalmente recusados para o seu processamento industrial, advindo, portanto, prejuízos diretos.

O período de suscetibilidade dos frutos corresponde desde a fase de queda das pétalas, até pelo menos em 20-24 semanas após (KLOTZ, 1978; BALDASSARI, 2001). Posteriormente, os frutos tornam-se resistentes (KELLERMAN & KOTZÉ, 1977). Um aspecto importante a ser destacado refere-se ao longo período de incubação apresentado pelo fungo. Na presença de umidade, os esporos germinados emitem um “peg” de infecção o qual penetra na cutícula e se expande para dentro do tecido, na forma de uma massa de micélio, permanecendo entre a cutícula e a epiderme. Essa se constitui na chamada infecção quiescente que, posteriormente, dá origem às lesões típicas da doença. Os mecanismos envolvidos no processo de formação destas infecções não são completamente conhecidos. Porém, sabe-se que sintomas em níveis mais severos, normalmente estão associados à elevação de temperatura por ocasião da maturação dos frutos, maior incidência direta dos raios solares nos frutos mais expostos, estresse hídrico e debilidade das plantas (KOTZÉ, 1981).

### **2.2.3. Epidemiologia**

As fases perfeita e imperfeita do fungo produzem, respectivamente, ascósporos e picnidiósporos ou conídios, que são estruturas responsáveis pela disseminação do fungo. Infecções podem se originar tanto de ascósporos como de picnidiósporos, porém, cada um tem seu papel no estabelecimento da doença.

Entretanto, uma vez atingidas proporções epidêmicas, os ascósporos se sobrepõem, em importância, aos picnidiósporos, desde que as plantas não apresentem galhos secos (BALDASSARI, R.B., informação pessoal, fevereiro de 2006).

Nas condições do Brasil, é comum a ocorrência de floradas simultâneas em diferentes variedades de laranjas e limões. Certamente, esse fator deve contribuir de forma decisiva no sentido de que, a doença apresente níveis de severidade mais elevados no Brasil que, em outros países, como por exemplo, na África do Sul, onde os ascósporos constituem-se na principal fonte de inóculo (KOTZÉ, 1981).

Nas folhas caídas ao solo, formam-se os pseudotécios, corpos de frutificação do fungo da fase sexual. Dentro destes, originam-se vários ascos bitunicados, de formato cilíndrico, onde são formados oito ascósporos. Os ascósporos surgem entre 40 a 180 dias após a queda das folhas, sendo posteriormente ejetados, aderindo-se ao tecido vegetal graças à mucilagem existente nas suas extremidades. A alternância entre períodos de molhamento e secamento das folhas, além de temperaturas mais elevadas, são fatores que favorecem a sua produção. A presença de orvalho é suficiente para promover este estímulo (KIELY, 1948). As pancadas de chuvas contínuas têm efeito adverso na disseminação dos esporos, reduzindo a quantidade dos mesmos no ar, em função de seu arraste para o solo (KOTZÉ, 1981). Quando os estímulos são satisfeitos, ocorre a sua germinação, formando sequencialmente o tubo germinativo e o apressório, penetrando posteriormente no tecido, sem a necessidade de aberturas naturais ou ferimentos. Após a penetração na casca dos frutos forma-se uma massa micelial na região subcuticular, a qual permanece quiescente por um período de 4 a 12 meses, levando conseqüentemente ao aparecimento dos sintomas. Os ascósporos podem ser carregados pelo vento, disseminando o fungo, de maneira eficiente, a longas distâncias.

Nas lesões oriundas de infecções por ascósporos em frutos, ramos e em folhas ocorre a formação de picnídios, corpos de frutificação do ciclo secundário do fungo. Na natureza os ascósporos são formados com facilidade. No entanto,

sob condições artificiais, vários autores têm ressaltado a dificuldade da sua obtenção, a partir de isolados oriundos de lesões em frutos sintomáticos. No Brasil essa fase foi inicialmente obtida por GLIENKE (1995) a partir de isolados endofíticos, oriundos de folhas de diferentes espécies de citros. Posteriormente, AGUILAR-VILDOSO (1996) e LEMIR et al. (2000), em estudos adicionais, demonstraram a influência do substrato na produção de pseudotécios do fungo, enquanto que TIMOSSI (2000), a partir de isolados de *G. citricarpa* obtidos de folhas de laranjeira 'Pêra-Rio' demonstrou o efeito da combinação de meios de cultura, condições de incubação, luminosidade e ambiente de saturação na produção dessas estruturas. Entretanto, de acordo com esse autor, a obtenção da fase ascógena a partir de isolados oriundos de lesões em frutos não foi bem sucedida.

Normalmente, após a abscisão é que a presença de frutificações do fungo torna-se revelada, onde se observa a presença de frutificação erupente (McONIE, 1964<sub>b</sub>). Assim, dada a dificuldade de obtenção dos ascósporos sob condições artificiais, os testes de patogenicidade têm sido realizados através de ascósporos liberados a partir de pseudotécios maduros, contidos em folhas coletadas sobre o solo (McONIE, 1964<sub>c</sub>). Entretanto, embora McONIE (1967) mencione que em folhas velhas, com mais de 50% de pseudotécios seja rara a presença de picnidísporos, não há, na literatura, uma metodologia apropriada para a obtenção de ascósporos de forma seletiva.

Dentro dos picnídios formam-se os picnidísporos ou conídios os quais emergem do ostíolo. Na sua extensão, tais conídios mostram-se envolvidos por uma substância mucilaginosa que tem a função de protegê-los contra condições climáticas adversas. A água, ao passar pela superfície destas estruturas, solubiliza a mucilagem, proporcionando assim o seu carregamento, em suspensão, até a superfície dos órgãos suscetíveis próximos, onde novas infecções ocorrem. Essa fase assexual é a responsável pelo incremento da doença dentro da planta e próximo a ela, pois os picnidísporos são disseminados circunstancialmente a curtas distancias (BALDASSARI, 2001).

A importância dos picnidiósporos na epidemiologia da doença se sobressai com a coexistência, na mesma planta, de frutos infectados e frutos jovens suscetíveis (FEICHTENBERGER, 1996).

Os picnidiósporos, uma vez atingindo a superfície dos órgãos suscetíveis, germinam e emitem tubos germinativos que, em determinados pontos, se engrossam e produzem apressórios. A partir destes apressórios formam-se delgadas hifas de infecção que penetram através da cutícula e vão formar, entre esta e a epiderme, uma pequena massa de micélio subcuticular quiescente. O fungo desenvolve-se a partir desta massa, colonizando tecidos mais internos e provocando o aparecimento dos sintomas típicos da doença (McONIE, 1967).

Não existe um consenso sobre quais as formas, entre picnidiósporos e ascósporos, mostram-se de maior importância uma vez que a doença tenha já sido estabelecida. Para as condições da África do Sul, os ascósporos constituem-se na principal fonte de inóculo (KOTZÉ, 1981).

Uma característica muito importante dessa doença é a de possuir, após a infecção, um longo período de incubação, uma vez que os sintomas aparecem a partir da fase de transição em que os frutos passam de verdes para maduros (KOTZÉ, 1981). Este período pode variar entre 2 e 10 meses. Dentre os fatores que favorecem a quebra deste período de incubação, proporcionando a manifestação típica dos sintomas, destaca-se a maior exposição dos frutos à irradiação solar intensa e temperaturas elevadas. Plantas velhas e estressadas estão também mais sujeitas à doença do que as sadias (KOTZÉ, 1963).

Apesar da crescente importância da mancha preta nos pomares brasileiros, pouco se sabe sobre sua epidemiologia nas nossas condições. Na Austrália e na África do Sul, a mancha preta é considerada uma doença monocíclica, que comporta apenas um ciclo primário (infecção a partir de ascósporos), desprezando-se o possível papel do ciclo secundário (diversos ciclos assexuais recorrentes) no desenvolvimento da epidemia. Esse estranho e raro comportamento epidemiológico proposto para a mancha preta é justificado, pelo menos em parte, por duas características que prevalecem naqueles países: (i) florescimento e frutificação uniformes (típicos de pomares irrigados), que permite a

colheita de uma determinada safra antes que o florescimento e a frutificação da safra seguinte tenham se iniciado; (ii) descarga de ascósporos concentrada totalmente durante o estágio fenológico mais suscetível do hospedeiro, ou seja, a formação dos frutos (McONIE, 1967).

No Brasil o papel dos picnídios deve ser tão (ou mais) importante quanto o papel dos ascósporos, em virtude da comum ocorrência de frutos maduros infecciosos (por meio de picnidiósporos de *Phyllosticta citricarpa*) e frutos jovens suscetíveis na mesma árvore (ou em árvores próximas), principalmente naquelas variedades com vários surtos de florescimento, ou mesmo em qualquer variedade, quando condições climáticas particulares contribuem para a ocorrência de vários surtos de florescimento nas plantas (FEICHTENBERGER, 1996). Essa característica favorável à ocorrência de epidemias causadas pela fase assexuada do patógeno (picnidiósporos) é contrabalançada pela provável menor coincidência (em relação à África do Sul e à Austrália) entre a descarga de ascósporos e a fase mais suscetível do hospedeiro.

Portanto, para se entender a epidemiologia desta doença, tem-se que considerar a disponibilidade de inóculo, as condições climáticas necessárias para ocorrer à infecção, o ciclo de crescimento das árvores de citros e, particularmente, o desenvolvimento da fruta em relação ao desenvolvimento da doença (KOTZÉ, 1981).

#### **2.2.4. Controle**

O atual nível de incidência e severidade demonstrada pela doença nos pomares cítricos do estado de São Paulo demonstra o seu nível de gravidade e as boas condições de adaptação encontradas pelo fungo, neste estado. Dessa forma, as medidas de controle adotadas têm contribuído apenas para minimizar as perdas potenciais. Nos anos de 2001 a 2003 os preços pagos ao produtor pela caixa de laranja estiveram entre US\$ 2,80 e US\$ 3,50 e o controle da MPC elevou o custo de produção de uma caixa em US\$ 0,37 na região sul. Portanto apenas para o controle dessa enfermidade o valor despendido representou 10,5% a



13,2% do valor de venda de uma caixa (AGRIANUAL, 2005). Caso a doença estenda-se para os demais municípios produtores, o custo anual passaria para cerca de 72 milhões de dólares (AGRIANUAL, 2005). No entanto, mesmo com estes elevados custos o controle da doença não é totalmente eficiente, encontrando-se que sob condições severas, com o melhor tratamento utilizado a incidência de frutos com sintomas foi de 53%, enquanto que no tratamento com menor eficiência de controle a incidência foi de 75,5% (SPÓSITO, 2003).

O controle da doença baseia-se no emprego de métodos culturais e principalmente no uso de fungicidas. O uso de fungicidas foi inicialmente adotado na Austrália e na África do Sul, a partir da década de 50. Os primeiros grupos químicos que apresentaram um bom controle da doença foram os fungicidas cúpricos, especialmente o oxicloreto de cobre e calda bordalesa, os quais mostravam-se como os mais práticos e econômicos (CALAVAN, 1960).

Até a década de 60, tanto na Austrália, como na África do Sul, o controle da doença era realizado com 3 a 4 pulverizações com fungicidas cúpricos. A primeira aplicação era realizada no florescimento ou imediatamente após a queda das pétalas, sendo as demais em intervalos de até seis semanas. Entretanto, em pomares que apresentavam plantas mais velhas havia a necessidade de maior número de pulverizações. No entanto, nos anos subseqüentes constatou-se que o uso dos fungicidas cúpricos, dependendo da quantidade de aplicações e épocas as quais eram realizadas provocavam sintomas de fitotoxicidade nos frutos, os quais apresentavam pequenas lesões escuras. Tais manchas eram superficiais, restringindo-se à casca, que, embora não afetasse suas características químicas e/ou tecnológicas, ocasionava a sua depreciação comercial, dado aos danos provocados (CALAVAN, 1960; KOTZÉ, 1964; KOTZÉ, 1981).

Na década de 60 foram introduzidos os fungicidas ditiocarbamatos os quais, além de proporcionarem bom controle da doença, não apresentavam efeito deletério à aparência externa da casca dos frutos. Estes foram utilizados em conjunto com os fungicidas cúpricos, até que a partir dos anos 70, com o advento dos fungicidas sistêmicos, foi verificado um significativo avanço no controle da doença. Na África do Sul, além da elevada eficiência de controle, ao invés de 4 ou

5 aplicações com fungicidas ditiocarbamatos, como regularmente vinham sendo realizadas, apenas uma única aplicação de benomyl associado com óleo mineral era suficiente para o controle efetivo da doença (KOTZÉ, 1981). Nessas áreas, controle próximo de 100% foi também obtido mediante o emprego de hidróxido de cobre ou calda bordalesa na fase queda de pétalas, acompanhada da aplicação de benomyl 16 semanas após essa pulverização (BERTUS, 1981).

No Brasil, tem-se obtido bons resultados de controle da doença mediante o uso de fungicidas benzimidazóis, tanto isoladamente ou em mistura de tanque com fungicidas protetores e óleos mineral ou vegetal (GOES & WIT, 1999). Esses resultados têm sido convergentes com os obtidos na Argentina (GARRÁN, 1996; RODRIGUEZ & MAZZA GAIAD, 1996) e na África do Sul (SCHUTTE et al., 1996; TOLLIG et al., 1996).

Os fungicidas benzimidazóis são usados com elevada frequência nos pomares cítricos do Brasil, uma vez que se mostram eficientes no controle de vários fungos que ocorrem em folhas, flores e frutos, destacando-se *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides*, *Elsinoe* spp., entre outros. O uso intensivo desse grupo de fungicidas, se não empregado de forma racional poderá exercer elevada pressão de seleção, proporcionando o surgimento de estirpes de fungos resistentes, como constatado em meados dos anos 80 na África do Sul (HERBERT & GREINCH, 1985). Tal fato provocou mudanças nas estratégias até então empregadas com sucesso no controle da doença. Dentro das alterações incluiu-se o retorno ao uso de fungicidas protetores, principalmente os ditiocarbamatos e cúpricos e, em 1987, de acordo com Bot et al. (1987), citado por SCHUTTE et al (1996), foi registrada a mistura de tanque entre benomyl e mancozeb.

Embora no Brasil não haja registros na literatura sobre possível existência de estirpes resistentes, torna-se necessário que o uso desses fungicidas seja feito de forma adequada, levando-se sempre em consideração o uso de alternativas que minimizem o risco de seleção. De acordo com BRENT (1995), dentre algumas estratégias definidas pelo FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) visando à minimização dos riscos de resistência, inclui-se restringir o uso de fungicidas

e/ou grupos de fungicidas vulneráveis apenas mediante mistura com um ou mais fungicidas de diferentes grupos químicos. Desde então, vários produtos químicos têm sido testados com vistas a minimizar as perdas e aumentar a eficiência de controle da doença. Dentre os novos grupos de fungicidas testados incluem-se os pertencentes às estrobilurinas que, especialmente na África do Sul, têm mostrado resultados altamente promissores (SCHUTTE et al., 1996; TOLLIG et al., 1996).

Dentre os fungicidas benzimidazóis, o benomyl foi empregado com sucesso por vários anos, porém, a partir de 2001 o benomyl teve sua fabricação e comercialização suspensas, em todo o mundo. Assim, dentre os benzimidazóis, atualmente são utilizados o carbendazim e tiofanato metílico. O carbendazim corresponde ao metil-2-ylcarbamato (MBC), e se origina da perda do grupo butil carbamoil da molécula de benomyl, em solução aquosa ou em solvente orgânico (VONK & SIJPESTEIJN, 1972).

O carbendazim representa a principal molécula fungitóxica do benomyl e possui atividade seletiva, ou afinidade, para a proteína microtubulina dos fungos e não para a microtubulina das plantas (EDGINGTON, 1981). Pertence ao grupo dos benzimidazóis, os quais são amplamente conhecidos por sua excelente sistemicidade e eficiência em controlar doenças de plantas. Apresenta efeito protetor, podendo penetrar nos tecidos da planta e inibir infecções, ou pode ainda mover-se no apoplasto para as partes não tratadas da planta e exercer efeitos preventivos e curativos. A molécula do carbendazim normalmente se liga levemente à superfície da planta degradando-se lentamente, tendo dessa forma uma atividade residual altamente desejável (DELP, 1995).

O carbendazim apresenta ação profilática e curativa, com amplo espectro de ação contra fungos da classe dos ascomicetos, contra deuteromicetos e contra alguns basidiomicetos (SUTTON & WATERSTON, 1966).

Na África do Sul, TOLLIG et al. (1996) mediante a combinação de carbendazim a 0,28g i.a./L, associado com mancozeb (1,6g/L) e óleo mineral a 0,5% obtiveram cerca de 100% e 86% de frutos com padrão comercial, com até 3 lesões, em pomares de laranja 'Valência', em Nelspruit e em Malelane,

respectivamente. Nesse estudo, a porcentagem de frutos assintomáticos no tratamento testemunha foi de 89% e 42%, respectivamente.

Experimentalmente tem-se obtido bons resultados de controle da doença mediante o uso de fungicidas benzimidazóis, tanto isoladamente ou em mistura de tanque com fungicidas protetores e óleos mineral ou vegetal (GOES, 1998; GOES & WIT, 1999; BRAZ et al., 2000 e FEICHTENBERGER et al., 2000). Assim, para o controle de *G. citricarpa* recomenda-se sua aplicação após a pulverização de florada com fungicidas cúpricos, realizadas nas fases de  $\frac{3}{4}$  de queda de pétalas e uma segunda aplicação 4-6 semanas depois. Normalmente são utilizadas duas pulverizações de carbendazim, associado com fungicida protetor e óleo, em intervalo de 35 a 42 dias (GOES & WIT, 1999).

Atualmente os melhores níveis de controle têm sido obtidos mediante o emprego de fungicidas sistêmico acrescido de fungicida protetor e óleo mineral ou vegetal. Dentre os fungicidas protetores incluem-se os cúpricos e os ditiocarbamatos, enquanto dentre os sistêmicos destacam-se os benzimidazóis (GOES et al., 1990; AMARO et al., 1997; GOES, 1998; AGUILAR-VILDOSO et al., 2002). Outro grupo de fungicida que também vem contribuindo para a melhoria dos níveis de controle são os pertencentes às estrobilurinas, especialmente o pyraclostrobin (GOES, dados não publicados\*). Entretanto, embora tais fungicidas venham se mostrando eficientes no controle da doença, faz-se imprescindível a determinação do período de controle conferido por tais fungicidas.

O pyraclostrobin faz parte do grupo das estrobilurinas, os quais são análogos sintéticos da molécula natural estrobilurina A, um metabólito antifúngico secundário produzido pelo fungo *Strobilurus tenacellus*. As estrobilurinas inibem a respiração mitocondrial bloqueando a transferência de elétrons ao complexo bc1 dos fungos, e ao mesmo tempo inibem a germinação dos esporos, o desenvolvimento do tubo germinativo e a esporulação dos fungos (PICCININI, 1994). Elas têm atividades protetoras, curativas e erradicantes, proporcionando um longo período residual para o controle das doenças, agindo como um produto mesostêmico (PICCININI, 1994).

\* A. de Goes, professor UNESP-FCAV. Departamento de Fitossanidade.

A substância ativa do pyraclostrobin se difunde no interior do tecido vegetal, a curtas distâncias, formando depósitos nas áreas de cobertura cerosa da epiderme que não foram atingidas diretamente pelo fungicida (BASF, 2004).

Resultados da eficiência das estrobilurinas no controle da doença nas condições brasileiras têm sido reportados por FELIPPE et al. (2004), os quais verificaram que quando aplicado a 0,03 mL/L, 60 dias após a queda de pétalas e 45 dias após, associado com aplicações de oxicloreto de cobre na fase de queda de  $\frac{3}{4}$  das pétalas e 30 dias depois, obtiveram um maior peso médio dos frutos e uma menor quantidade de doença, quando comparado com outras combinações de fungicidas. Níveis elevados de controle foram também obtidos por GOES (dados não publicados\*) em laranja 'Natal', em Conchal/SP, na safra 2003/4, onde mediante o emprego de pyraclostrobin, em duas pulverizações a 0,0375mL/L, foi obtido 87% de frutos com zero a três lesões.

