

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO MEIO DE CULTURA, TEMPERATURA, FOTOPERÍODO
E FUNGICIDAS NO CRESCIMENTO MICELIAL E NO CONTROLE DE
Alternaria alternata f. sp. citri, CAUSADOR DA MANCHA MARROM DO
TANGOR MURCOTE**

ADIMARA BENTIVOGLIO COLTURATO

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP

Fevereiro – 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO MEIO DE CULTURA, TEMPERATURA, FOTOPERÍODO
E FUNGICIDAS NO CRESCIMENTO MICELIAL E NO CONTROLE DE
Alternaria alternata f. sp. citri, CAUSADOR DA MANCHA MARROM DO
TANGOR MURCOTE**

ADIMARA BENTIVOGLIO COLTURATO

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Furtado

Co -Orientador: Dr. Wilson Story Venâncio

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas)

BOTUCATU - SP

Fevereiro – 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

C725e Colturato, Adimara Bentivoglio, 1981-
Efeito do meio de cultura, temperatura, fotoperíodo e fungicidas no crescimento micelial e no controle de *Alternaria alternata* f. sp. citri, causador da mancha marrom do tangor murcote / Adimara Bentivoglio Colturato. - Botucatu, [s.n.], 2006.
x, 53 f. : il., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2006
Orientador: Edson Luiz Furtado
Co-orientador: Wilson Story Venâncio
Inclui bibliografia

1. Tangor murcote - Doenças e pragas. 2. Mancha marrom. 3. *Alternaria alternata*. 4. Fungicidas. I. Furtado, Edson Luiz. II. Venâncio, Wilson Story. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFEITO DO MEIO DE CULTURA, TEMPERATURA, FOTOPERÍODO E FUNGICIDAS NO CRESCIMENTO MICELIAL E NO CONTROLE DE *ALTERNARIA ALTERNATA* F. SP. *CITRI*, CAUSADOR DA MANCHA MARROM DO TANGOR MURCOTE"

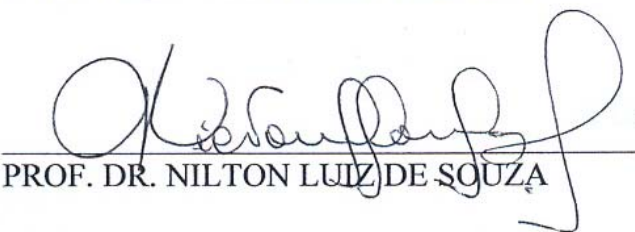
ALUNA: ADIMARA BENTIVOGLIO COLTURATO

ORIENTADOR: PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO



PROF. DR. NILTON LUIZ DE SOUZA



PROF. DR. MARISTELLA DALLA PRIA

Data da Realização: 13 de fevereiro de 2006.

A Deus pela luz e proteção

Aos meus pais, Ademar e Soeli pelo incentivo

A minha irmã Danielle pelo apoio e amizade

Ao Antonio pelo carinho, estímulo, paciência e compreensão

Dedico

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Edson Luiz Furtado, pela amizade e pela orientação
- Ao Prof. Dr. Wilson Story Venâncio, pela confiança, pelo apoio em diversas etapas deste trabalho e pela amizade
- À Fazenda Triângulo pelo apoio estrutural, em especial à Ellen
- Aos professores e funcionários pelos ensinamentos
- À amiga Tatiana Paulossi pela grande ajuda na condução do experimento
- Às amigas Márcia Michele Q. Ambrósio, Rosana Sambugaro, Márcia Ap. Cezar e ao amigo César Júnior Bueno pelo apoio, carinho e incentivo
- Às empresas Basf S.A, Bayer CropScience Ltda, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda e Arysta LifeScience pela colaboração na obtenção dos produtos
- Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos
- Aos professores e funcionários do Departamento de Horticultura pelo auxílio na análise qualitativa e quantitativa do ensaio
- A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	X
RESUMO	.01
SUMMARY	.03
1 INTRODUÇÃO.....	.05
2 REVISÃO DE LITERATURA	.07
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	.12
3.1 Testes laboratoriais	.12
3.1.1 Obtenção do isolado	.12
3.1.2 Influência de diferentes temperaturas no crescimento micelial, tamanho e produção de conídios.....	.12
3.1.2 Influência da luminosidade no crescimento micelial	.13
3.1.4 Teste de patogenicidade.....	.13
3.1.5 Teste “in vitro”	.14
3.1.6 Teste de meios de cultura	.15
3.2 Ensaio de campo.....	.15
3.2.1 Custo dos ingredientes ativos utilizados no ensaio de campo	.16
3.3 Análise estatística	.16
3.4 Análise qualitativa	.19
3.4.1 Sólidos Solúveis totais (SST)	.19
3.4.2 Acidez	.19
3.4.3 Ratio	.19
3.5 Análise quantitativa	.19
3.5.1 Tamanho de frutos	.19
3.5.2 Massa	.19
3.5.3 pH	.20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	.21