Na África do Sul, TOLLIG et al. (1996) constataram que duas aplicações de kresoxin metil a 0,2g de i.a./L proporcionaram a obtenção de até 97% de frutos comercializáveis, mesmo em áreas de elevado nível de inóculo. Na Argentina, FOGLIATA et al. (2004) visando determinar a eficiência das estrobilurinas no controle de *G. citricarpa* em limoeiro, verificaram que azoxystrobin, pyraclostrobin e trifloxystrobin foram eficientes para o controle da doença, sendo que a maior eficiência de cada um esteve condicionada à época de aplicação e ao fungicida incluído para o controle.

Em relação à severidade da doença é importante destacar que, quando se compara o percentual de frutos assintomáticos obtidos nas condições da África do Sul (KOTZÉ, 1964; SCHUTTE et al., 1996; SCHUTTE & KOTZÉ, 1997; TOLLIG et al., 1996), Austrália (BERTUS, 1981) e Argentina (RODRIGUEZ & MAZZA GAIAD, 1996; GARRÁN, 1996) e os obtidos no Brasil (GOES & WIT, 1999; SPÓSITO, 2003), verifica-se que nesses países, o nível de incidência e severidade da doença é significativamente mais baixo. Nesses países, o número de frutos assintomáticos é normalmente superior a 90%, enquanto que, no Brasil, esse percentual tem sido situado em taxas inferiores, estando, às vezes, abaixo de 50%, mesmo após várias pulverizações com fungicidas (GOES, dados não

\* A. de Goes, professor UNESP-FCAV. Departamento de Fitossanidade.

publicados<sup>\*</sup>). Entretanto não foi realizado no Brasil um monitoramento detalhado no intuito de diagnosticar as causas associadas a esses altos níveis da doença. Assim sendo, um estudo das interações, assim como a determinação da contribuição individual de cada um dos fatores possivelmente associados, certamente contribuirá à melhoria da eficiência dos tratamentos, propiciando à obtenção de frutos com melhores padrões de qualidade. Dentre estes estudos, considera-se importante que sejam contemplados o monitoramento da resistência de isolados de *G. citricarpa* aos benzimidazóis, avaliação da efetividade dos fungicidas aplicados isoladamente ou em combinação, determinação da influência da época de aplicação dos fungicidas e possíveis interferências das condições climáticas na eficiência dos mesmos e especialmente o tempo de eficiência e/ou de proteção dos fungicidas.

Para o controle da mancha preta e verrugose recomenda-se a aplicação de pyraclostrobin, 60 dias após  $\frac{3}{4}$  de queda de pétalas e 35 a 42 dias depois dessa aplicação.

Dentre as possíveis causas associadas a esta baixa eficiência dos tratamentos de controle da mancha preta incluem-se (i) elevado nível de inóculo; (ii) intervalo inadequado de pulverizações; (iii) baixo período residual dos fungicidas; (iv) influências climáticas, especialmente quando sob primavera e verão chuvosos; (v) baixa eficiência operacional e (vi) adaptação das linhagens dos fungos aos fungicidas empregados. Dessa forma, torna-se de fundamental importância que se determine a possível relação entre estes fatores e níveis individuais de “escapes” de frutos sintomáticos. Tais aspectos são desconhecidos na literatura e, principalmente no que tange ao efeito do período curativo as informações são por demais escassas, justificando-se plenamente a realização de investigações específicas. Tais informações, além de fornecer subsídios para o esclarecimento quanto aos fatores apontados, também poderão: (i) propiciar as melhores condições à otimização do controle; (ii) viabilizar a racionalização do uso de fungicidas; (iv) fornecer informações básicas aos estudos relacionados aos sistemas de previsão e (v) possibilitar a correlação dos fatores relacionados a fenologia do hospedeiro, fatores climáticos e dispersão aérea dos ascósporos.

<sup>\*</sup> A. de Goes, professor UNESP-FCAV. Departamento de Fitossanidade.

### 2.3. Curva de progresso da doença

A curva de progresso da doença expressa pela relação entre a proporção de doença *versus* tempo, é a melhor representação de uma epidemia. Através dela, pode-se caracterizar a época de início da epidemia, a quantidade de inóculo inicial ( $X_0$ ), a taxa de aumento da doença ( $r$ ), a área sob a curva de progresso da doença (AUDPC), a forma da curva de progresso da doença, as quantidades máximas ( $X_{max}$ ) e final ( $X_f$ ) de doença e a duração da epidemia (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996). A análise da curva de progresso da doença pode ser utilizada para desenvolver programas e modelos de simulação, principalmente modelos de previsão de doenças. Para determinar estes parâmetros é preciso ajustar os dados da severidade da doença dentro de algum dos modelos matemáticos que explicam o progresso das diversas doenças. Alguns destes modelos são:

**Modelo exponencial:** caracteriza-se pela proporcionalidade entre a velocidade de aumento da doença com a quantidade de doença, expressa com a equação diferencial:  $dx/dt = r_e x$ , onde  $dx/dt$  é a derivada da velocidade da doença,  $x$  a quantidade de doença e  $r_e$  é a taxa de aumento da doença. Como a equação dá-se em função do tempo, quando integrada descreve a variação da doença ( $x$ ) em diferentes tempos ( $t$ ), sendo  $x = x_0 \exp(r_e t)$ . Este modelo pode ser empregado para as fases iniciais da epidemia, enquanto a quantidade de doença não exceder 5% (VANDERPLANK, 1963).

**Modelo logístico:** quando a quantidade da doença é menor a 5% confunde-se com o modelo exponencial, porém acima destes valores os modelos diferenciam-se porque neste modelo a velocidade de aumento da doença depende não só da quantidade de doença, como também da quantidade de tecido sadio. A equação integrada deste modelo é expressa como  $x = 1/(1+(1/x_0)-1) \exp(-r_l t)$ , a qual descreve uma curva sigmóide de  $x$  *versus*  $t$ , simétrica com ponto de inflexão em  $x = 0,5$ , seguidos por incrementos decrescentes que tendem a zero (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

**Modelo de Gompertz:** este modelo também descreve uma curva sigmóide de  $x$  versus  $t$ , apresenta um crescimento mais acentuado no início da doença com ponto de inflexão em  $x = 0,37$ . Assim a equação diferencial da equação integrada é  $x = \exp(-(-\ln(x_0)\exp(-r_G t)))$  (CAMPBELL & MADDEN, 1990).

**Modelo monomolecular:** este modelo, diferente aos anteriormente referidos, não apresenta proporcionalidade entre a velocidade de aumento da doença e a quantidade da doença. Neste modelo a velocidade de aumento da doença é proporcional ao inóculo inicial ( $x_0$ ) e a uma taxa de aumento da doença ( $r_M$ ), supostos como constantes. A equação diferencial é  $x = 1 - (1 - x_0)\exp(-r_M t)$ . Esta equação produz uma curva côncava em relação à abcissa, aproximando-se assintoticamente da quantidade máxima de doença (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

Segundo CAMPBELL & MADDEN (1990) o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), obtido da regressão linear entre os valores previstos (variável dependente) e observados (variável independente), ambos sem transformação, é uma boa opção para escolher o melhor modelo que se ajusta ao crescimento da doença. Segundo esse mesmo autor, além desse critério, a forma da curva da derivada ( $dx/dt$ ), as estimativas do desvio padrão dos parâmetros  $r$  e  $x_0$  e, mais importante, a plotagem do resíduo padrão ( $x$  observado menos  $x$  previsto) em função da variável independente são os procedimentos estatisticamente mais aconselháveis para a escolha do melhor modelo.

Trabalhos visando determinar o modelo que melhor se ajusta à curva de progresso da mancha preta foram desenvolvidos por REIS (2002), SPÓSITO (2003) e GONZÁLEZ-JAIMES (2005). Os resultados obtidos foram divergentes entre si, sendo que, para o primeiro autor a curva ajustou-se ao modelo logístico, enquanto que para os outros autores ajustou-se ao modelo monomolecular.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Implantação do experimento**

O experimento foi implantado na Fazenda Santa Helena, no município de Rincão - SP, a partir do dia 23 de setembro de 2003, em um pomar de laranja 'Valencia', de 10 anos de idade, por ocasião da queda de  $\frac{3}{4}$  de pétalas. O pomar não havia recebido nenhum tratamento com fungicida na safra anterior (2002/2003).

No experimento utilizou-se dois fungicidas: carbendazim (Bayer Protection of Plants, Levekusen, German, Derosal®) a 0,25 mL de i.a./L e pyraclostrobin (BASF Aktiengesellschaft, Ludwigshafen-German, Comet®) a 0,15 mL de i.a./L.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado (DIC), em parcelas subdivididas. As parcelas principais foram constituídas em três tratamentos, sendo dois deles com imersão dos frutos em fungicidas e uma testemunha, sem aplicação de fungicida. Já as sub-parcelas foram constituídas por oito semanas, sendo cada um destes o período (semana) em que os frutos ficaram expostos ao inóculo existente no pomar, sem a proteção dos sacos de papel cristal. Cada sub-parcela experimental foi composta por 20 frutos ensacados por planta. Cada tratamento foi constituído por 10 plantas, sendo ensacados e marcados 20 frutos ao acaso, em cada planta, a cada semana (Tabela 01).

Tabela 01: Esquema de tratamento correspondente à parcela subdividida, sendo apresentada na forma de “janelas” onde o mesmo procedimento foi feito para pyraclostrobin e testemunha.

Fungicida utilizado	Primeira fase															
	Semanas															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Carbendazim	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	*	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	x
	*	*	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	*	*	*	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	*	*	*	*	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	*	*	*	*	*	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	*	*	*	*	*	*	*	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Segunda fase															
	Semanas															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Carbendazim	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	X	X	X	X	X	X	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	X	X	X	X	X	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	*	X	X	X	X	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	*	*	X	X	X	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	*	*	*	X	X	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	*	*	*	*	X	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	*	*	*	*	*	X	X
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	*	*	*	*	*	*	*	X

X Frutos tratados e ensacados.

Y Frutos ensacados após  $\frac{3}{4}$  de queda de pétalas e desensacados na 8ª semana da primeira fase.

\* Frutos que ficaram expostos às infecções naturais do patógeno.

Os frutos referentes a cada sub-parcela foram imersos em solução contendo um dos fungicidas, sendo que as aplicações ocorreram em duas fases, correspondendo cada uma à época de aplicação dos fungicidas, sendo a primeira na fase de  $\frac{3}{4}$  de queda de pétalas e a segunda na 9ª semana após a queda das pétalas.

A primeira fase teve início no dia 23/09/2003. Nesta data a maioria das plantas apresentavam-se na fase de  $\frac{3}{4}$  de pétalas caídas. A cada semana, 20 frutos por planta foram imersos durante 1 minuto em solução contendo um dos seguintes fungicidas: Derosal® a 0,25 mL de i.a/L ou Comet® a 0,15 mL de i.a./L. Para tanto uma solução de 150 mL dos fungicidas foi colocada em um becker de 250 mL, onde os frutos ficaram imersos. Após 3 minutos, estes frutos foram

ensacados com saco papel cristal branco, de 15 x 15 cm, para evitar a sua exposição às estruturas reprodutivas do patógeno, e marcados com a fita de cor correspondente da semana (Figura 01). Na testemunha os frutos foram somente ensacados e marcados, nas mesmas semanas as quais foram realizados os tratamentos com fungicidas. Este procedimento foi realizado semanalmente até a completa instalação da primeira fase do experimento, na 8<sup>a</sup> semana. Os frutos permaneceram ensacados até 42<sup>a</sup> semana quando então foi feita a colheita. A cada semana, durante todo período, todos os frutos ensacados foram inspecionados para observar se havia ocorrido algum dano no saco de papel. Caso o saco estivesse rasgado, o mesmo era trocado.



Figura 01: Detalhe de um fruto de laranjeira 'Valência' ensacado, empregando-se saco de papel cristal, na fase de  $\frac{3}{4}$  de pétalas caídas e marcado com fita de coloração correspondente à 5<sup>a</sup> semana. Rincão/SP. 2006.

Para a segunda fase do experimento, no dia 23/09/2003 foram ensacados 200 frutos por planta, os quais até então não teriam recebido tratamento prévio com fungicida, em 30 plantas, num total de 5.400 frutos. Tais quantidades de frutos ensacados deveram-se à necessidade de garantir uma margem de segurança em virtude da queda fisiológica natural dos frutos, verificada normalmente até cerca de 60 dias após a queda das pétalas.

Na 8ª semana, os frutos remanescentes dentre os 5.400 ensacados na primeira semana, foram desensacados. No dia 18/11/2003, que corresponde a 9ª semana, 20 frutos por planta foram imersos durante 1 minuto em solução contendo um dos fungicidas, repetindo o esquema da primeira fase, até a 16ª semana. Este procedimento foi realizado semanalmente, permanecendo os frutos ensacados até a 42ª semana. Nesta etapa, o número de frutos tratados foi menor, devido à queda natural dos frutos enquanto encontravam-se protegidos.

No ensaio foi avaliada a incidência e a severidade da doença. A incidência foi avaliada mediante o estabelecimento da porcentagem de frutos com até 3 lesões (frutos comercializáveis) [SCHUTTE et al., 1996; GOES & WIT, 1999]. Para avaliar a severidade da doença foi empregada escala diagramática (Figura 02), conforme SPÓSITO et al. (2004), para sintomas dos tipos mancha preta e falsa melanose, já que esses foram os sintomas predominantes.

A partir de julho, até setembro de 2004, foram realizadas seis avaliações da incidência e severidade da doença, sendo quatro avaliações no pomar, em 17/07, 30/07, 18/08 e 30/08/2004, e outras duas avaliações pós-colheita, realizadas no Laboratório de Fitossanidade da FCAV/UNESP, em Jaboticabal/SP, em 14/09 e 29/09/2004, aos 2 e 15 dias após a colheita dos frutos.

Para essa segunda avaliação pós-colheita, os frutos foram mantidos em uma sala arejada no Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP, à temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Por ocasião da colheita foram retiradas amostras de frutos coletados ao acaso, os quais foram submetidos a análises de brix e acidez, cujos resultados indicaram um "ratio" de 12,9 - 13,8, caracterizando o estado ideal de maturação e processamento industrial dos mesmos.

Foi medido também no decorrer do experimento o diâmetro de 200 frutos, previamente marcados, porém tomados as acaso, em cada um dos três tratamentos, e em frutos sem ensacar com o intuito de observar diferenças no seu crescimento e estabelecer relações quanto ao efeito dos fungicidas e do ensacamento.

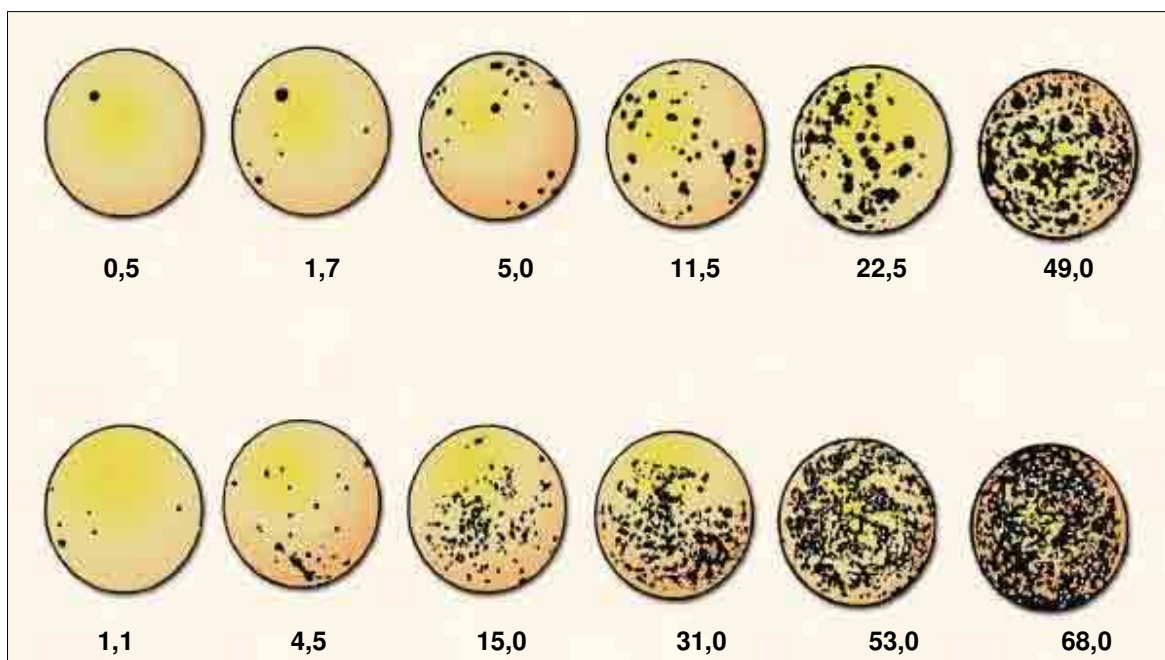


Figura 02: Escala diagramática para avaliação de severidade (%) de mancha preta dos citros (*Guignardia citricarpa*). A parte superior corresponde ao sintoma tipo mancha preta e a parte inferior aos sintomas do tipo falsa melanose (SPÓSITO et al., 2004).

### 3.2. Análise estatística

As variáveis analisadas foram:

$Y_1$  = Incidência da doença: Porcentagem de frutos com algum tipo de sintoma da mancha preta dos citros;

$Y_2$  = Porcentagem de frutos com até 3 lesões – frutos comercializáveis (notas 0 e 0,5 na escala de severidade);

$Y_3$  = Severidade da doença medida mediante o índice da doença (ID), conforme WHEELER (1969), sendo:

$$ID = \frac{1}{N} \sum_{i=0}^m i \cdot n_i, \text{ onde:}$$

ID = índice de doença; N = número total de frutos avaliados; i = nota da doença,  $n_i$  = número de frutos com nota i; m = nota máxima.

Para o ajuste do modelo matemático, os dados originais (notas de 1 a 6) para poderem ser utilizadas nos modelos citados, foram antes transformados em valores de porcentagem de área lesada (0 a 100%).

Em seguida as média da porcentagem de área lesada para cada parâmetro foram transformados em valores entre 0 e 1 (proporção de doença), através da adição da constante 0,1 (para evitar os casos em que se obtivesse valor zero) e divididos pelo máximo observado acrescido de 0,2 (evitando assim que se obtivesse valor 1).

A análise dos resultados foi realizada pelo teste F, de acordo com o delineamento, em parcelas subdivididas, considerando como tratamentos principais os efeitos dos fungicidas e como tratamentos secundários os efeitos das semanas de exposição dos frutos ao patógeno. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados ora apresentados na primeira fase do experimento ( $\frac{3}{4}$  de queda de pétalas até a 8ª semana), referem-se àqueles obtidos na 1ª, 3ª e 4ª avaliações e para a segunda fase (9ª até a 16ª semana após a queda das pétalas), referem-se a 1ª e 3ª avaliações. Os dados referentes às demais avaliações encontram-se no apêndice. Os mesmos não foram apresentados no texto, em virtude da baixa variabilidade dos resultados, apresentando dados uniformes ao longo das semanas em que os frutos ficaram expostos às estruturas reprodutivas do patógeno.

### **4.1. Resultados da primeira fase**

#### **4.1.1. Incidência**

Verificou-se que houve diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos ao longo das avaliações, apresentando incremento natural dos seus valores ao longo do tempo, com exceção das duas primeiras avaliações, onde o fungicida pyraclostrobin não diferiu estatisticamente da testemunha (Tabela 02). Observa-se também diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) para os efeitos das semanas, sendo que, a partir da 5ª semana de exposição dos frutos ao patógeno, não foi observado diferenças significativas em todas as avaliações.