SUMÁRIO

Página

4.1 Crescimento micelial em diferentes temperaturas, tamanho dos conídios e produção de conídios.....	21
4.2 Influência da luminosidade no crescimento micelial.....	23
4.3 Teste de patogenicidade	23
4.4 Teste “in vitro”	24
4.5 Teste de meios de cultura.....	27
4.6 Ensaio de campo	28
4.6.1 Incidência de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em folhas de murcote.....	28
4.6.2 Número de lesões de mancha marrom de alternaria em folhas de murcote.....	30
4.6.3 Incidência de mancha marrom de alternaria em frutos de murcote.....	32
4.6.4 Lesões em meio fruto de murcote.....	33
4.6.5 Frutos caídos no solo.....	35
4.6.6 Produtividade.....	36
4.6.7 Análise qualitativa.....	37
4.6.8 Análise quantitativa.....	38
4.6.9 Custo de aplicação.....	40
4.6.10 Dados climáticos.....	42
5 CONCLUSÃO.....	44
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
APÊNDICE	50

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Tratamentos, grupo químico, concentração e formulação dos fungicidas utilizados no teste “in vitro” para o controle de mancha marrom de alternaria em tangor murcote	15
2 Tratamentos, grupo químico, concentração e formulação dos fungicidas utilizados no ensaio de campo para o controle de mancha marrom de alternaria em tangor murcote	17
3 Custo dos fungicidas utilizados no controle de mancha marrom de alternaria em tangor murcote	18
4 Tamanho médio e número de conídios de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> desenvolvidos em diferentes temperaturas	22
5 Componentes de equação de regressão linear do crescimento micelial x temperatura de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> , em diferentes temperaturas.....	22
6 Componentes de equação de regressão linear do crescimento micelial x fotoperíodo e escuro, de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i>	23
7 Dados de incidência de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em folhas de tangor murcote, realizado em diferentes épocas após a aplicação. Pratânia/SP, 2005	29
8 Efeito de diferentes doses de fungicidas utilizados no controle de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em folhas de murcote. Pratânia/SP, 2005	30
9 Número de lesões de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em folhas de tangor murcote, submetidas a diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005	31
10 Efeito de diferentes doses de fungicidas utilizados no controle de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em folhas de tangor murcote, sobre o número de lesões. Pratânia/SP, 2005	31
11 Incidência de mancha marrom de alternaria em frutos de murcote submetidos à diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005	32
12 Efeito de diferentes doses de fungicidas utilizados no controle de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em frutos de tangor murcote. Pratânia/SP, 2005	33

LISTA DE TABELAS

	Página
13 Efeito do número de lesões em meio fruto de murcote submetidos a diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005	34
14 Número de lesões de mancha marrom de alternaria em meio fruto de murcote submetidos a diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005	34
15 Número de frutos caídos no solo submetidos a tratamentos com diferentes fungicidas. Pratânia/SP, 2005	35
16 Número de frutos caídos no solo submetidos a tratamentos com diferentes fungicidas, e diferentes doses. Pratânia/SP, 2005	35
17 Avaliação de produtividade de tangor murcote, submetida a diferentes tratamentos com fungicidas visando o controle de mancha marrom de alternaria. Pratânia/SP, 2005	36
18 Produtividade de tangor murcote, submetida a diferentes tratamentos com fungicidas e diferentes doses visando o controle de mancha marrom de alternaria. Pratânia/SP, 2005	37
19 Brix em °Brix, acidez em percentagem, ratio e pH de frutos de murcote.....	38
20 Brix, acidez, ratio e pH de frutos de murcote, submetidos à diferentes doses	38
21 Avaliação quantitativa de frutos de murcote com medições longitudinais e transversais dos frutos e peso de frutos em gramas.....	39
22 Variação de doses para avaliação quantitativa de frutos de murcote.....	39
23 Custo dos ingredientes ativos utilizados no controle de mancha marrom de alternaria, preço de uma aplicação por hectare, preço das cinco aplicações efetuadas e custo transformado em caixas de murcote por hectare.....	41