Tabela 02: Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin na Incidência da doença em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa* e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento *versus* semana e os respectivos valores de D.M.S. Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Tratamento	Avaliação 1	Avaliação 2	Avaliação 3	Avaliação 4	Avaliação 5	Avaliação 6
Carbendazim	48,80 B	45,77 B	47,44 C	47,86 C	46,43 C	52,36 C
Pyraclostrobin	61,14 A	61,51 A	61,65 B	59,88 B	57,83 B	66,30 B
Testemunha	65,44 A	68,83 A	80,03 A	88,87 A	85,50 A	88,87 A
Teste F	8,73**	15,92**	25,93**	77,48**	39,20**	47,97**
DMS (5%)	10,25	10,37	11,24	8,40	11,25	9,33
<b>Semanas</b>						
S1	40,46 B	39,99 B	46,82 CD	55,70 BC	52,70 BC	55,00 B
S2	41,44 B	41,15 B	36,72 D	50,33 C	47,10 C	62,81 AB
S3	50,58 B	48,29 B	58,82 BC	58,66 BC	55,31 BC	57,32 B
S4	45,95 B	46,09 B	51,92 CD	54,79 BC	63,16 ABC	65,42 B
S5	65,42 A	66,97 A	72,20 AB	71,28 AB	64,24 ABC	71,67 AB
S6	74,45 A	77,24 A	77,72 A	81,01 A	71,66 AB	79,86 A
S7	74,16 A	71,01 A	76,49 A	76,69 A	73,62 AB	80,61 A
S8	75,24 A	79,42 A	83,66 A	75,84 A	78,24 A	80,73 A
Teste F	23,52**	19,29**	18,79**	9,79**	4,90**	5,13**
DMS (5%)	13,78	16,33	16,91	16,50	21,43	20,21
Teste F para interação tratamento <i>versus</i> semana	3,97**	1,55 <sup>ns</sup>	1,66 <sup>ns</sup>	2,89**	1,18 <sup>ns</sup>	1,78**

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).

\* Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo a 5% de probabilidade.

Para a análise de variância os dados foram transformados em arcoseno  $\sqrt{P/100}$ .

De acordo com os dados contidos na Figura 03 observa-se que todos os tratamentos apresentaram baixa quantidade de doença até a 4ª semana de exposição dos frutos às estruturas reprodutivas do patógeno, não apresentando nesse período grande expressão dos sintomas. Nesta primeira avaliação, não



foram constatadas diferenças estatisticamente significativas quanto aos valores da incidência da doença observados até a 4ª semana de exposição dos frutos às infecções. Admite-se que tais fatos devam-se à ocorrência de um período pouco favorável ao patógeno, restringindo seu estabelecimento e a formação de infecções bem sucedidas, e também devido ao fato de ser uma avaliação precoce (17/07/2004), ou seja, no início da maturação dos frutos, apresentando apenas sintomas originados de ascósporos (mancha dura).

Do ponto de vista prático, a evolução da quantidade de doença observada na primeira avaliação é indicação de que avaliações precoces podem levar a resultados e conclusões erráticas. Também esses dados constituem-se em indicações quanto à possibilidade da supressão de partes dos sintomas mediante a colheita precoce dos frutos.

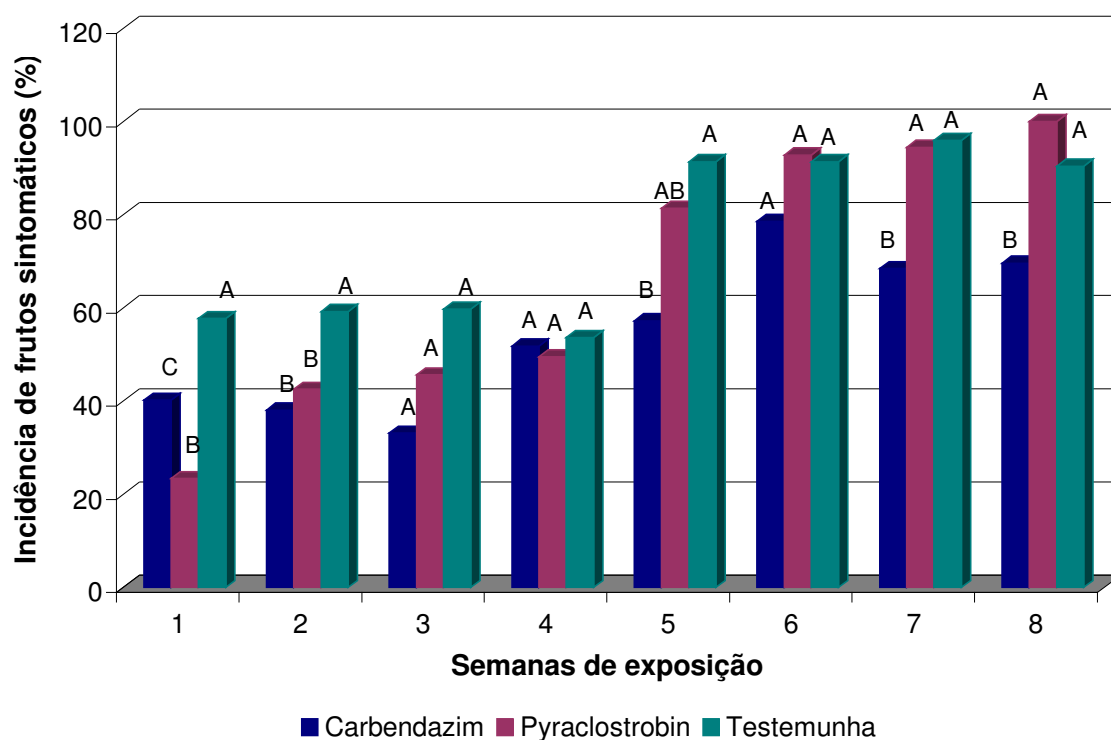


Figura 03: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Conforme os dados contidos na Figura 04, observa-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos constituídos por fungicidas no período da 1<sup>a</sup> a 4<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos ao patógeno, cujos níveis de doença foram baixos, destacando-se a eficiência dos fungicidas. Entretanto, os mesmos diferenciaram estatisticamente da testemunha, cujos níveis de doença foram mais elevados.

A partir da 4<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos ao patógeno, observa-se que o nível de incidência da doença aumentou significativamente para todos os tratamentos, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre o tratamento constituído por pyraclostrobin e a testemunha, porém os frutos tratados com carbendazim apresentaram nível de incidência comparativamente mais baixo. Na prática, esse aumento da incidência da doença fez com que houvesse uma grande queda dos frutos sintomáticos no tratamento testemunha, proporcionando um aumento significativo no nível de severidade da doença.

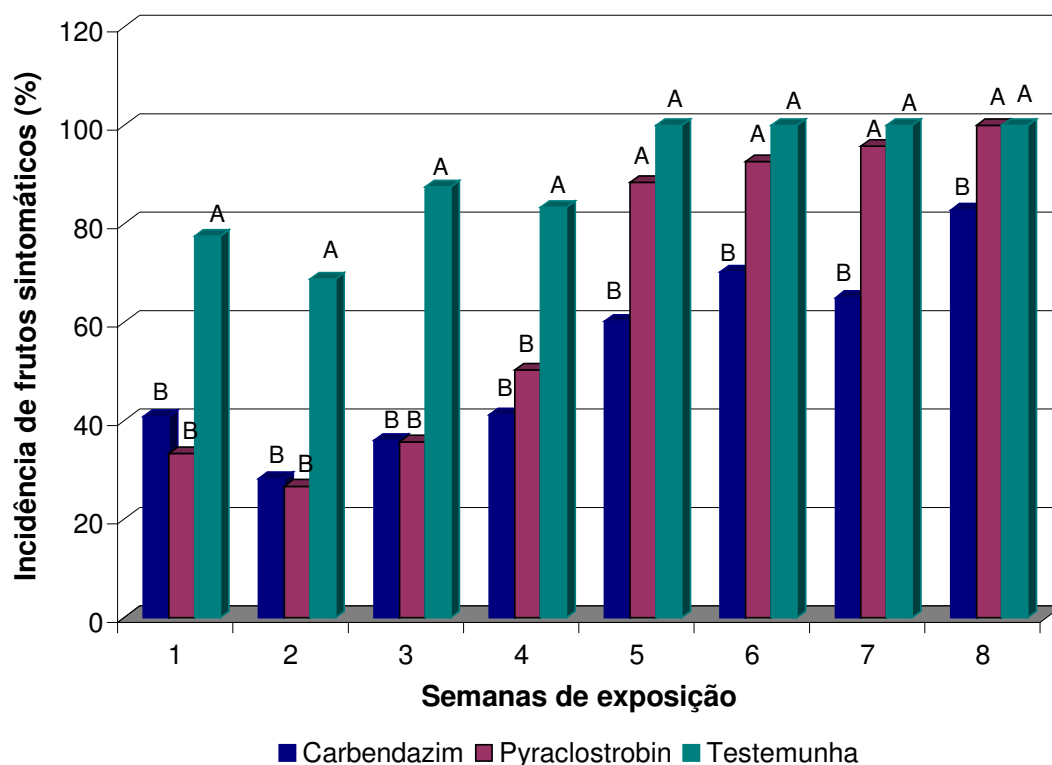


Figura 04: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Nota-se através dos dados contidos na Figura 05, que o tratamento testemunha desde a primeira semana em que os frutos ficaram expostos à doença, os níveis de incidência foram significativamente elevados, comprovando o elevado nível de inóculo na área experimental. Observa-se também que até a 4ª semana de exposição dos frutos ao patógeno não houve diferença significativa entre os tratamentos constituídos por fungicidas, cujos níveis de doença foram baixos, destacando sua eficiência no controle da MPC. Nesse período não foi observado incremento no índice de doença em quantidade suficiente para constitui-se em diferencial estatístico, porém diferenciou estatisticamente da testemunha ( $p \leq 0,05$ ). Admite-se que as respostas de eficiência observada pelos

fungicidas nestas semanas originaram-se pelo efeito da combinação das propriedades protetora e em especial da ação curativa dos fungicidas testados. A partir da 6<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos ao patógeno os tratamentos constituídos por fungicidas diferenciaram estatisticamente entre si, cujos frutos tratados com carbendazim apresentaram menor quantidade de frutos sintomáticos. Da 6<sup>a</sup> a 8<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos foi observado que o carbendazim manteve-se ainda eficiente, fato esse não observado com pyraclostrobin, apresentando um comportamento similar ao do tratamento testemunha.

Presume-se que da 5<sup>a</sup> a 8<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos às infecções naturais ocorreu uma maior liberação dos ascósporos, oriundos da grande disponibilidade de folhas caídas nos meses mais secos e da freqüência de chuvas ocorridas nesse período, ocasionando uma quantidade maior de doença. A elevação da incidência da doença pode estar influenciada pela alta taxa de crescimento dos frutos, a qual se deu a ordem de cerca de 7 vezes, da fase de queda de  $\frac{3}{4}$  das pétalas, até a 8<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos (dados não apresentados). O controle demonstrado pelos fungicidas nesse período, ainda que contidamente, aparentemente deveu-se ao resíduo dos fungicidas existentes na casca dos frutos, já que esses, por encontrarem-se ensacados, sofreram menos intensamente a ação natural das intempéries, como se dá em condições naturais de cultivo.

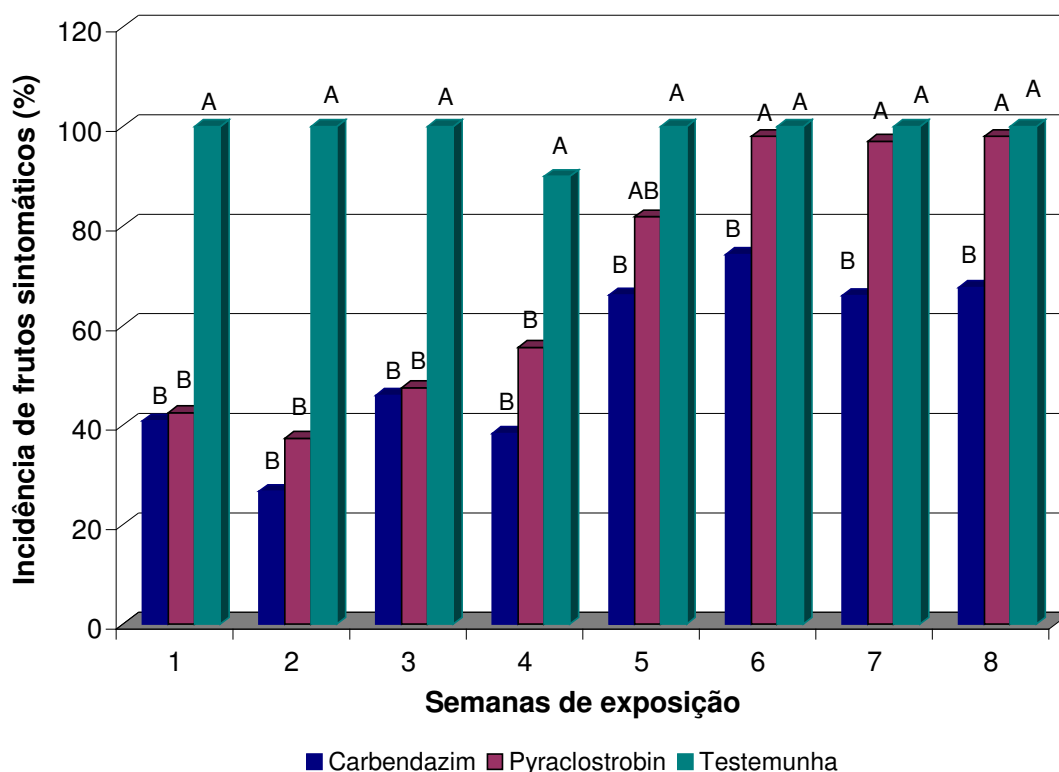


Figura 05: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na quarta avaliação (30/08/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Conforme dados contidos na Figura 06, observa-se que em função das épocas de avaliação, foi observado um incremento progressivo e significativo nos níveis médios de incidência ao longo das semanas em que os frutos ficaram expostos à infecção, quando se compara os fungicidas testados com a testemunha. Tal fato indica que à medida que se intensifica a maturação dos frutos há, também, evolução no nível de expressão dos sintomas. No entanto, na 1ª e 2ª semana de exposição dos frutos, não houve evolução estatisticamente significativa no nível de doença em frutos tratados com os fungicidas testados. A incidência da doença aumentou ao longo das avaliações, variando de 65,24% de frutos doentes na primeira avaliação, para 83,29% na última avaliação, indicando

que quase a totalidade dos frutos apresentavam sintomas.

Observa-se que houve incremento estatisticamente significativo nos níveis de doença nas diferentes épocas de avaliações, principalmente a medida que se intensificou a maturação dos frutos, especialmente a partir da 3ª avaliação, realizada em 18/08/2004. Do ponto de vista prático, tais resultados são indicações que, à medida que se torne técnica e economicamente viável, a colheita dos frutos de laranjeira 'Valência', em áreas de comprovado histórico da doença, como no presente caso, é recomendável que a mesma seja realizada antes em que haja maior expressão dos sintomas, com conseqüente queda de frutos.

Em termos gerais, a maior expressão dos sintomas da MPC torna-se mais visível a partir da fase em que os frutos encontram-se nas fases iniciais de maturação (KOTZÉ, 1981). No presente trabalho foram observados que os primeiros sintomas, às vezes com expressiva magnitude, apareceram mais precocemente ao usual, como ilustrado na Figura 07. Assim, por tratar-se de frutos de laranjeira 'Valência', de maturação média a tardia, percebe-se coerência nos dados, já que as primeiras avaliações iniciaram-se a partir de 17/07/2004. Dessa forma, avaliações realizadas precocemente tendem a superestimar a eficiência dos tratamentos, já que a maior expressão dos sintomas se dá a partir do início da maturação dos frutos. No presente trabalho foram realizadas 4 avaliações pré-colheita (17/07; 30/07; 18/08 e 30/08) e 2 pós-colheita (14/09 e 29/09/2004). Por ocasião da colheita os teores de "ratio" situavam-se entre 12,9 e 13,8, considerados adequados para o processamento industrial. Tal valor é um indicativo de que, por ocasião da colheita, os frutos mostravam-se maduros, ideais, portanto, para as avaliações de expressão de sintomas causados por *G. citricarpa*.

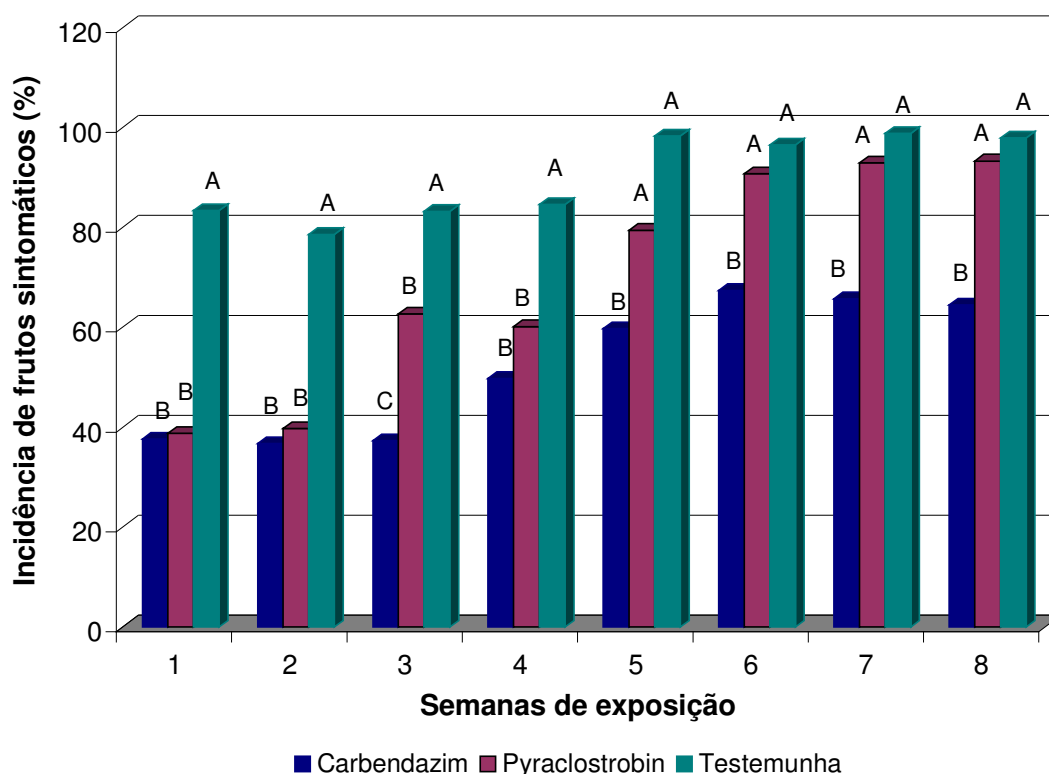


Figura 06: Comparação entre as médias das avaliações (entre a 1<sup>a</sup> e 8<sup>a</sup> semanas), quanto à Incidência da mancha preta (em porcentagem), em frutos de laranjeira 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, em condições naturais de infecção. Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Admite-se que, normalmente, sob condições naturais e dependendo da classe do fungicida, a sua eficiência de controle quando aplicados em frutos cítricos, se estende por cerca de 28 a 35 dias (GOES, 1998). No presente caso, não obstante a possível proteção aos efeitos climáticos, o que, de certa forma redundou em melhoria de sua tenacidade, não se deve subestimar uma possível e significativa perda de eficiência do produto por hidrólise. Entretanto, mesmo com tais perdas, houve ainda uma eficiência suficiente para se constituir em diferencial, quando comparado ao tratamento testemunha.



Figura 07: Fruto de laranja 'Valência', com 57 mm de diâmetro, ainda verde, apresentando sintomas do tipo falsa melanose, no tratamento testemunha. Rincão/SP, 2006.

#### **4.1.2. Severidade**

Quanto à severidade, medida pelo índice de doença, constatou-se diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos ao longo das avaliações, apresentando incremento estatisticamente significativo à medida que houve evolução no nível de maturação dos frutos. Observa-se também que nas duas primeiras avaliações o fungicida pyraclostrobin não diferiu estatisticamente da testemunha (Tabela 03). Não houve diferença significativa até a 4ª semana de exposição dos frutos a infecções, em todas as avaliações realizadas, apresentando comportamento similar. O mesmo comportamento foi observado nas semanas subseqüentes, em todas as avaliações.