LISTA DE FIGURAS

		Página
1	Esquema com os passos efetuados na fase de inoculação	13
2	Crescimento micelial (cm) de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em diferentes temperaturas.....	22
3	Influência da luminosidade no crescimento micelial (cm) de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i>	23
4	Crescimento micelial de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> sob diferentes ingredientes ativos e doses. A – procimidone 1, B – procimidone 2, C – folpet, D – clorotalonil 1, E – clorotalonil 2, F – iprodione, G – oxicloreto de cobre e H – testemunha.....	25
5	Crescimento micelial de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> sob diferentes ingredientes ativos e doses. H – testemunha, I – trifloxystrobin, J – azoxystrobin, K – pyraclostrobin, L – difenoconazole, M – trifloxystrobin + propiconazole, N – trifloxystrobin + tebuconazole e O – trifloxystrobin + propinebe	26
6	Avaliação do isolamento de isolados de <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i> em diferentes meios de cultura.....	28
7	Dados climáticos referentes ao ano de 2004 e 2005, no período em que ocorreu a pesquisa.....	42

RESUMO

A mancha marrom de alternaria, causada pela *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, afeta o tangor murcote causando lesões em folhas, ramos e frutos, acarretando em desfolha e manchas que depreciam o fruto comercialmente. Os objetivos deste trabalho foram verificar o efeito do meio de cultura no isolamento, da temperatura e do fotoperíodo no crescimento micelial do patógeno, avaliar a sensibilidade do patógeno à fungicidas “in vitro” e estabelecer o melhor produto e dose para o controle da doença no campo. As avaliações laboratoriais constaram de avaliações de crescimento micelial, medição do tamanho de conídios, concentração de conídios/mL e avaliação de meios de culturas para isolamento do patógeno. O teste “in vitro” constou de 15 tratamentos, 4 doses e 5 repetições, sendo avaliados 12 ingredientes ativos: trifloxystrobin, procimidone, iprodione, azoxystrobin, clorotalonil, difenoconazole, pyraclostrobin, trifloxystrobin + propiconazole, oxicloreto de cobre, trifloxystrobin + propinebe, folpet e trifloxystrobin + tebuconazole. O delineamento experimental do ensaio de campo foi de parcelas subdivididas em blocos, com 10 tratamentos principais e 3 doses (subparcelas), com 5 repetições. Foram feitas 5 aplicações, com intervalo de 15 dias. Os tratamentos foram: 1. azoxystrobin, 2. pyraclostrobin, 3. trifloxystrobin, 4. trifloxystrobin + propinebe (2 aplicações) seguido de mancozeb, 5. difenoconazole, 6. trifloxystrobin + propiconazole, 7. iprodione, 8. trifloxystrobin + tebuconazole (2 aplicações) seguido de cobre, 9. cobre + óleo e 10. testemunha. Simultaneamente foram feitas avaliações de incidência e número de lesões por folha. Ao surgimento dos frutos foram avaliados frutos

caídos no solo, percentagem de frutos infectados e número de lesões por fruto e a produtividade em Kg/ha realizada nos dias 25 e 26 de agosto de 2005. Os resultados do teste “in vitro” mostraram que os ingredientes ativos trifloxystrobin, iprodione, azoxystrobin, difenoconazole, pyraclostrobin, trifloxystrobin + propiconazole e trifloxystrobin + tebuconazole inibiram completamente o crescimento micelial do patógeno. No ensaio de campo todos os tratamentos foram superiores à testemunha quanto à produtividade. Concluindo que o controle da doença é recomendado independente do produto utilizado. Entre os produtos utilizados o tratamento com trifloxystrobin + propiconazole foi rentável comparando-se custo e produtividade.