Tabela 03: Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin no Índice de doença (ID) em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa* e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento *versus* semana e os respectivos valores de D.M.S. Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Tratamento	Avaliação 1	Avaliação 2	Avaliação 3	Avaliação 4	Avaliação 5	Avaliação 6
Carbendazim	1,36 B	1,35 B	1,29 C	1,28 C	1,27 C	1,29 C
Pyraclostrobin	1,58 A	1,56 A	1,49 B	1,43 B	1,42 B	1,48 B
Testemunha	1,63 A	1,64 A	1,86 A	1,97 A	1,95 A	2,04 A
Teste F	13,14**	15,97**	44,90**	134,33**	85,94**	131,78**
DMS (5%)	0,14	0,13	0,14	0,10	0,13	0,11
<b>Semanas</b>						
S1	1,30 B	1,22 C	1,32 CD	1,40 B	1,42 C	1,43 B
S2	1,28 B	1,25 C	1,17 D	1,31 B	1,33 C	1,47 B
S3	1,34 B	1,31 C	1,40 C	1,41 B	1,39 C	1,42 B
S4	1,30 B	1,32 C	1,37 CD	1,38 B	1,46 BC	1,48 B
S5	1,63 A	1,61 B	1,66 B	1,67 A	1,57 ABC	1,64 AB
S6	1,79 A	1,80 AB	1,79 AB	1,77 A	1,68 AB	1,80 A
S7	1,76 A	1,75 AB	1,79 AB	1,75 A	1,72 AB	1,78 A
S8	1,81 A	1,86 A	1,88 A	1,76 A	1,79 A	1,81 A
Teste F	30,94**	35,47**	31,87**	19,94**	7,84**	10,00**
DMS (5%)	0,18	0,19	0,20	0,19	0,26	0,23
Teste F para interação tratamento <i>versus</i> semana	3,55**	1,99*	1,78*	1,36 <sup>ns</sup>	1,02 <sup>ns</sup>	1,26 <sup>ns</sup>

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).

\* Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo a 5% de probabilidade.

Para a análise de variância os dados foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ .

No período da 1<sup>a</sup> a 4<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos às infecções todos os tratamentos utilizados apresentaram baixas quantidades de doença (Figura 08), dado ao pequeno tamanho dos frutos e a um menor espaço específico para que os mesmos pudessem ser atingidos pelos ascósporos. O tratamento constituído pelo fungicida carbendazim diferiu significativamente do pyraclostrobin e da

testemunha, a partir da 5ª semana de exposição os frutos, período esse que se constatou progressivo aumento da doença.

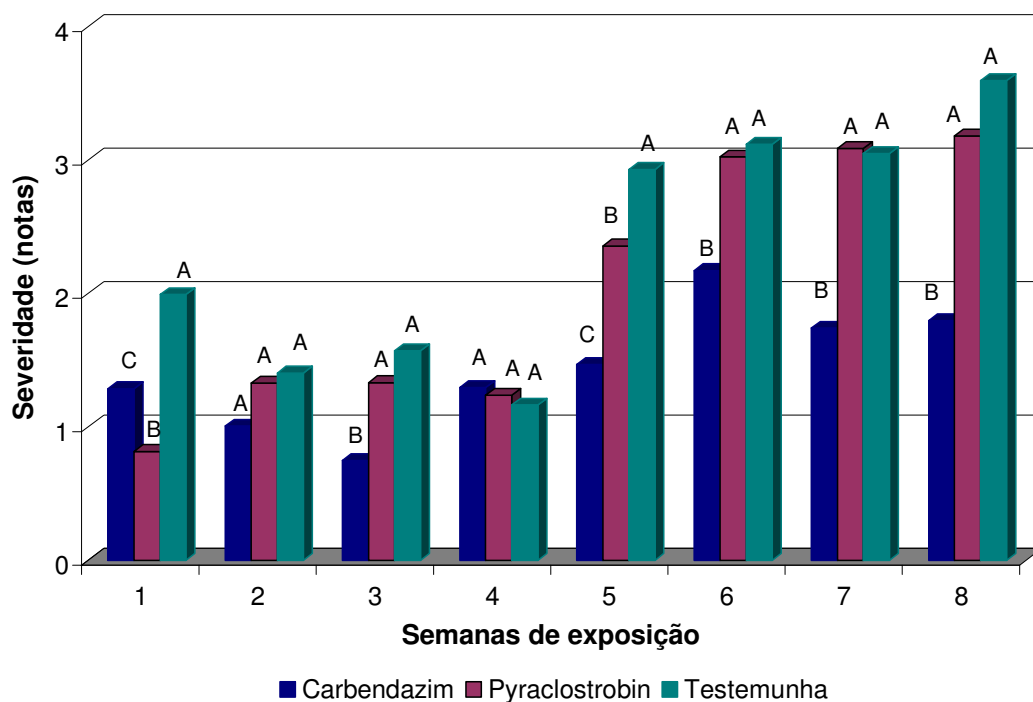


Figura 08: Índice de doença em frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

De acordo com os dados contidos na Figura 09, observa-se que a partir da 5ª semana de exposição dos frutos ao patógeno, houve um aumento significativo no nível de severidade da doença em todos os tratamentos avaliados. Entretanto neste período os tratamentos constituídos por fungicidas diferenciaram estatisticamente entre si e em relação a testemunha.

Os níveis de severidade da doença variaram de 0,65 a 2,08 nos frutos tratados com carbendazim e de 0,90 a 3,27 naqueles tratados com pyraclostrobin. Denota-se assim que somente na 7ª e 8ª semanas de exposição dos frutos, o tratamento constituído por pyraclostrobin atingiu valores considerados críticos

quanto ao potencial de queda de frutos, a qual situa-se num valor maior ou igual a 3,0 (FAGAN & GOES, 2000). No caso da testemunha, a partir da 5ª semana de exposição dos frutos ao patógeno, os valores de severidade já alcançaram níveis considerados críticos, comprovando a elevada disponibilidade de inóculo neste período. A média de severidade observada nos frutos tratados com carbendazim e pyraclostrobin situou-se entre 1 e 2, enquanto que nos frutos pertencentes ao tratamento testemunha situou-se entre 3 e 4.

A evolução no nível de severidade da doença observada a partir da 5ª semana de exposição dos frutos às infecções fez com que houvesse uma grande queda de frutos sintomáticos, aumentando significativamente o nível de severidade da doença. Essa queda de frutos sintomáticos proporcionou uma aproximação das médias na quarta avaliação, não apresentando interação significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos avaliados e as semanas em que os frutos ficaram expostos à doença. Esse aumento na quantidade de frutos com elevado nível de severidade na quarta avaliação, pode ser comprovado analisando-se o nível de incidência (Figura 05).

O aumento na severidade da doença é proporcional à medida que há avanço no nível de maturidade dos frutos. Desta forma, antecipar o início da colheita dos frutos, constitui-se em elemento importante como estratégia visando a redução dos prejuízos resultantes da elevada expressão de sintomas. Segundo VANDERPLANK (1963), a velocidade do aumento da doença é proporcional à própria quantidade de doença e à quantidade de tecido sadio disponível, uma vez que, o que realmente se determina no campo é o tecido com aparência doente, ou seja, aquele tecido infectado que já passou por um período de incubação. Assim, elevado nível de severidade, além de comprometer a aparência dos frutos, afeta também a produtividade devido à acentuada queda dos frutos.

Estes dados estão coerentes com os resultados obtidos por FAGAN & GOES (1999), onde observaram que existe uma correlação positiva entre severidade de sintomas, especialmente oriunda dos sintomas dos tipos mancha dura e mancha virulenta, e o percentual de queda de frutos. Neste caso, cuja área experimental possui histórico da doença, a elevada expressão dos sintomas deve,

na medida do possível, compatibilizar o período de colheita em períodos que precedem esse elevado nível de frutos sintomáticos.

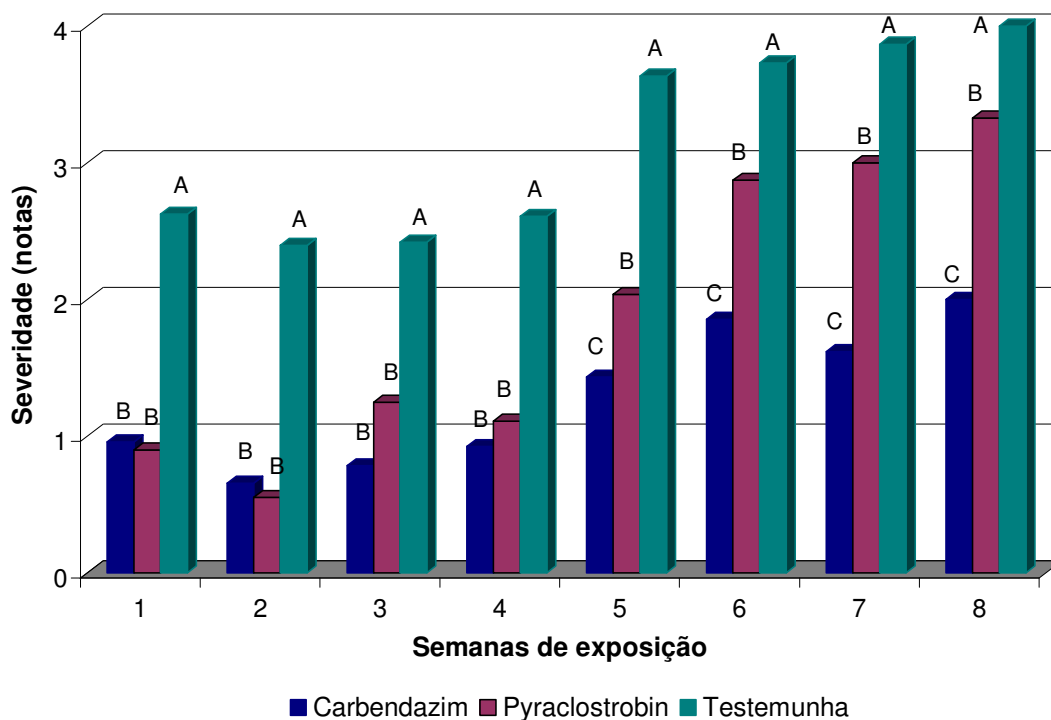


Figura 09: Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobim, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

## 4.2. Resultados da segunda fase

### 4.2.1. Incidência

Os resultados do teste de significância encontram-se apresentados na Tabela 04, onde observa-se que houve diferenças significativas entre as avaliações ( $p \leq 0,05$ ), devido ao incremento natural dos seus valores de incidência ao longo do tempo. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa

( $p \geq 0,05$ ) para o efeito das semanas, apresentando comportamento similar em todas as semanas de exposição ao patógeno, em todas as avaliações.

Tabela 04: Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin na Incidência da doença em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa* e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento *versus* semana e os respectivos valores de D.M.S. Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Tratamento	Avaliação 1	Avaliação 2	Avaliação 3	Avaliação 4	Avaliação 5	Avaliação 6
Carbendazim	25,97 B	32,46 B	25,59 B	35,96 B	22,36 B	31,74 B
Pyraclostrobin	52,28 AB	50,97 AB	48,31 B	31,33 AB	53,43 A	60,52 A
Testemunha	64,67 A	69,98 A	75,38 A	74,25 A	66,00 A	70,87 A
Teste F	6,82**	7,25**	12,92**	5,87**	10,71**	7,90**
DMS (5%)	25,69	24,43	24,31	28,19	24,08	25,31
<b>Semanas</b>						
S1	40,87 A	44,32 AB	45,71 AB	52,90 AB	45,38 A	57,65 A
S2	47,46 A	48,36 AB	48,41 AB	57,87 AB	44,04 A	53,72 A
S3	49,83 A	56,35 AB	57,55 AB	63,50 A	52,97 A	58,67 A
S4	56,88 A	61,21 A	62,13 A	67,50 A	49,69 A	59,86 A
S5	51,69 A	53,55 AB	45,70 AB	54,34 AB	55,48 A	54,85 A
S6	49,57 A	52,17 AB	45,35 AB	57,88 AB	49,17 A	52,50 A
S7	45,45 A	50,39 AB	52,14 AB	59,19 AB	45,64 A	54,00 A
S8	41,51 A	42,78 B	41,07 B	44,26 B	35,70 A	43,77 A
Teste F	1,69 <sup>ns</sup>	2,10*	2,92**	2,62*	1,29 <sup>ns</sup>	0,86 <sup>ns</sup>
DMS (5%)	17,72	18,24	17,90	18,79	23,29	23,43
Teste F para interação tratamento <i>versus</i> semana	2,96**	3,21**	3,35**	2,41**	2,97**	1,95*

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).

\* Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo a 5% de probabilidade.

Para a análise de variância os dados foram transformados em arcoseno  $\sqrt{P/100}$ .

De acordo com os dados referentes à Figura 10, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos constituídos por fungicidas nas duas primeiras semanas em que os frutos ficaram expostos à infecção. No tratamento constituído por pyraclostrobin observa-se que nas quatro primeiras semanas em que os frutos ficaram expostos às infecções naturais houve um incremento significativo no nível de incidência, sendo possível prognosticar o elevado nível de expressão dos sintomas. Todavia, a frequência e a quantidade das chuvas ocorrida neste período de experimentação (Figura 15) não podem ser subestimadas, uma vez que a mesma certamente contribuiu para a formação e liberação dos ascósporos.

O carbendazim manteve-se estável em todas as semanas cujos frutos ficaram expostos à infecção, apresentando baixos níveis de incidência. Por outro lado, no tratamento testemunha os níveis de doença foram significativamente elevados em todo período de exposição em questão, comprovando a elevada disponibilidade de inóculo na primeira avaliação.

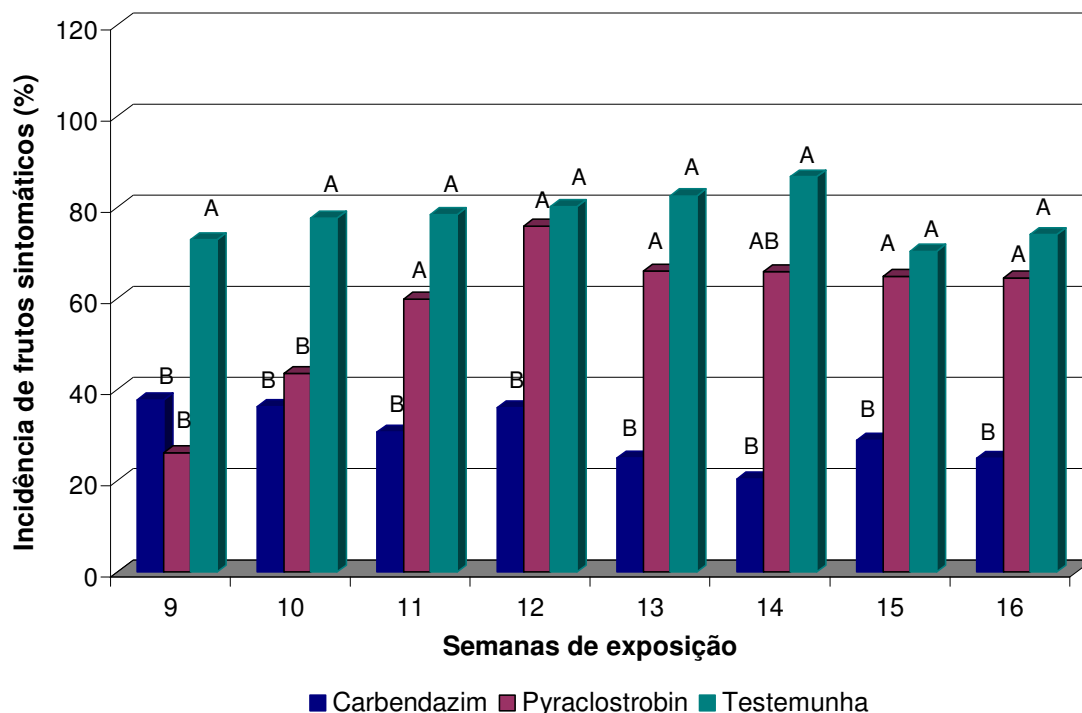


Figura 10: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Na Figura 11, observa-se que o pyraclostrobin embora tenha se mostrado eficiente no controle da doença, sua eficiência manteve-se mais consistente nas duas primeiras semanas de exposição dos frutos, cujo nível de controle foi relativamente similar ao carbendazim. Entretanto, nas semanas subseqüentes não diferiu estatisticamente da testemunha ( $p \geq 0,05$ ), com exceção da 14<sup>a</sup> semana de exposição ao patógeno.

Comparando a eficiência dos fungicidas testados, denota-se que o carbendazim manteve-se estável em todas as semanas em que os frutos ficaram expostos, sendo obtidos baixos níveis de incidência, comprovando sua eficiência no controle da doença. No caso dos frutos do tratamento testemunha, os níveis de doença foram comparativamente mais elevados, independente das semanas cujos

frutos ficaram expostos às infecções. Também observa-se no tratamento testemunha que na 15ª e 16ª semana de exposição dos frutos ocorreu uma queda dos valores dos níveis de incidência. Tal fato deveu-se à queda dos frutos com elevado nível de severidade (frutos com notas de valores superiores a 3,0), subestimando a média do tratamento.

O carbendazim apresentou uma eficácia comparativamente superior ao observado nos frutos tratados nas primeiras semanas após a queda de pétalas, onde a média dos níveis de incidência da doença variaram de 56% na primeira fase, para 47% na segunda fase.

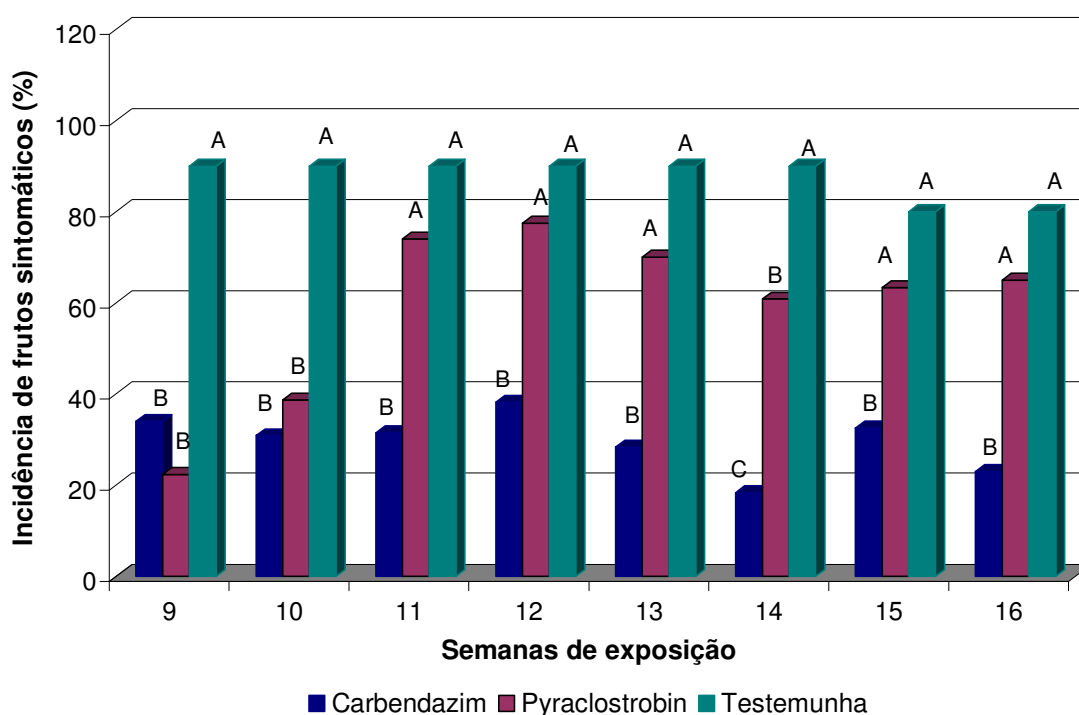


Figura 11: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



Conforme dados apresentados na Figura 12 observa-se que no tratamento constituído por pyraclostrobin ocorreu um aumento significativo nos níveis de incidência da doença ao longo das semanas cujos frutos ficaram expostos, especialmente a partir da 11<sup>a</sup> semana, não sendo detectado diferença estatisticamente significativa com o tratamento testemunha. Entretanto, o fungicida carbendazim manteve-se estável em praticamente todas as semanas cujos frutos ficaram expostos, apresentando uma queda no nível de incidência na 14<sup>a</sup> semana. Houve incremento significativo nos níveis de incidência da doença, ao longo das avaliações, passando de 65% na primeira avaliação para 82% na última avaliação.

Durante as avaliações realizadas observou-se que aproximadamente 92% dos sintomas corresponderam aos do tipo mancha preta, confirmando assim que a maioria das infecções foram causadas por ascósporos durante o período de exposição dos frutos. Dessa forma, denota-se que a maioria dos sintomas observados originou de ascósporos, embora não se subestime a influência e correspondente importância dos picnidiósporos. Por outro lado, foi verificada a presença de número desprezível de frutos com sintomas do tipo falsa melanose, originários tipicamente de picnidiósporos, certamente favorecido pela ocorrência de chuvas no período subsequente dos frutos.

De acordo com McONIE (1964<sub>a</sub>), há uma relação entre a expressão de sintomas do fruto e liberações de ascósporos, fato esse confirmado por REIS (2002). Segundo esse mesmo autor existem fortes relações entre os picos de liberação de ascósporos e índices de severidade da doença.

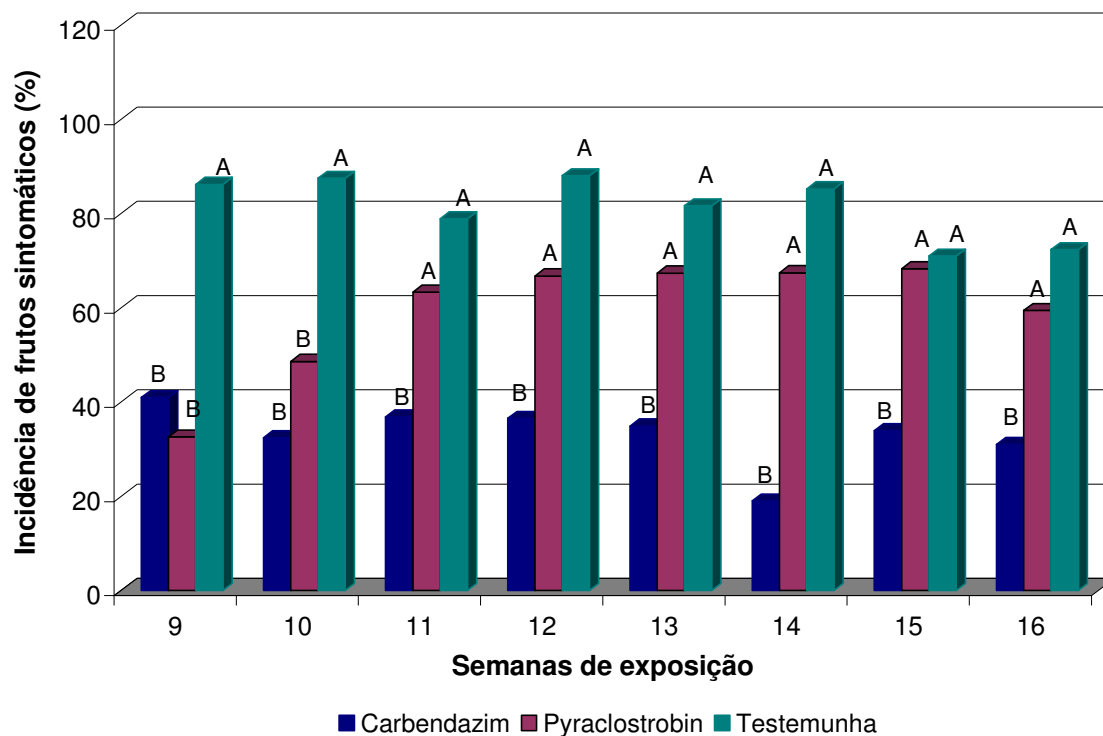


Figura 12: Comparação entre as médias das avaliações (entre a 9<sup>a</sup> e 16<sup>a</sup> semanas), quanto à Incidência da mancha preta (em porcentagem), em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, em condições naturais de infecção. Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.

#### 4.2.2. Severidade

Quanto à severidade, medida pelo índice de doença, observa-se que não houve diferenças estatisticamente significativas ( $p \geq 0,05$ ) entre o fungicida pyraclostrobin e a testemunha nas duas primeiras avaliações (Tabela 05). Observa-se também que na 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> avaliações os fungicidas testados não diferiram entre si, apresentando comportamento similar e eficiente no controle da doença. Não foi verificada diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) para o efeito das semanas, apresentando comportamento similar em todas as semanas de exposição ao patógeno, em todas as avaliações.

Tabela 05: Efeito da época de aplicação dos fungicidas carbendazim e pyraclostrobin no Índice da doença (ID) em frutos de laranja 'Valência' expostos ao fungo *Guignardia citricarpa* e dados correspondentes ao teste de significância dos tratamentos, das semanas de exposição dos frutos ao patógeno e da interação tratamento *versus* semana e os respectivos valores de D.M.S. Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Tratamento	Avaliação 1	Avaliação 2	Avaliação 3	Avaliação 4	Avaliação 5	Avaliação 6
Carbendazim	1,04 B	1,12 B	1,02 B	1,11 B	1,00 C	1,05 C
Pyraclostrobin	1,39 A	1,37 AB	1,30 B	1,40 B	1,35 B	1,42 B
Testemunha	1,55 A	1,57 A	1,75 A	1,76 A	1,72 A	1,87 A
Teste F	7,21**	5,91**	15,66**	10,17**	14,42**	16,35**
DMS (5%)	0,34	0,32	0,32	0,36	0,33	0,35
<b>Semanas</b>						
S1	1,26 A	1,25 A	1,28 B	1,38 AB	1,34 A	1,47 A
S2	1,28 A	1,28 A	1,32 AB	1,39 AB	1,33 A	1,43 A
S3	1,35 A	1,39 A	1,47 AB	1,51 A	1,42 A	1,48 A
S4	1,46 A	1,45 A	1,51 A	1,53 A	1,47 A	1,55 A
S5	1,37 A	1,43 A	1,32 AB	1,38 AB	1,46 A	1,45 A
S6	1,34 A	1,35 A	1,32 AB	1,47 AB	1,37 A	1,45 A
S7	1,30 A	1,37 A	1,36 AB	1,47 AB	1,27 A	1,42 A
S8	1,25 A	1,29 A	1,24 B	1,27 B	1,19 A	1,34 A
Teste F	1,78 <sup>ns</sup>	1,87 <sup>ns</sup>	3,07**	2,36*	1,84 <sup>ns</sup>	0,66 <sup>ns</sup>
DMS (5%)	0,22	0,23	0,23	0,23	0,30	0,31
Teste F para interação tratamento <i>versus</i> semana	3,42**	3,31**	3,10*	2,26**	2,78**	1,82*

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1% ( $p \leq 0,01$ ).

\* Significativo a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup> Não significativo a 5% de probabilidade.

Para a análise de variância os dados foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ .

De acordo com os dados da Figura 13, pode-se verificar que nas duas primeiras semanas de exposição dos frutos à doença, não se observou diferença significativa entre os tratamentos com fungicidas. O carbendazim apresentou níveis de eficiência estáveis em praticamente todas as semanas de exposição dos frutos, com exceção da 14<sup>a</sup> semana, onde o nível de severidade foi mais baixo.

O pyraclostrobin em comparação com o carbendazim apresentou níveis de severidade mais elevados para a maioria das semanas cujos frutos ficaram expostos ao patógeno, não diferenciando estatisticamente da testemunha a partir da 12ª semana de exposição dos frutos.

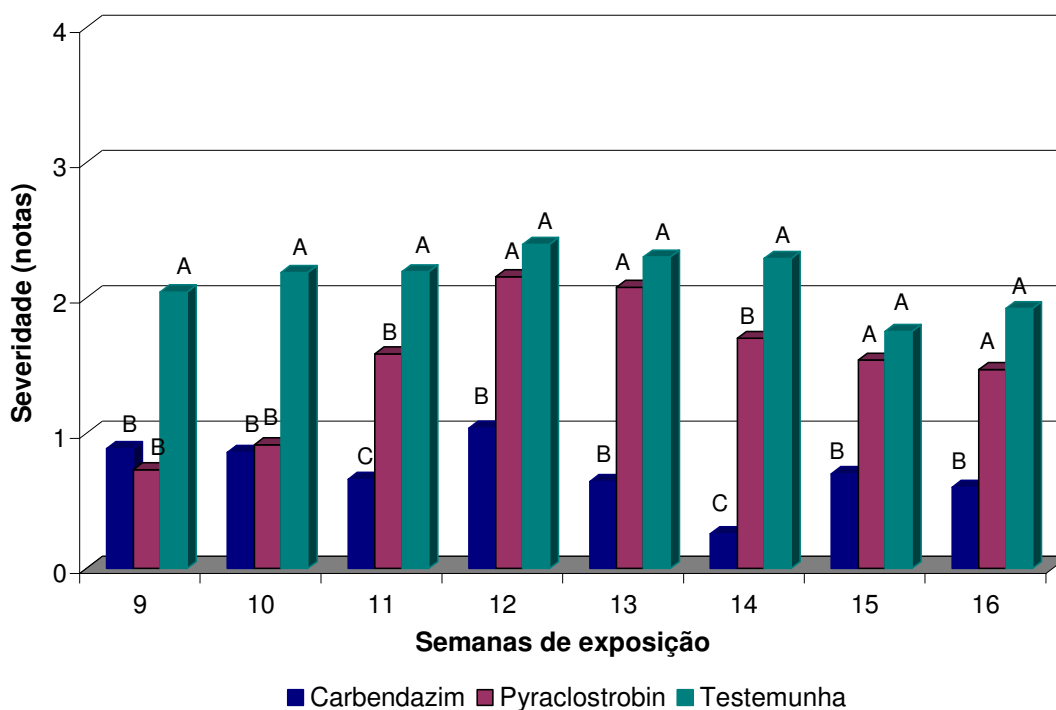


Figura 13: Índice de doença em frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na primeira avaliação (17/07/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Verifica-se, através da Figura 14, que, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos constituídos por fungicidas nas duas primeiras semanas cujos frutos ficaram expostos às infecções naturais. Nas semanas subsequentes, observa-se que ambos os fungicidas controlaram a doença, diferindo estatisticamente entre si e o tratamento testemunha, o qual apresentou índices de severidade elevado em todas as semanas cujos frutos ficaram expostos ao patógeno.

Os valores do índice de doença variaram de 0,30 e 0,90 nos frutos tratados com carbendazim e de 0,49 a 1,98 naqueles tratados com pyraclostrobin. Denota-se assim que, em nenhum dos casos as médias observadas atingiram valores com nota acima de 3,0, considerados críticos quanto ao potencial de queda de frutos, como demonstrado por FAGAN & GOES (1999). Contrariamente, no caso da testemunha, em praticamente todas as semanas de exposição dos frutos à doença foram obtidos valores acima de 3,0, o que demonstra o alto nível de severidade da doença, mesmo em frutos estando expostos por apenas uma semana. Este fato demonstra que, em áreas de elevado nível de inóculo, como no presente caso, mesmo sob curto período de exposição, há a possibilidade de grande expressão de sintomas.

No tratamento testemunha, observa-se que na 15<sup>a</sup> e 16<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos ao patógeno, foi registrada notas 2,60 e 2,50, respectivamente, sendo inferior à observada nas semanas anteriores. Tal fato deveu-se à queda de frutos com notas de valores superiores a 3,0, tornando subestimada a média do tratamento.

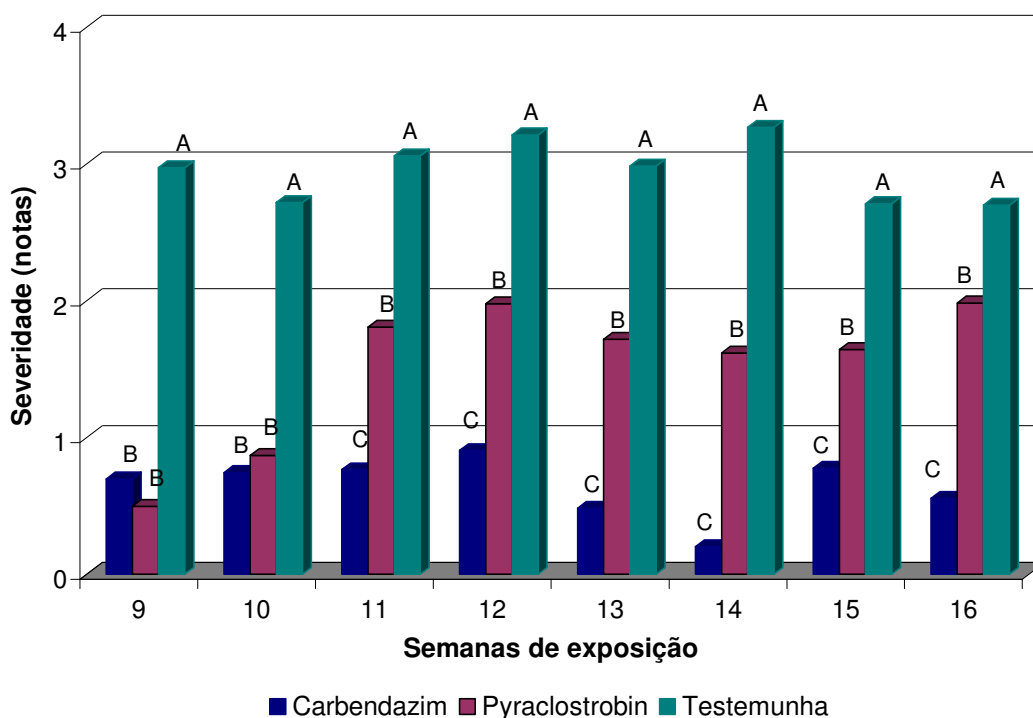


Figura 14: Índice de doença em frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na terceira avaliação (18/08/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.

Observa-se na segunda fase do experimento que embora os frutos tenham sido tratados quando encontravam-se com 9 semanas após a queda de pétalas, ou seja, com o tamanho aproximado de uma bola de “ping pong”, que corresponde a 3,8 cm de diâmetro, verificou-se que a eficiência dos fungicidas manteve-se inalterada, sendo que, no caso do carbendazim, tal eficácia foi comparativamente superior ao observado nos frutos tratados nas primeiras semanas após a queda de pétalas. No caso do pyraclostrobin, embora o mesmo tenha se mostrado eficiente no controle da doença, sua efetividade manteve-se mais consistente nas duas primeiras semanas, ao contrário de carbendazim, cuja eficiência estendeu-se pelas 6 semanas seguintes.

Na segunda fase do experimento foi observado comportamento semelhante ao verificado na primeira fase, destacando-se os tratamentos constituídos por

pyraclostrobin e carbendazim, os quais proporcionaram bom controle da doença, apresentando níveis de severidade estatisticamente inferior ao observado na testemunha.

Dentre ambos os fungicidas avaliados, observa-se que o carbendazim teve um melhor controle, nas duas etapas do experimento. Isso provavelmente ocorreu em função de uma melhor sistemicidade do carbendazim, associado a um efeito protetor adicional. Tais propriedades permitem que tal ingrediente ativo tenha a capacidade de ser absorvido pela planta e manter-se estável por um período relativamente longo.

De acordo com a literatura (DELP, 1995), a molécula do carbendazim quando em contato com os tecidos da planta, é absorvido e translocado pelo xilema, degradando-se lentamente e apresentando dessa forma uma atividade residual por um período mais longo, razão pela qual proporcionou um maior período de proteção. Segundo esse mesmo autor, a molécula tóxica do produto corresponde ao próprio carbendazim, o qual não apresenta característica de lipofilia. Dessa forma, quando em contato com a planta, o fungicida é absorvido, sendo tóxico para os patógenos que penetram através da cutícula. Como os frutos foram ensacados após o tratamento, é possível que os resíduos do fungicida existente na superfície dos frutos também tenham contribuído para o controle da doença, dada à sua capacidade protetora.

Os dados de eficiência do carbendazim evidenciados nesse experimento mostram-se coerentes às respostas que têm sido observadas sob condições naturais de infecção, quando tem sido verificado que esse produto tem conferido bom controle da doença, mesmo quando aplicado em intervalos de 55 dias, entre duas pulverizações específicas para o controle da mancha preta dos citros (SCHUTTE et al., 1996; GOES & WIT, 1999). Embora, em termos de incidência os níveis observados no tratamento realizado com pyraclostrobin tenham sido semelhantes aos observados na testemunha, quando se analisa os valores de severidade, verifica-se que há diferença estatisticamente significativa entre ambos. Tal fato deveu-se ao critério de avaliação para incidência, uma vez que se levou em conta apenas aspectos qualitativos.

Quando se compara a eficiência do fungicida carbendazim nas fases iniciais de desenvolvimento dos frutos, ou seja, após poucas semanas da queda de pétalas, e a observada após a 9ª semana, denota-se que na segunda fase esse fungicida apresentou uma eficiência por um período mais prolongado, embora a quantidade de ascósporos liberados tenha sido significativo, como demonstra a quantidade de doença observada no tratamento testemunha, neste mesmo período. Admite-se que tal fato deve-se a vários fatores, como exemplo (i) uma rápida metabolização do ingrediente ativo nas fases iniciais de desenvolvimento dos frutos e, na segunda fase, (ii) em detrimento de uma metabolização mais lenta, o produto permaneceu estável por um maior período de tempo e, finalmente, (iii) dada a uma maior superfície específica do fruto, permitindo maior possibilidade de absorção e acúmulo. Além da rápida metabolização dos fungicidas, o rápido crescimento dos frutos nas primeiras semanas, com crescimento de cerca de 7 vezes num período de 8 semanas também deve ter contribuído à existência de espaços físicos vazios, sem proteção dos fungicidas.

No caso do pyraclostrobin observou-se que embora eficiente no controle de *G. citricarpa*, a extensão do mesmo foi semelhante à observada para carbendazim na fase em que os frutos encontravam-se mais jovens. Entretanto, nas fases subseqüentes, particularmente da 9ª a 16ª semana cujos frutos ficaram expostos às infecções naturais, sua eficiência foi inferior àquela obtida mediante o emprego de carbendazim. Tal resultado constitui-se em indicação de que o pyraclostrobin apresenta um efeito inicial mais rápido, porém o mesmo vai decaindo nas fases subseqüentes. Dessa forma, estes dados mostram-se divergentes àqueles encontrados na literatura onde se ressalta que esse fungicida apresenta uma ação inicial lenta, porém, ao longo do tempo, devido à contínua liberação da substância ativa nos tecidos da planta, sua eficiência torna-se gradativamente mais elevada (BASF, 2004). O pyraclostrobin faz parte do grupo das estrobilurinas, que inibem a respiração mitocondrial bloqueando a transferência de elétrons ao complexo bc1 dos fungos, e ao mesmo tempo inibe a germinação dos esporos, o desenvolvimento do tubo germinativo e a esporulação dos fungos (PICCININI,



1994), é possível que por ocasião do tratamento o fungo já estivesse alcançado o interior dos tecidos, estando, pois, em profundidade aquém do alcance do ingrediente ativo. De acordo com a literatura a substância ativa do pyraclostrobin se difunde no interior do tecido vegetal, a curtas distâncias, formando depósitos nas áreas de cobertura cerosa da epiderme que não foram atingidas diretamente pelo fungicida (BASF, 2004).

Ao longo das semanas avaliadas os frutos apresentaram sintomas, indicando que o nível de resistência natural dos tecidos não foi suficiente para impedir o desenvolvimento da infecção do fungo, estando esses suscetíveis durante todo período de avaliação, que foi de 16 semanas após a queda das pétalas, convergindo com dados citados por KELLERMAN & KOTZÉ (1977). Entretanto, segundo KIELY (1948), esse período crítico de suscetibilidade dos frutos, nas condições da África do Sul, varia de 17 a 21 semanas. Segundo CALAVAN (1960), para as condições da Austrália, o período de suscetibilidade dos frutos de laranjeira 'Valência' não foi completamente determinado, podendo, no entanto, alcançar cerca de 6 meses após a queda das pétalas.

Durante as avaliações constatou-se que 92% dos sintomas observados corresponderam aos do tipo mancha preta, indicando que a maioria das infecções foram causadas por ascósporos durante o período de exposição dos frutos. Entretanto, a incidência de sintomas do tipo falsa melanose também se mostrou evidente, com indicações, portanto de que não se deve subestimar importância dos conídios, especialmente nos pomares mais velhos, com plantas mais debilitadas e contendo maior quantidade de galhos secos.