EFFECT OF MEDIA CULTURE, TEMPERATURE AND FUNGICIDES IN THE GROWTH OF *Alternaria alternata* f. sp. *citri* AND DISEASE CONTROL. Botucatu, 2006. 53p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ADIMARA BENTIVOGLIO COLTURATO

Adviser: EDSON LUIZ FURTADO

Co-Adviser: WILSON STORY VENÂNCIO

SUMMARY

The brown spot caused by *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, affects the Murcott tangor causing lesions in leaves, branches and fruits, defoliation and depreciating the fruit commercially. The objectives of this work went to determine the influence of temperature, media culture and sensibility several fungicides and rates "in vitro" and in the field. The evaluations consisted by measurement of radial growth micelial, the conidia size, conidia concentration. In the "in vitro" tests were used 15 treatments, 4 rates and 5 repetitions, with 12 active ingredients of fungicides: trifloxystrobin, procimidone, iprodione, azoxystrobin, clorotalonil, difenoconazole, pyraclostrobin, trifloxystrobin + propiconazole, copper oxicleto, trifloxystrobin + propinebe, folpet and trifloxystrobin + tebuconazole. In the field the fungicides were evaluated in the orchard with 10 years old glove of Murcott tangor, near

Pratânia-SP, Brazil. The treatments were: 1. azoxystrobin, 2. pyraclostrobin, 3. trifloxystrobin, 4 trifloxystrobin + propinebe (2 applications) following by mancozeb (3 applications), 5. difenoconazole, 6. trifloxystrobin + propiconazole, 7. iprodione, 8. trifloxystrobin + tebuconazole (2 applications) following by copper (3 applications) , 9. copper + oil and 10. water. They were made 5 applications, with interval of 15 days. Disease intensity were evaluated: a)number of lesions by leaf, b) fruits fallen in the soil, c)percentage of infected fruits and number of lesions per fruit and the productivity (Kg/ha). The results showed that: In "in vitro" test the ingredients active trifloxystrobin, iprodione, azoxystrobin, difenoconazole, pyraclostrobin, trifloxystrobin + propiconazole and trifloxystrobin + tebuconazole inhibited the micelial growth of the pathogen completely. In the field all fungicides treatments were effectives with productivity. Among the used products the treatment trifloxystrobin + propiconazole was profitable being compared cost and productivity.

Keywords – Alternaria brown spot, *Alternaria alternata* f. sp. *citri*

1 INTRODUÇÃO

O Brasil mantém a posição de maior produtor mundial de laranja desde o início da década de 90, sendo responsável por cerca de 37% da produção mundial, seguida pelos Estados Unidos (23%), México (8%), China (7%) e Espanha (6%). O estado de São Paulo responde por 73% da produção nacional (Marino et al., 2003; FNP Consultoria & Comércio, 2004). Nos demais Estados, a citricultura evoluiu mais lentamente, mas ainda assim possui importância econômica (Rossetti, 2001).

A cultura dos citros, que abrange as laranjas, os limões, os pomelos, as tangerinas, os tangelos e tangores, é bem adaptada a regiões de clima tropical e subtropical, tendo ótimas produções nestas áreas (Rossetti, 2001), porém estas condições climáticas também favorecem a ocorrência de diversas doenças como a mancha marrom de alternaria, que afeta principalmente os tangelos, as tangerinas e os tangores.

A mancha marrom de alternaria foi descrita pela primeira vez em tangerinas “Emperor” em 1903, na Austrália. Apareceu na Flórida em 1974 e foi subsequentemente identificada na África do Sul, Israel, Turquia e Colômbia (Timmer et al., 2000), e mais recentemente na Argentina (Peres et al., 2003). No Brasil, foi constatada em 2001 no Rio de Janeiro (Fundecitros, 2004) e em 2003 nos Estados de São Paulo, Minas

Gerais e Rio Grande do Sul causando danos em pomares de tangerina ponkan e, principalmente, em tangor murcote (Prates, 2004).

A mancha de *Alternaria*, causada pela *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, afeta tangelos Minneola, tangerinas Dancy, tangores Murcote e, menos freqüentemente, tangelos Orlando, tangerinas Novas, Lees e Sunburst. Em casos raros, ela também pode infectar o pomelo. Esta doença causa desfolhação grave, queda de frutos e manchas nas frutas, sendo um fator limitante na produção destes cultivares em áreas de clima úmido. Mesmo em áreas produtoras semi-áridas, as manchas na casca podem reduzir de forma significativa sua viabilidade de comercialização das frutas (Timmer et al., 2000).