Em relação ao tratamento testemunha, observou-se que durante todas as semanas de avaliação do experimento esse tratamento apresentou um índice de doença maior, comparando-se com os demais tratamentos. No campo, a incidência da doença nos frutos pertencentes à testemunha foi de cerca de 100%, cujos níveis de severidade foram igualmente elevados, ao contrário das situações observadas nos tratamentos com fungicidas, onde a incidência e a severidade da doença foram relativamente baixas, demonstrando, portanto a necessidade de controlar a doença. Constatou-se também no tratamento testemunha uma elevada

queda de frutos oriundos das elevadas infecções ocorridas.

A expressiva incidência de sintomas observada em frutos pertencentes ao tratamento testemunha e em menor extensão nos frutos tratados denotam a existência de grande quantidade de inóculo na área experimental, representado pelos ascósporos, acompanhados de condições ambientais favoráveis para ocorrência da doença.

Os valores de incidência e severidade da doença variam em função dos tratamentos e das semanas as quais os frutos ficaram expostos. Em termos práticos, os maiores níveis de incidência e severidade ocorreram nas últimas semanas, nas duas etapas do experimento, quando os fungicidas apresentaram menor eficiência.

A elevada incidência e severidade de sintomas da doença observadas nos diferentes tratamentos são indicações que, de acordo com a disponibilidade de inóculo existente no local, o uso de pulverizações é recomendável quando o alvo com a fruta produzida seja o do seu processamento industrial uma vez que, o nível de sintomas apresentados pelos frutos, inviabilizaria a sua comercialização visando o mercado *in natura*.

O controle da mancha preta dos citros, em condições práticas, é feito através de fungicidas, iniciando-se com duas aplicações de fungicidas cúpricos, em intervalos de 4 semanas, sendo a primeira na fase de  $\frac{3}{4}$  de pétalas caídas. Em pomares com histórico da MPC, tais pulverizações, no caso de laranjas doces, visam essencialmente o controle de verrugose, causada por *Elsinoe australis* Bit. & Jenk, melanose (*Diaporthe citri* Wolf) e *G. citricarpa*, já que nessa fase os frutos mostram-se suscetíveis a todos esses patógenos. Posteriormente, em menor extensão são realizadas pulverizações adicionais com fungicidas protetores, especialmente os cúpricos, naqueles mesmos intervalos, ou, com maior intensidade mediante o uso de fungicidas sistêmicos associado a um fungicida protetor, em mistura em tanque, acrescido de óleo vegetal ou mineral a 0,5%. Nesse caso o intervalo de pulverização varia de 35 a 42 dias. Com tais procedimentos visa-se garantir um grande período de proteção dos frutos, já que esses mostram-se suscetíveis por pelo menos até a 24<sup>a</sup> semanas após a queda

de pétalas (KOTZÉ, 1981; BALDASSARI, 2001).

No presente estudo observa-se que no caso da laranjeira 'Valência', em local cuja disponibilidade de inóculo seja elevada, como no caso da região de Rincão/SP, dentro do período crítico de suscetibilidade dos frutos, representa um risco real quanto à produção de frutos severamente infectados.

Em experimentos realizados por GOES (comunicação pessoal\*) visando o controle da MPC têm se utilizado diferentes combinações de tratamentos constituídos por pulverizações de fungicidas protetores nas fases de  $\frac{3}{4}$  de pétalas caídas e 28 dias após a primeira, seguido de duas pulverizações de fungicidas sistêmicos acrescido de protetor ou, alternando tais tratamentos, iniciando-se pela aplicação do fungicida protetor. Segundo esse mesmo autor, a combinação mais eficiente correspondeu àquela onde a aplicação de fungicidas sistêmicos foi realizada após duas aplicações de protetores. Tais resultados são indicações de que nas fases iniciais de desenvolvimento dos frutos, a eficiência da combinação sistêmicos e protetores não proporcionam o nível de controle desejável, ou esses foram inferiores àqueles realizados de forma seqüencial, iniciado aos 60 dias após a queda das pétalas.

Na África do Sul, mesmo utilizando-se fungicidas de ação unicamente protetora é possível obter cerca de 94% de frutos sem sintomas (SCHUTTE & KOTZÉ, 1997). Na Argentina, as vezes com uma única pulverização de fungicida sistêmico obtém-se até 100% de frutos sadios (GARRÁN, 1996). No Brasil, em condições práticas, mesmo sob boas condições operacionais de aplicação de fungicidas, os níveis de controle da doença mostram-se aquém dos níveis almejados, onde a porcentagem de frutos sem sintomas normalmente não excede a 70% (GOES, comunicação pessoal\*). Tais diferenças nos níveis de controle se devem a fatores bioecológicos e disponibilidade de inóculo. Na África do Sul os pomares são, na sua totalidade, irrigados, fazendo com que a queda de folhas não seja tão concentrada como no Brasil, já que em nossas condições os pomares não são irrigados e conta-se com um período de baixa ocorrência de chuvas e baixa umidade relativa por um período de pelo menos 120 dias, de maio a agosto, propiciando uma elevada desfolha. Além disso, na África do Sul, as chuvas são

\* A. de Goes, professor UNESP-FCAV. Departamento de Fitossanidade.

normalmente de baixa intensidade e de menor frequência, e se concentram num período de 90 a 120 dias, indo da segunda quinzena de outubro até a primeira quinzena de fevereiro, ao contrário no Brasil, cujas chuvas ocorrem com maior frequência, maior intensidade e por um período mais longo. Dessa forma, enquanto que na África do Sul conta-se com poucos picos de liberação de ascósporos, porém de alta intensidade, no Brasil esses são em grande número, porém de forma intermitente, propiciando à ocorrência da doença por um período mais extenso, já que os frutos mostram-se suscetíveis por um longo período de tempo.

A média geral da incidência da doença, nas duas etapas do experimento, obtidas no presente trabalho foram de 52% para carbendazim, 75% para pyraclostrobin e 94% para a testemunha. Os valores médios de severidade foram 1,27 para carbendazim, 2,02 para pyraclostrobin e 3,25 para a testemunha. Admite-se que a ocorrência da doença em tais níveis ocorreu em função de uma menor deposição do produto que aquela resultante das pulverizações convencionais, já que essa proporciona uma deposição adicional resultante da névoa formada e dos respingos que naturalmente ocorrem após as pulverizações. Além disso, por tratar-se de aplicação pontual, o efeito da evaporação intra-planta aparentemente mostra-se mais evidente, restringindo a quantidade de deposição dos fungicidas. Também não se deve menosprezar a importância da quantidade de fungicida eventualmente translocado ou absorvido resultante das pulverizações, dado ao seu maior volume aplicado.

### **4.3. Relação entre Índice de doença e precipitação (mm)**

Conforme dados contidos na Figura 15, observa-se que a partir da 11<sup>a</sup> semana de exposição dos frutos à doença, os níveis de severidade observados no tratamento com carbendazim praticamente se manteve inalterado, com níveis mais baixos de doença. Para os demais tratamentos, os níveis de doença observados mantiveram-se também inalterados, porém, com níveis mais elevados de severidade, especialmente o tratamento testemunha.

Pode-se observar também que não houve relação entre os tratamentos utilizados e a precipitação pluviométrica, em consequência do ensacamento realizado na instalação do experimento.

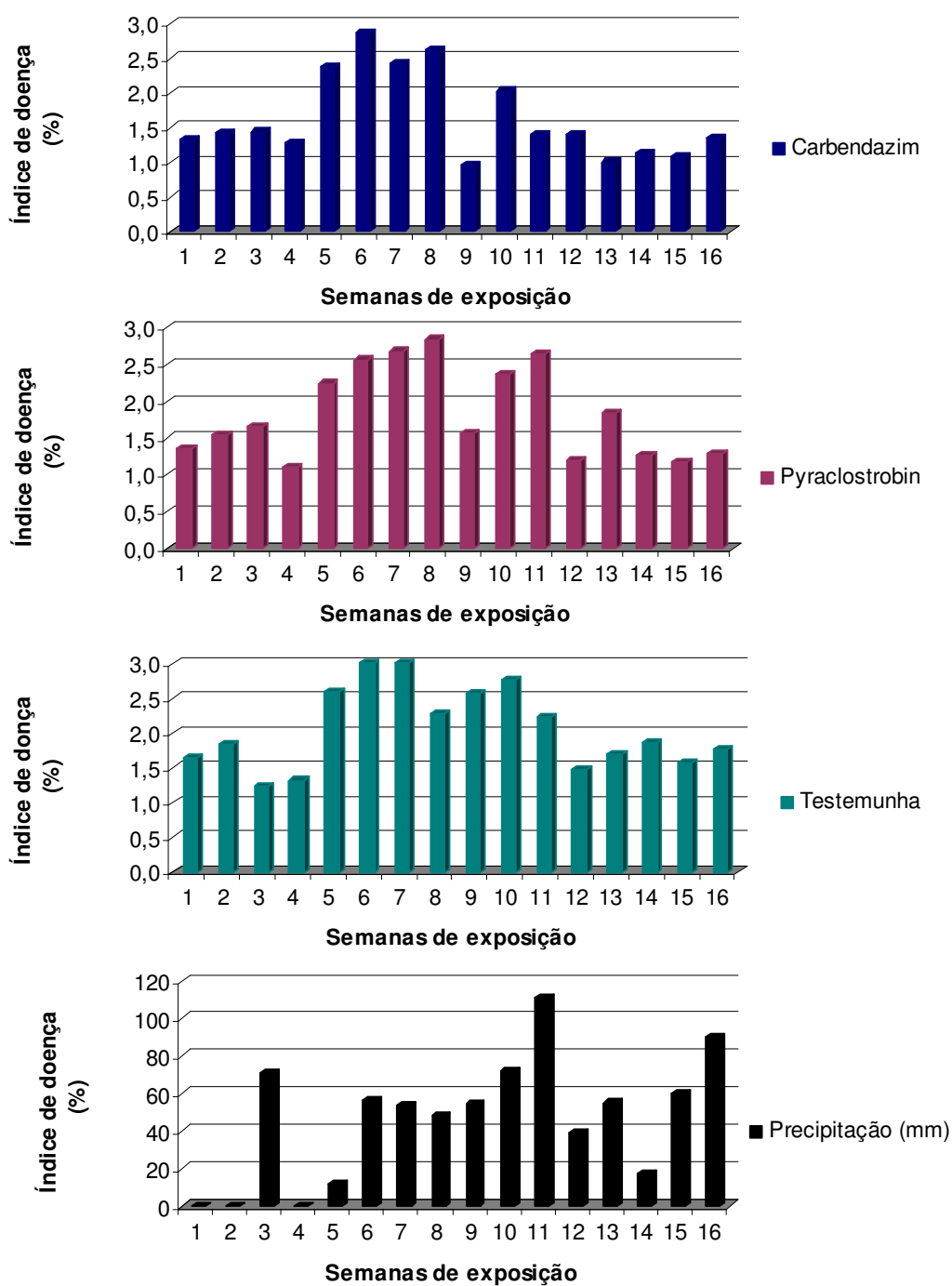


Figura 15: Valores do Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' e precipitação pluviométrica (mm), correspondente entre a 1ª (23/09/2003) e a 16ª (06/01/2004) semana de exposição dos frutos às infecções naturais de *Guignardia citricarpa*. Jaboticabal/SP, 2006.

#### 4.4. Curva de crescimento dos frutos

Durante o desenvolvimento do experimento foi medido o diâmetro de 40 frutos de cada tratamento e de frutos que foram mantidos sem ensacamento. A curva de crescimento de tais frutos apresenta-se ilustrado na Figura 16, cujos dados foram coletados a partir da terceira semana após a queda de  $\frac{3}{4}$  de pétalas, até a colheita do experimento, realizada em 11/09/2004. Não se observou diferenças estatisticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) nas taxas de crescimento dos mesmos, o que, de certa forma, demonstra que o ensacamento ou o uso dos fungicidas não alteraram o desenvolvimento dos frutos e, presumivelmente, também não afetaram suas atividades fisiológicas.

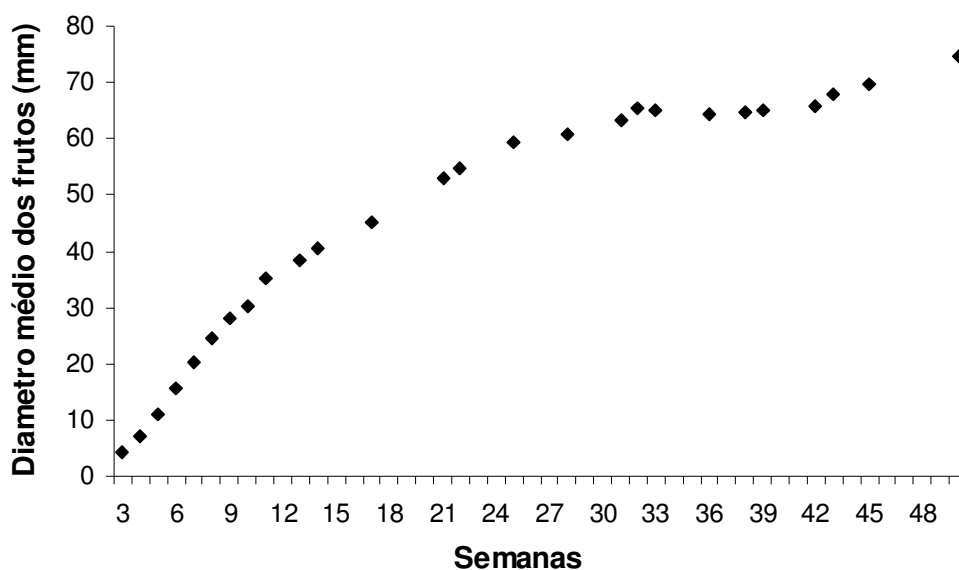


Figura 16: Curva de crescimento de frutos de laranjeira 'Valência', entre a terceira semana de exposição dos frutos às infecções naturais de *Guignardia citricarpa*, após a queda de  $\frac{3}{4}$  de pétalas (06/10/2003) até a colheita (04/09/2004). Jaboticabal/SP, 2006.

#### 4.5. Ajuste ao modelo matemático

Para análise dos modelos, adotou-se como referência os valores do índice de doença, já que esses refletem com mais sensibilidade os resultados verificados sob condições de campo.

Segundo CAMPBELL & MADDEN (1990), o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), obtido da regressão linear entre os valores previstos (variável dependente) e observados (variável independente), ambos sem transformação, é uma boa opção para escolher o melhor modelo que se ajusta ao crescimento da doença. Segundo esse mesmo autor, além desse critério, a forma da curva da derivada ( $dx/dt$ ), as estimativas do desvio padrão dos parâmetros  $r$  e  $x_0$  e, mais importante, a plotagem do resíduo padrão ( $x$  observado menos  $x$  previsto) em função da variável independente são os procedimentos estatisticamente mais aconselháveis para a escolha do melhor modelo.

Com base nos dados contidos na Tabela 06, levando-se em conta os preceitos apresentados por CAMPBELL & MADDEN (1990), verifica-se que, de acordo com os valores do desvio padrão de  $x_0$  e o desvio padrão de  $r$ , o modelo monomolecular foi o que melhor se ajustou aos dados, uma vez que, para todos os tratamentos avaliados, apresentou valores consistentemente mais baixos, considerados mais adequados para a escolha do melhor modelo, conforme aqueles autores. Tais resultados foram também validados mediante a plotagem do resíduo padrão (dados não apresentados), os quais mostraram que, em mais de 80% dos casos foi verificado que o modelo monomolecular foi o que se ajustou mais adequadamente aos dados, indicando que plantas infectadas durante o ciclo da cultura não servirão de fonte de inóculo para novas infecções durante o mesmo ciclo, ou seja, não há proporcionalidade entre a velocidade de aumento da doença ( $dx/dt$ ) com a quantidade de doença ( $x$ ), mas sim entre velocidade de aumento da doença e o inóculo inicial ( $x_0$ ).

O aumento na quantidade de doença observado ao longo das avaliações é proporcional à quantidade de folhas infectadas caídas que produziram ascósporos.



O modelo monomolecular teve o melhor ajuste tanto para os frutos testemunha, como para aqueles que receberam tratamento com fungicidas. Estes dados mostram-se convergentes àqueles obtidos por GONZÁLES-JAIMES (2005), onde se verificou que o modelo monomolecular foi o que melhor se ajustou aos dados de progresso dos sintomas de MPC.

Como reportado por SPÓSITO (2003), este modelo é melhor aplicável para o ajuste de dados de doenças com períodos de incubação variável, como é o caso da MPC, para a qual a incubação é mais dependente da fenologia do hospedeiro do que da época de infecção. Estes dados estão em concordância com os obtidos por esse autor, embora este tenha se baseado em índices de incidência e não de severidade.

Tabela 06: Valores do desvio padrão de  $x_0$  e  $r$  usados na escolha do modelo matemático, determinados através dos modelos Monomolecular, Logístico e de Gompertz, em frutos de laranja 'Valência', tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin e expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção nas duas fases do experimento. Jaboticabal/SP, 2006.

Semana	Tratamento	Primeira Fase						Segunda Fase					
		DESvio PADRÃO DE $X_0$			DESvio PADRÃO DE $r^x$			DESvio PADRÃO DE $X_0$			DESvio PADRÃO DE $r^x$		
		Mono	Logit	Gomp	Mono	Logit	Gomp	Mono	Logit	Gomp	Mono	Logit	Gomp
1	Carbendazim	0,0285	0,1212	0,0620	0,0006	0,0027	0,0014	0,0301	0,1311	0,0679	0,0007	0,0029	0,0015
	Pyraclostrobin	0,0670	0,2023	0,1173	0,0015	0,0045	0,0026	0,0349	0,1522	0,0787	0,0008	0,0034	0,0018
	Testemunha	0,2192	0,2335	0,2265	0,0049	0,0052	0,0050	0,0684	0,0964	0,0803	0,0015	0,0021	0,0018
2	Carbendazim	0,0268	0,1481	0,0675	0,0006	0,0033	0,0015	0,0134	0,0536	0,0287	0,0003	0,0012	0,0006
	Pyraclostrobin	0,0483	0,1703	0,0952	0,0011	0,0038	0,0021	0,0464	0,1628	0,0918	0,0010	0,0036	0,0020
	Testemunha	0,0686	0,1180	0,0859	0,0015	0,0026	0,0019	0,1442	0,1644	0,1541	0,0032	0,0037	0,0034
3	Carbendazim	0,0432	0,2718	0,1183	0,0010	0,0061	0,0026	0,0173	0,0776	0,0399	0,0004	0,0017	0,0009
	Pyraclostrobin	0,0416	0,1677	0,0852	0,0009	0,0037	0,0019	0,0244	0,1034	0,0486	0,0005	0,0023	0,0011
	Testemunha	0,0637	0,1541	0,1013	0,0014	0,0034	0,0023	0,1457	0,3380	0,2123	0,0032	0,0075	0,0047
4	Carbendazim	0,0334	0,1038	0,0613	0,0007	0,0023	0,0014	0,0436	0,1235	0,0717	0,0010	0,0028	0,0016
	Pyraclostrobin	0,0421	0,1307	0,0767	0,0009	0,0029	0,0017	0,0159	0,1330	0,0414	0,0004	0,0030	0,0009
	Testemunha	0,0770	0,1237	0,1031	0,0017	0,0028	0,0023	0,2379	0,2636	0,2504	0,0053	0,0059	0,0056
5	Carbendazim	0,0174	0,0839	0,0377	0,0004	0,0019	0,0008	0,0299	0,1319	0,0651	0,0007	0,0029	0,0014
	Pyraclostrobin	0,0284	0,0519	0,0327	0,0006	0,0012	0,0007	0,1053	0,2389	0,1585	0,0023	0,0053	0,0035
	Testemunha	0,0892	0,1178	0,1018	0,0020	0,0026	0,0023	0,0772	0,1196	0,0840	0,0017	0,0027	0,0019
6	Carbendazim	0,0390	0,0960	0,0630	0,0009	0,0021	0,0014	0,0270	0,1330	0,0659	0,0006	0,0030	0,0015
	Pyraclostrobin	0,0485	0,0816	0,0633	0,0011	0,0018	0,0014	0,0296	0,0768	0,0485	0,0007	0,0017	0,0011
	Testemunha	0,0837	0,0798	0,0823	0,0019	0,0018	0,0018	0,2285	0,4068	0,2906	0,0051	0,0091	0,0065
7	Carbendazim	0,0286	0,0900	0,0530	0,0006	0,0020	0,0012	0,0200	0,0903	0,0390	0,0004	0,0020	0,0009
	Pyraclostrobin	0,0303	0,0863	0,0455	0,0007	0,0019	0,0010	0,0376	0,0693	0,0516	0,0008	0,0015	0,0011
	Testemunha	0,0791	0,1129	0,0946	0,0018	0,0025	0,0021	0,1725	0,3958	0,2420	0,0038	0,0088	0,0054
8	Carbendazim	0,0343	0,1019	0,0579	0,0008	0,0023	0,0013	0,0191	0,0702	0,0380	0,0004	0,0016	0,0008
	Pyraclostrobin	0,0474	0,0952	0,0615	0,0011	0,0021	0,0014	0,0508	0,1983	0,0921	0,0011	0,0044	0,0021
	Testemunha	0,1038	0,1422	0,1217	0,0023	0,0032	0,0027	0,2150	0,4345	0,2891	0,0048	0,0097	0,0064

$r^x$ : Valores correspondentes ao desvio padrão da reta.