O cobre vem sendo à base do programa de controle de *A. alternata* f. sp. *citri* tanto na Flórida como no Brasil, principalmente pelo baixo custo e por apresentar um controle aceitável da doença; mas devido a alta severidade da doença muitos pomares de murcote acabaram sendo arrancados como foi o caso da empresa Citrovita (Itapetininga/SP). Por isso a necessidade de se encontrar novas alternativas de controle.

Consiste o objetivo do presente trabalho:

- a) Verificar o efeito do meio de cultura no isolamento, da temperatura e do fotoperíodo no crescimento micelial do patógeno;
- b) Avaliar a sensibilidade do patógeno à fungicidas “in vitro”;
- c) Estabelecer o melhor produto e dose para o controle da doença no campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A origem do tangor murcote (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* Osbeck) não é bem conhecida. Seu nome é uma homenagem ao viveirista Charles Murcott Smith, que obteve as primeiras plantas enxertadas em Bayview, Flórida, Estados Unidos, em 1922. A variedade foi introduzida no Brasil pelo Instituto Agrônômico em 1948 (Figueiredo, 1991).

O tangor murcote representa 24% das tangerinas plantadas no Estado de São Paulo sendo a segunda espécie mais cultivada, perdendo apenas para a ponkan (Instituto de Economia Agrícola, 2005). É uma variedade mais tardia, portanto permite obter safras em períodos diferentes das outras tangerinas resultando em melhores preços (Figueiredo, 1991).

A planta apresenta como características: porte médio, copa ereta e a produtividade pode atingir 200 Kg de frutos por planta. Se não for manejado com desbastes de fruto associados a uma nutrição adequada, a produção tende a se alternar, em relação ao volume da colheita, de um ano para o outro. Os frutos pesam aproximadamente 140 g e possuem em torno de 20 sementes. É abundante em suco, 48% do peso do fruto, com teores de Brix 12,6, acidez 0,92% e 'ratio' de 13,7 (Figueiredo, 1991).

O tangor murcote assim como a maioria dos citros está sujeito a uma série de doenças, assim como a mancha marrom de alternaria. A mancha de alternaria ou mancha marrom é causada pelo fungo *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. f. sp. *citri* El. Et. Pierce, este fungo produz uma toxina específica para o hospedeiro que afeta a membrana

plasmática de espécies e cultivares suscetíveis. Isolados vindos de tangerinas não são patogênicos a limão cravo (Timmer et al., 2000).

Em folhas jovens inicialmente surgem pequenas manchas marrom a pretas, as quais logo tornam-se circundadas por halos amarelos. As lesões expandem formando áreas necrosadas circulares ou irregulares que às vezes podem envolver largas partes da folha (Timmer et al., 2000).

Segundo Prates (2004), em ramos finos ocorrem lesões corticosas com ou sem halo clorótico. As brotações novas apresentam-se com aspecto de requeima no caule como nas folhas, com morte de ponteiros e posterior tendência a envassouramento, devido ao superbrotamento. Em frutos jovens surgem pequenas pontuações deprimidas de 1 mm, de cor preta nas bordas e mais claras na parte central, com um halo clorótico. As manchas são relativamente circulares, rasas, podendo ter halos cloróticos ou aspecto encharcado. Rachaduras de frutos podem ocorrer passando pelas lesões.

Nos frutos as lesões são pequenas manchas necróticas escuras, que podem variar de tamanho, conforme a idade do fruto. Em alguns casos, podem ser observadas lesões cujo centro torna-se corticoso e saliente (Fundecitrus, 2004). Frutos novos podem ser infectados logo depois da queda da pétala, e mesmo uma lesão pequena causa abscisão imediata (Timmer et al., 2000).

Timmer et al. (2000) relata que o fungo produz uma toxina específica para o hospedeiro que é responsável pelas lesões necróticas. A toxina é às vezes translocada no sistema vascular, produzindo clorose e necrose que se estendem ao longo das lesões, freqüentemente resultando em queda de folhas, de frutos e seca de ponteiros. Áreas necrosadas podem ser rapidamente colonizadas por *Colletotrichum gloesporioides*, e corpos de frutificação aparecem nos círculos concêntricos. O tamanho da lesão e a extensão da necrose está diretamente relacionado com a suscetibilidade do hospedeiro.

Os conídios são produzidos nas lesões em ramos e em folhas maduras, mesmo nas folhas que permanecem na árvore ou naquelas que caíram no solo, mas não são produzidas no fruto. Rotem (1994) descreve que o tamanho dos conídios podem variar de 20 a 65 µm de comprimento e 9 a 18 µm de largura. A esporulação ocorre depois que a infecção se instalou. Os esporos de *A. alternata* f. sp. *citri* são resistentes a seca e a outras condições adversas. Durante períodos quando o material suscetível não está disponível, o fungo

sobrevive nas lesões em folhas velhas e ramos. A liberação dos esporos está relacionada com chuva ou mudanças bruscas na umidade relativa e são transportados principalmente pelo vento. A temperatura ótima para infecção e desenvolvimento é entre 20-27°C e pode variar com a área geográfica. Períodos de molhamento foliar menor do que 10-12 horas resultam em baixos níveis de infecção. Em temperaturas menores do que 17°C, e períodos prolongados de molhamento foliar (maiores do que 24 horas) são necessários antes que muitas infecções ocorram. Aos 27°C a infecção é maior, decrescendo gradualmente quando a temperatura cai para 24, 20 e 17°C e caindo bruscamente aos 32°C. Com 4 e 8 h de molhamento foliar tem-se níveis de infecção baixos e com períodos longos de molhamento foliar a cima de 36 h a infecção tende a aumentar. Os sintomas podem se desenvolver em 36 a 48 h após a infecção (Canihos et al. 1999; Timmer et al. 1998; Prates, 2004).

Utilizando meio de cultura batata-dextrose-ágar, a uma temperatura de 25°C e com alternância de luminosidade, Pereira et al. (2006) constatou que após 4 horas de incubação, os conídios apresentaram-se germinados e com aumento de cerca de 5-50% às 48 horas de incubação.

Segundo Timmer et al. (2000), as folhas tornam-se altamente resistentes à infecção assim que expandem, mas não completamente resistente até que estejam velhas. Frutos são suscetíveis pelo menos até 3 meses depois da queda da pétala, e algumas infecções podem ocorrer subsequente. A queda de frutos pode ocorrer após este período, resultado do desenvolvimento do fungo nas lesões existentes.

O controle deste fungo se dá através de algumas práticas culturais como escolha do local de plantio em área com boa circulação de ar, maior espaçamento entre plantas, poda de limpeza e controle dos níveis de adubação, principalmente nitrogenada que podem diminuir a severidade da doença (Prates, 2004).

Entretanto, aplicações de fungicidas são essenciais para o controle satisfatório da doença e produção de frutos sem manchas. Os fungicidas protetores como os produtos cúpricos continuam sendo a base dos programas de controle desta doença (Timmer, 2004b). No entanto, o cobre se acumula nos solos e pode causar fitotoxicidade (Alva & Graham, 1991), portanto, seu uso precisa ser limitado em alguns plantios e ao clima seco e quente.

As estrobilurinas foram registradas recentemente para algumas doenças de cítricos e proporcionam um bom controle da mancha marrom de alternaria, pois são fungicidas de atividade pós infecção e reduzem a produção do inóculo (Timmer, 2004a; Agostini et al., 2003). Entre os fungicidas mais utilizados na Flórida, estão trifloxystrobin, azoxystrobin, pyraclostrobin, iprodione, clorotalonil e os cúpricos (Timmer, 2004b).

Alka Bhatia & Timmer (2001) relatam em estudos realizados na Flórida, nos anos 2000, 2001 e 2002, que aplicações com as estrobilurinas (azoxystrobin e pyraclostrobin) sozinhas ou em alternância com cobre promovem um controle aceitável de mancha marrom. Fungicidas cúpricos também obtiveram boa performance na proteção de frutos contra a infecção, só causando danos em frutos quando utilizados na última aplicação (Alka Bhatia & Timmer, 2000).