## 5. CONCLUSÕES

❖ os fungicidas pyraclostrobin e carbendazim, mesmo quando aplicados de forma pontual, sob a forma de imersão em frutos cítricos nas primeiras semanas após a queda de pétalas, não eliminam totalmente as infecções causadas por *G. citricarpa*, possibilitando a expressão de sintomas da doença;

❖ o modelo monomolecular é o modelo matemático que melhor se ajusta aos dados de progresso da mancha preta dos citros, determinados mediante ao emprego dos valores de índice de doença.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS 2005. Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br>>. Acesso em 20/08/2005.

AGRIANUAL 2005: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, 2005. p. 287-291.

AGUILAR-VILDOSO, C.I. Indução de pseudotécios de *Guignardia citricarpa*, em fragmentos foliares de diferentes espécies de plantas. **Summa Phytopathologica** 22: 61, 1996.

AGUILAR-VILDOSO, C.I.; RIBEIRO, J.G.B.; FEICHTENBERGER, E.; GOES, A. de; SPÓSITO, M.B. **Manual Técnico de procedimentos da mancha preta dos citros**. Brasília: MAPA/DAS/DDIV, 2002.

AMARO, A.A.; MAIA, M.L.; GONZALES, M.A. **Efeitos econômicos decorrentes da clorose variegada dos citros**. In: DONADIO, L.C., MOREIRA, C.S. *Clorose variegada dos citros*. Bebedouro. v.1. p.123-35, 1997.

ANDRADE, de T.; THEODORO, F. de G.; BALDASSARI, R.B.; GOES A. de. Mancha preta (*Guignardia citricarpa*) dos citros no Estado de Santa Catarina. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA. n. 27., 2004. **Anais...** Campinas: INSTITUTO AGRONÔMICO, 2004. p.126.

AVERNA-SACCÁ, R. Pústulas pretas sobre laranjas doces produzidas por *Phoma citricarpa*. **Revista Agrícola**. v.15. p.468-475, 1940.

BALDASSARI, R.B. **Influência de frutos sintomáticos de uma safra na incidência da *Guignardia citricarpa* na safra subsequente e período de susceptibilidade de frutos de laranja 'Natal' e 'Valencia'**. 2001. 60f. Dissertação (Mestrado em agronomia, produção vegetal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

BALDASSARI, R.B.; REIS, R.F. dos.; GOES A. de. Relato de mancha preta do citros em pomares do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, n. 27., 2004. **Anais...** Campinas: INSTITUTO AGRONÔMICO, 2004. p.126.

BASF. **Manual Técnico COMET** – Citros. 2004.

BEETON, K.V.; SCHUTTE, G.C; VISSER, A.A. *Guignardia citricarpa* Kiely, the cause of petiole infection attendant with defoliation of lemons. In: CONGRESS INTERNATIONAL SOCIETY OF CITRICULTURE, 8., 1996. **Programme and Abstracts...** p.116.

BERGAMIN FILHO, A. Avaliação de danos e perdas. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (ed.). **Manual de Fitopatologia**. v.1, 3.ed. Piracicaba. Ceres, 1995. p.672-690.

BERGAMIN FILHO, A; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres. v.1. p.229-234, 1996.

BERTUS, A.L. Fungicidal control of black spot and melanose on coastal valencia oranges in New South Wales. Australian. **Plant Pathology**. v.10. p.53-55, 1981.

BRAZ, B.A.; FURUHASHI, S.; BASTOS, H.B.; PAIVA, S.B. Comportamento de azoxystrobin no controle de mancha preta em citrus (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Summa Phytopathologica Jaboticabal. v.26. p.118-119, 2000.

BRENT, J.K. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?**. Brussels: GIFAP, 1995. 48p. FRAC, (1).

CAIXETA, M.P.; CORAZZA NUNES, M.J.; VIDA, J.B.; NUNES, W.N.; TESSMANN, D.J.; ZANUTO, C.A.; MULLER, G.R. Ocorrência da pinta preta dos citros (*Guignardia citricarpa*) no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.30. p.136, 2005.

CALAVAN, E.C. **Black spot of citrus**. The California Citrographic. v.46. p.22-4, 1960.

CAMPBELL, C.L., MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York, Wiley, 1990. 532 p.

CARDOSO FILHO, J.A. **Efeito de albedo de laranja (*Citrus sinensis*) e dos indutores de resistência ácido salicílico, acilbenzolar-s-metil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa* (teleomorfo: *Guignardia citricarpa*)**. Piracicaba, 2003. 125p. (Tese Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

COSTA, H.; Baldassari, R.B.; Feichtenberger, E.; Spósito, M.B.; Aguilar-Vildoso, C.I. Ocorrência da pinta preta (*Guignardia citricarpa*) em citros no Estado do Espírito Santo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.28, p. 205, 2003.

DELP, C.J. **Benzimidazole and related fungicides** p. 291-302. In: LYR, H. Modern selective fungicides. 2. Ed. Gustav Fisher, New York. 595p, 1995.

EDGINGTON, L.V. Structural requirements of systemic fungicides. **Annual Review of Phytopathology**. St. Paul. v.19. p.107-124, 1981.

FAGAN, C.; GOES, A. de. Efeito da severidade da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* na queda prematura de frutos de laranja 'Natal'. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília. v.24, p.282, suplemento 1999.

FAGAN, C.; GOES, A. de. Efeito da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* nas características tecnológicas do suco de frutos de laranjas 'Natal' e 'Valência'. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal. v.26, p. 122, 2000.

FEICHTENBERGER, E. "Mancha preta dos citros". **Laranja**, Cordeirópolis. v.17, n.1, p.93-108, 1996.

FEICHTENBERGER, E.; SPÓSITO, M.B.; VIANNA, J.H.T. Tratamentos fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeira 'Valência'. **Summa Phytopathologica**. Jaboticabal. v.26. p.118, 2000.

FELLIPE, G.M. Etileno. In: FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EDUSP. v.2. p.163-192, 1979.

FELIPPE, J.M.; COTTAS, M.P.; IKEDA, M. Eficácia do fungicida pyraclostrobin no controle da Pinta preta (*Guignardia citricarpa*) em citros (*Citrus sinensis*). **Fitopatologia Brasileira**. Brasília. v.29 suplemento, p. S281, 2004.

FOGLIATA, G.M.; CANTON, N.V.; GÁLVEZ, M.R.; PLOPER, L.D.; MUÑOZ, L. Eficiencia de estrobirulinas en el control de mancha negra de los cítricos (*Guignardia citricarpa*) en limón. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.29. suplemento, p.261, 2004.

FUNDECITRUS. Doença se espalha. **Fundecitrus**, Araraquara. n.95, p.3, 1999.

FUNDECITRUS. **Manual de pinta preta**. Araraquara: Fundecitrus, 2003. 7p.

FUNDECITRUS. Nova avaliação. **Revista Fundecitrus**. Araraquara. n.122, p.8-9, 2004.

GARRÁN, S.M. Citrus black spot in the northeast of Entre Rios: etiology, epidemiology and control. **Proceedings International Society Citriculture**. v.1. p.466-470, 1996.

GASPAROTTO, L.; GOES; A. de.; PEREIRA, J.C.R.; BALDASSARI, R.B; Ocorrência da mancha preta (*Guignardia citricarpa*) dos citros no Estado do Amazonas. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, n.27, 2004. **Anais...** Campinas: INSTITUTO AGRONÔMICO, 2004. p.126.

GLIENKE, C. **Variabilidade genética no fungo endófito *Guignardia citricarpa* Kiely detectada por RAPD**. Curitiba, 1995. 115p. Dissertação (Mestrado.) - Universidade Federal do Paraná.

GOES, A. de; Barros, J.C. da; S.M. de; Pinheiro, J.E. Controle da pinta preta dos frutos de tangerina 'Rio' (*Citrus deliciosa*) ocasionada por *Phyllosticta citricarpa*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.15. p.73-75, 1990.

GOES, A. de; FEICHTENBERGER, E. Ocorrência da mancha preta causada por *Phyllosticta citricarpa* (McAlp) Van der Aa em pomares cítricos do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 10. 1992, Aracajú. **Anais...** Brasília, Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1993. p.318.

GOES, A. de. Controle da mancha-preta dos frutos cítricos. **Laranja**. Cordeirópolis. v.19, n.2, p.305-320, 1998.



GOES, A. de; WIT, C.P. Efeito da combinação de diferentes fungicidas sistêmicos e protetores no controle da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa*. **Fitopatologia**. v.34. p.201-202, 1999.

GOES, A. de; Baldassari, R.B.; Feichtenberger, E.; Spósito, M.B.; Aguilar-Vildoso, C.I. Cracked spot, a new symptom of citrus black spot (*Guignardia citricarpa*) in Brasil. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF CITRICULTURE, 9. 2000, Orlando. **Programs and Abstracts...** Orlando: Flórida, 2000. p.145.

GONZÁLEZ-JAIMES, E.P. **Controle de *Guignardia citricarpa* em frutos de laranja 'Valência' mediante o uso dos fungicidas Pyraclostrobin e Carbendazim**. 2005. 57f. (Dissertação Mestrado). Faculdade e Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

HERBERT, J.A.; GRECH, N.M. A strain of *Guignardia citricarpa*, the black spot pathogen, resistant to benomyl in South Africa. **Plant Disease**. v.69. p.1007, 1985.

JOHNSTON, P.R.; FULLERTON, R.A. *Crytosporiopsis citri* sp. nov., cause of a citrus leaf spot in the Pacific Island. **New Zealand Journal of Exper. Agric.**, v.16. p.159-63, 1988.

KELLERMAN, C.R.; KOTZÉ, J.M. The black spot disease of citrus and its control in South Africa. **Proceedings International Society Citriculture**, Orlando. v.3. p.992-996, 1977.

KIELY, T.B. **Control and epiphytology of black spot of citrus on the central coast of New South Wales**. New South Wales: Department of Agriculture Science, 1948. 88p. (Bulletin).

KOTZÉ, J. M. **Studies on the black spot disease of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely, with particular reference to its epiphytology and**

**control at Labata.** 1964. 143f. Thesis (PhD. in Sciences) – University of Pretoria, Pretoria, 1963.

KOTZÉ, J.M. **Studies on the black spot diseases of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely, with particular reference to its epiphytology and control at Labata.** Pretoria, 1964. p.143. Tese (Doutorado em Fitopatologia) University of Pretoria, South Africa. 1964.

KOTZÉ, J.M. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. **Plant Disease** St Paul. v.65. p.945-50, 1981.

KLOTZ, L.J. **Fungal, bacterial, and nonparasitic diseases and injuries originating in the seedbed, nursery, and orchard.** In: REUTHER, W.; CALAVAN, E.C. & CARMAN, G.E. Ed. The Citrus Industry. Riverside, University of California, 1978, p.1-66.

LEMIR, A.H.M.; STADINIK, M.J.; BUCHENAUER, H.; CANTON, N. *In vitro* production of ascospores and pathogenicity of *Guignardia citricarpa*, causal agent of citrus black spot. **Summa Phytopathologica.** v.26. p.374-376, 2000.

McONIE, K.C. The latent occurrence in citrus and hosts of a *Guignardia* easily confused with *G. citricarpa*, the citrus black spot pathogen. **Phytopathology.** 54. p.40-43, 1964<sub>a</sub>.

McONIE, K.C. Source of inoculum of *Guignardia citricarpa*, the citrus black spot pathogen. **Phytopathology.** 54. p.64-67, 1964<sub>b</sub>.

McONIE, K.C. Orchard development and discharge of ascospores of *Guignardia citricarpa* and the onset of infection in relation to the control of citrus black spot. **Phytopathology.** 54. p.1448-1453, 1964<sub>c</sub>.

McONIE, K.C. Germination and infection of citrus by ascospores of *Guignardia citricarpa* in relation to control of black spot. **Phytopathology**. v.57. p.743-746, 1967.

PICCININI, E.C. **Fungicidas Benzimidazoles**. In: Revisão Anual de Patologia de Plantas. v.2. p. 57-362, 1994.

PUNITHALINGAM, E. The conidial appendage in *Phyllosticta* spp. **Nova Hedwigia**. v.36. p.151-175, 1982.

REIS, R.F. **Influência dos fatores climáticos na produção e liberação de ascósporos de *Guignardia citricarpa* em pomares de laranjeiras 'Natal' e 'Valência'**. 2002. 83f. (Dissertação Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

ROBBS, C.F.; PIMENTEL, J.P.; RIBEIRO, R.L.D. A mancha preta dos frutos cítricos causada por *Phoma citricarpa*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 13, 1980. Itaguaí. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1980, p.455.

ROBBS, C.F. A mancha preta dos frutos cítricos (*Phyllosticta citricarpa*) ameaça a citricultura paulista. **Laranja**, Cordeirópolis. v.11, n.1, p.75-86, 1990.

RODRIGUEZ, V.A.; MAZZA GAIAD, S.M. The effects of fungicide and fertilization on the control of black spot of citrus (*Guignardia citricarpa*). **Proceedings International Society Citriculture**. 1: Sun City, v.1. p 482-484, 1996.

SCHUTTE, G.C.; TOLLIG, B.; MANSFIELD, R.I.; KOTZÉ, J.M. Effect of kresoxim-methyl and azoxystrobin for the control benzimidazole resistant strain of citrus black spot. **Proceedings International Society Citriculture**, Sun City. v.1. p.345-349, 1996.

SCHUTTE, G.C.; KOTZÉ, J.M. Grass mulching as part na integrated control programme for the control of citrus black spot. **Citrus Journal**. v.7. p.18-20, 1997.

SIVANESAN, A. **The bitunicate ascomycetes and their anamorphs**. Germany: J. Cramer, 1984. 707p.

SMITH, J.H. A study of the effect of various disease controle programs on spore releases of the citrus black spot pathogen *Guignardia citricarpa* Kiely. **Proceedings International Society Citriculture** Sun City. v.1. p.351-352, 1996.

SPÓSITO M.B. **Dinâmica temporal e espacial da mancha preta (*Guignardia citricarpa*) e quantificação dos danos causados à cultura dos citros**. Piracicaba, 2003. Tese (Doutorado em agronomia, fitopatologia), 112f. Escolça Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SPÓSITO, M.B.; AMORIM, L.; BELASQUE JÚNIOR, J.; Bassanezi, R.B.; Aquino, R. de. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**. v.29, n.1, p.81-85. 2004.

SUTTON, B.C.; WATERSTON, J.M. ***Guignardia citricarpa***. Knew: C.M.I., 1966. (Descriptions os pathogenic fungi and bacteria, 85).

TIMOSSI, A.J. **Influência de fatores físicos no desenvolvimento do teleomorfo de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos**. Jaboticabal, 2000. 59p. Trabalho de Graduação – Universidade Estadual Paulista, 2000.

TIMMER, L.W.; GARNSEY, S.M.; GRAHAM, J.H. **Compendium of Citrus Diseases**. 2.ed., St. Paul: APS Press. 92p, 2000.

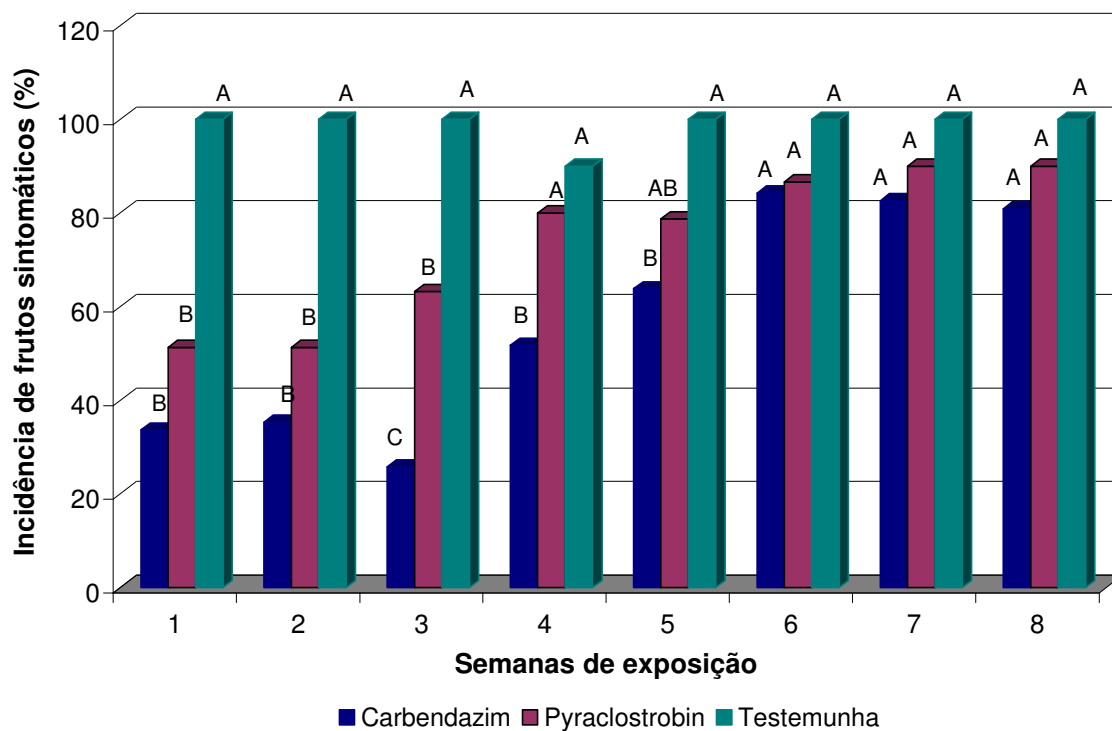
TOLLIG, B.; MERWE, J.L.; Aa, VAN der ; SCHUTTE, G.C. BAS 490 F: a new fungicidal strobirulin for the control of citrus black spot. **Proceedings International Society Citriculture**, Sun City. v.1. p.369-371, 1996.

VANDERPLANK, J.E. **Plant disease**: epidemics and control. New York: Academic Press. 1963. 349p.

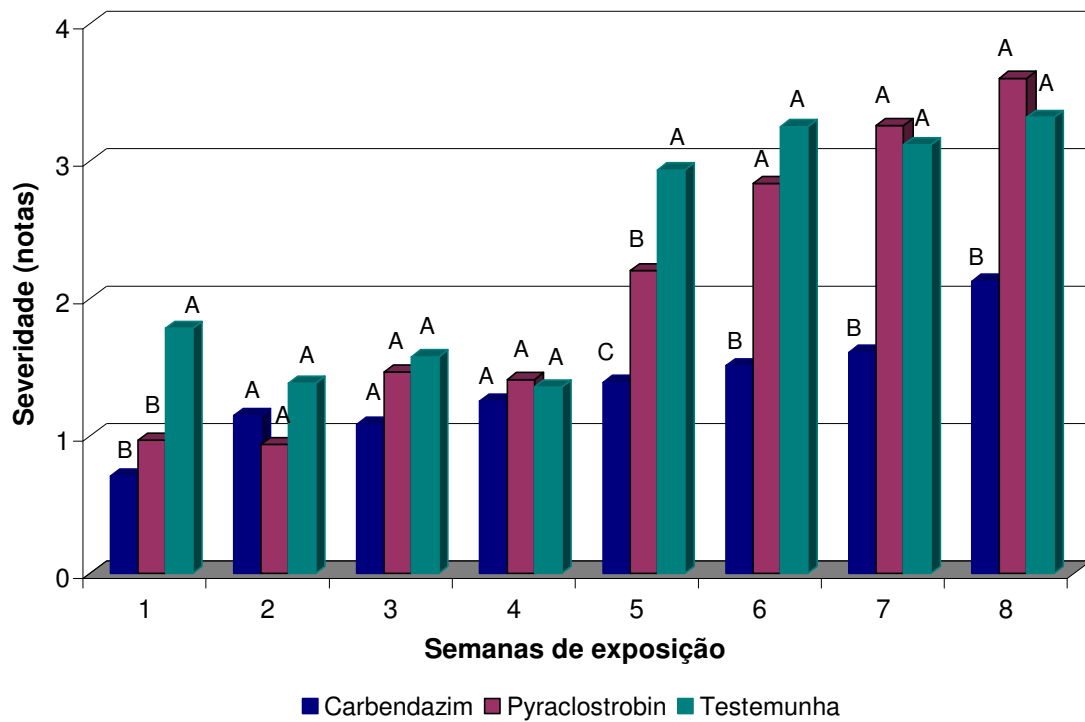
VONK, J.W.; SIJPESTEIJN, K.A. Metabolism. In: Marsh, R.W. Systemic fungicides. 2 ed. Longman, London and New York. 1972. 401p.

WHEELER, B.E.J. **An introduction to plant diseases**. London: John Wiley, 1969. 374p.

## APÊNDICE

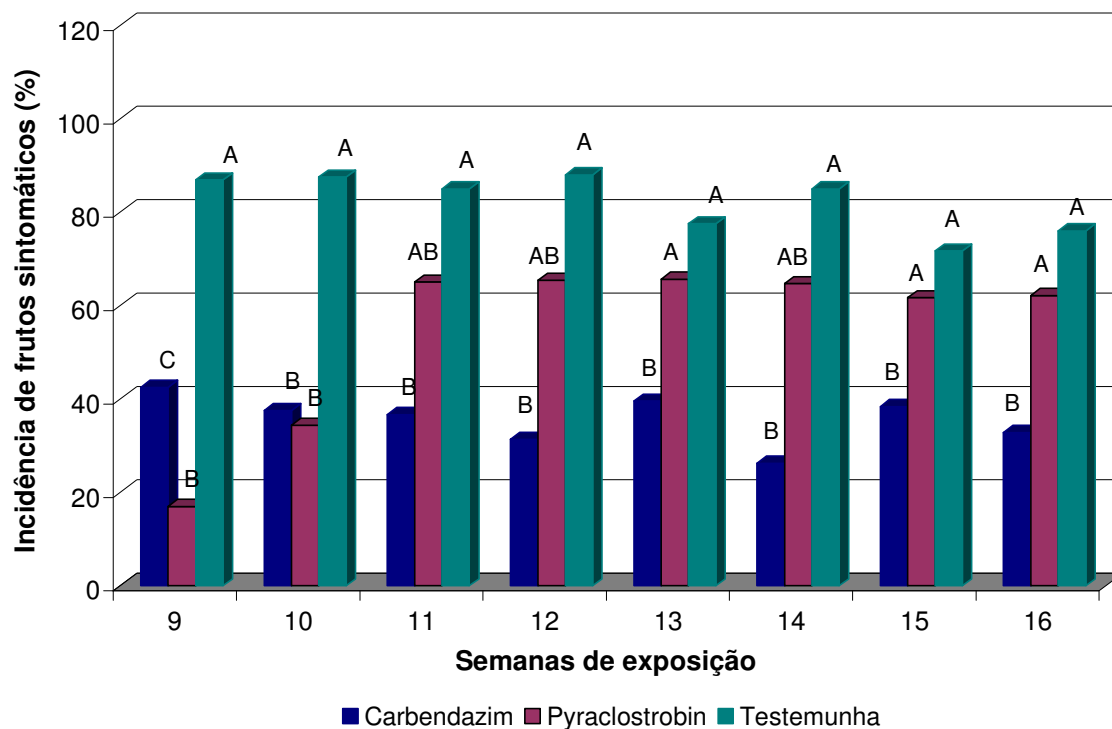


Apêndice A: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na sexta avaliação (29/09/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

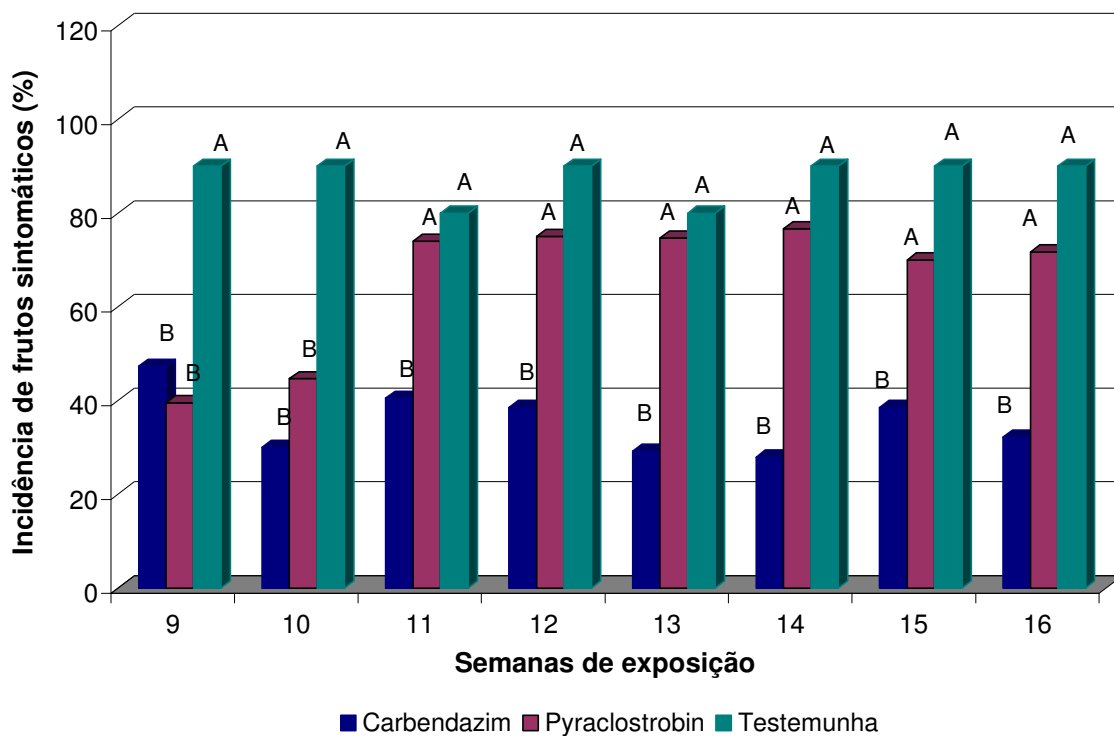


Apêndice B: Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na segunda avaliação (30/07/2004). Primeira fase. Jaboticabal/SP, 2006.

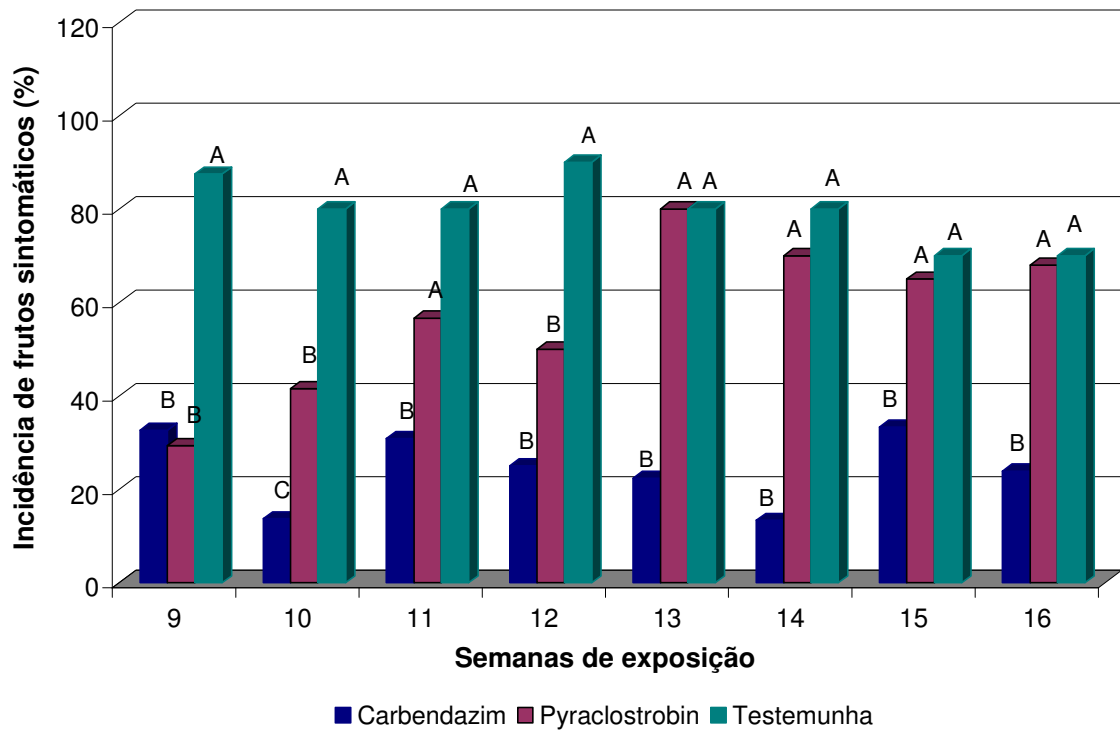




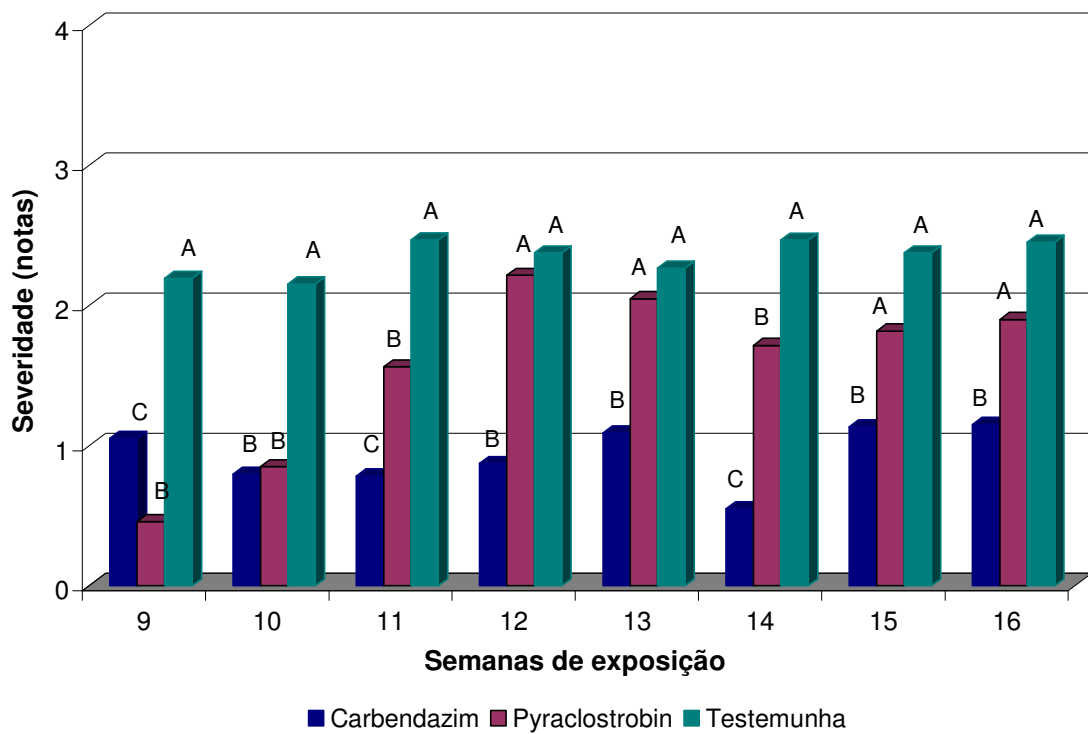
Apêndice C: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na segunda avaliação (30/07/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



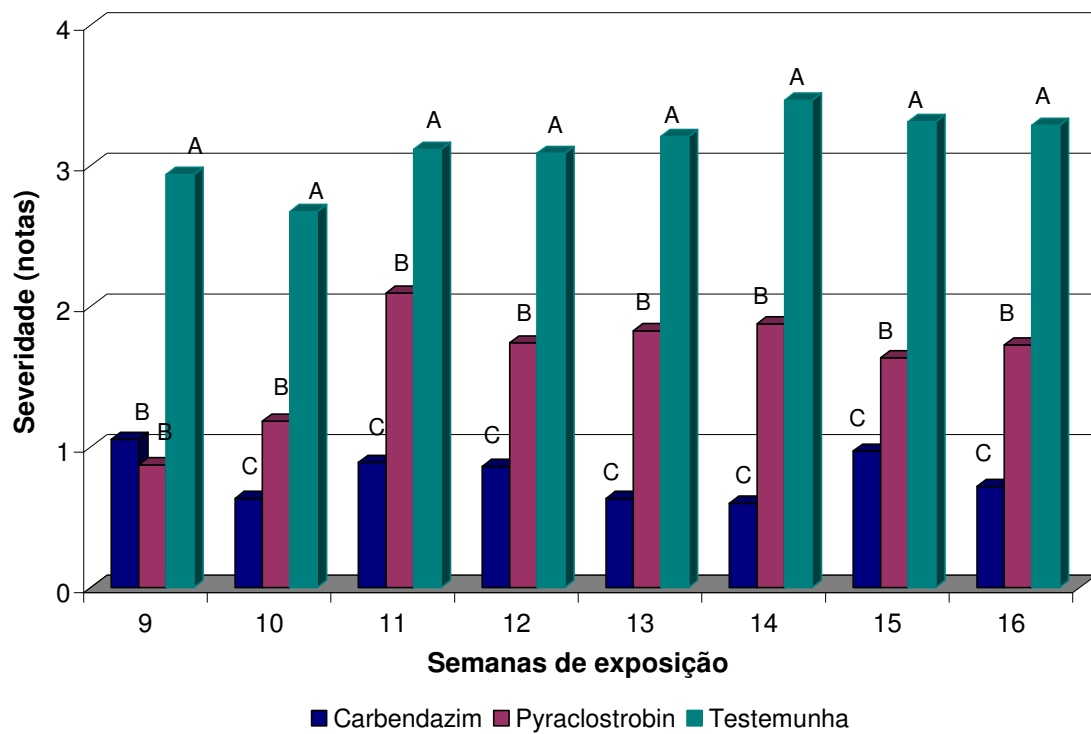
Apêndice D: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na quarta avaliação (30/08/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



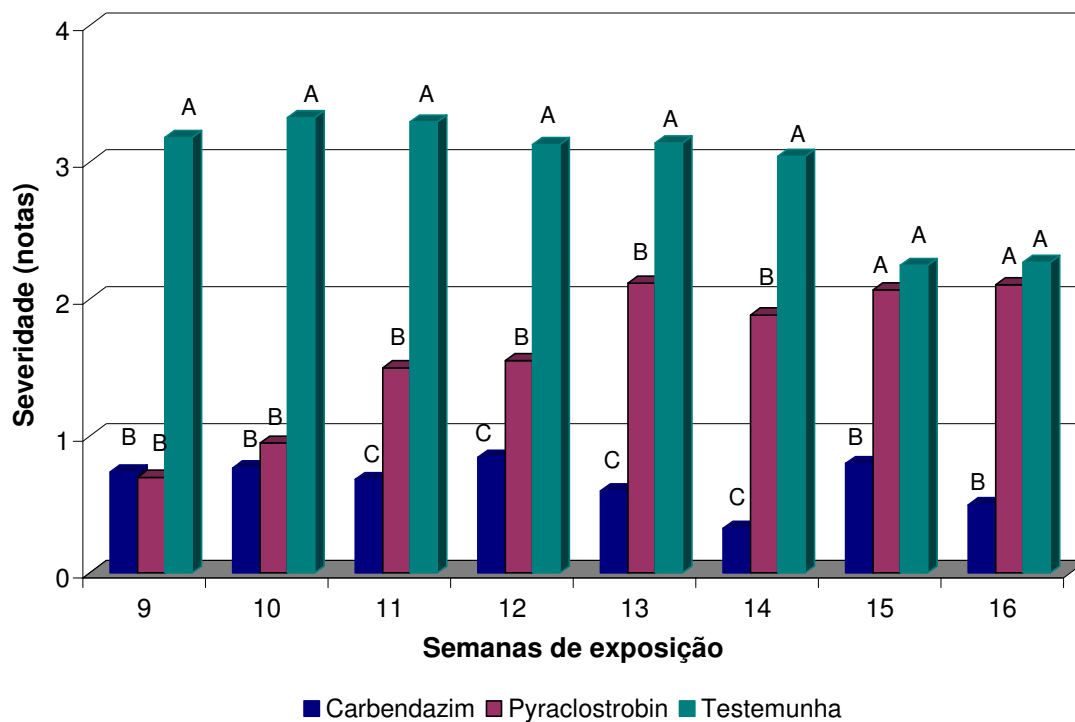
Apêndice E: Comparação entre os valores de Incidência de frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na quinta avaliação (14/09/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



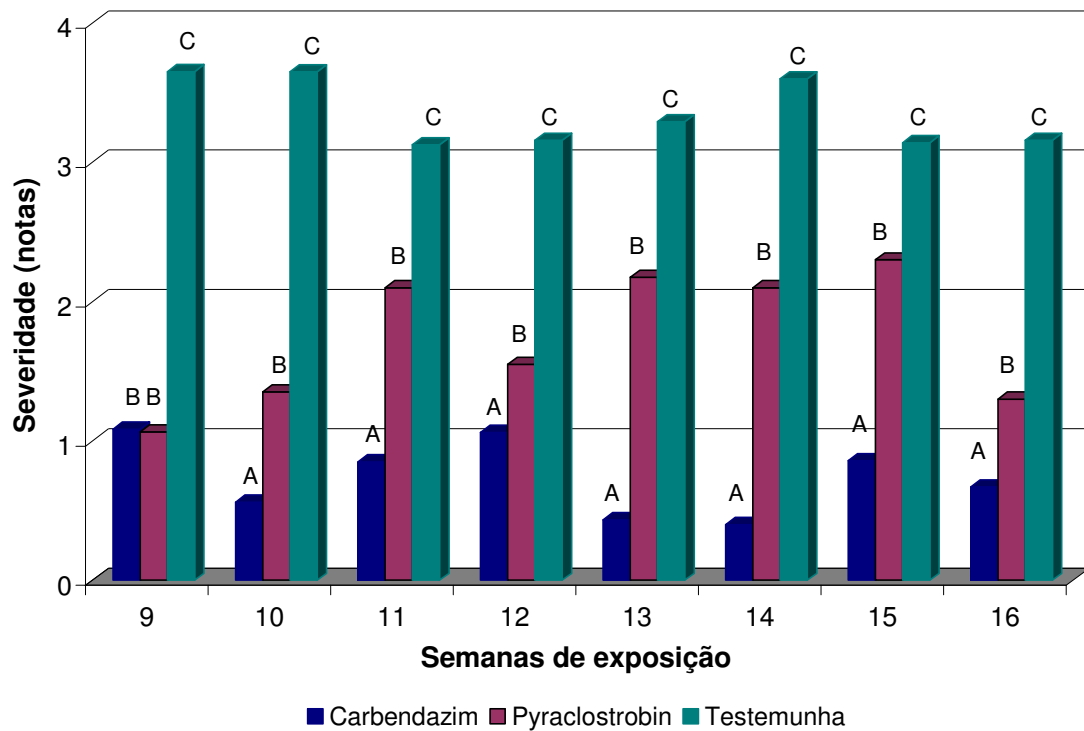
Apêndice F: Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na segunda avaliação (30/07/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



Apêndice G: Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na quarta avaliação (30/08/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



Apêndice H: Índice de doença em frutos de laranja 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na quinta avaliação (14/09/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.



Apêndice I: Índice de doença em frutos de laranjeira 'Valência' tratados com os fungicidas carbendazim e pyraclostrobin, expostos ao fungo *Guignardia citricarpa*, sob condições naturais de infecção, na sexta avaliação (29/09/2004). Segunda fase. Jaboticabal/SP, 2006.