Programas incluindo estrobilurina na primeira e na última aplicação com aplicações intercalares de cobre, promoveram um melhor controle. Este tipo de programa minimiza o risco de dano pelo cobre e ainda fornece um bom controle e relativamente econômico (Alka Bhatia & Timmer, 2002a); sendo também utilizado para o controle da mancha marrom de alternaria em tangelo Minneola e tangerina Novas (Alka Bhatia & Timmer, 2002b; Alka Bhatia & Timmer, 2004).

Quando a doença é severa são necessárias várias pulverizações, o intervalo entre as pulverizações deve ser baseado na frequência de precipitação e o histórico da doença na área (Timmer et al., 2004a). Em regiões de clima úmido, as aplicações devem começar com cerca de ¼ da brotação expandida e a segunda deve ser antes da maturação e brotação. As pulverizações subsequentes devem ser realizadas no estágio de queda da pétala e a cada 10-21 dias até o fruto tornar-se resistente (Prates, 2004).

O teste “in vitro” de fungicidas visando a redução do crescimento micelial de *A. alternata* mostrou que com pyraclostrobin a dose de 0,87 µg/mL reduz o crescimento em 50% e azoxystrobin requer uma dose superior a 100µg/mL para causar a mesma redução (Mondal et al., 2005).

Segundo Alka Bhatia et al. (2003), na Flórida, o momento da aplicação de fungicidas é realizado através de um sistema de previsão “Alter-Rater” o qual é baseado em dados diários de precipitação, molhamento foliar e temperatura. Este sistema fornece bons resultados, como um melhor controle e um menor número de aplicações.

A resistência de fungos aos produtos químicos é considerada uns dos principais problemas no controle de doenças de plantas (Ghini & Kimati, 2002).

Segundo Azevedo & Oliveira (2003), o uso de produtos sistêmicos no controle de uma determinada doença, com o tempo, causa o aparecimento de novas raças na população do patógeno que se tornam resistentes ao fungicida empregado.

Os triazóis, introduzidos no mercado na década de 70, demonstraram uma menor probabilidade de falha no controle, do que os demais produtos. Porém, houve uma série de relatos de resistência para importantes doenças como o caso de *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* em cevada resistente a triadimefon; entretanto, os triazóis propiconazole e tebuconazole que são muitas vezes utilizados em subdoses para o ocntrole de oídio do trigo, ainda não apresentaram relatos de resistência (Azevedo& Oliveira, 2003).

No Brasil, o único relato de ocorrência de resistência de *Alternaria* a fungicidas. É o caso de *Alternaria dauci* em cenoura resistente a iprodione, pertencente ao grupo das dicarboximidas (Fancelli & Kimati, 1988).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Testes laboratoriais

Efetuados no departamento de Produção Vegetal, setor de Defesa fitossanitária da Faculdade de Ciências Agronômicas UNESP/Botucatu.

3.1.1 Obtenção do isolado

Obtido de plantas infectadas com a doença na Fazenda Triângulo, Pratânia – São Paulo.

3.1.2 Influência de diferentes temperaturas no crescimento micelial, tamanho e produção de conídios.

Para a avaliação do crescimento micelial foi colocado um disco de 7 mm de diâmetro do patógeno no centro de cada placa contendo meio Batata-dextrose-água (BDA). O delineamento foi inteiramente casualizado com 5 repetições, as placas foram submetidas a diferentes temperaturas: 25°C, 28°C, 30°C e temperatura ambiente. As avaliações efetuadas foram medidas do crescimento radial do micélio diariamente até o oitavo dia; medição da largura e do comprimento dos conídios efetuadas através de ocular micrométrica no décimo segundo dia de crescimento. Foram realizadas 50 medições de conídios para cada temperatura e a produção foi determinada através da contagem de conídios em câmara de Neubauer, utilizando 1 mL de suspensão de esporos retirados de cada placa.

3.1.3 Influência da luminosidade no crescimento micelial

Foram colocados um disco de 7 mm de diâmetro do patógeno em cada placa contendo meio BDA. O delineamento foi inteiramente casualizado com 3 repetições, as placas foram submetidas ao escuro (envoltas por papel alumínio) e a fotoperíodo de 12 h a uma temperatura de 25°C. As avaliações consistiram de medidas do crescimento radial do micélio diariamente até o sétimo dia. Os dados foram avaliados estatisticamente por Anova e as médias quando significativas avaliadas pelo Teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

3.1.4 Teste de patogenicidade

Efetuada conforme esquema apresentado na Figura 1.

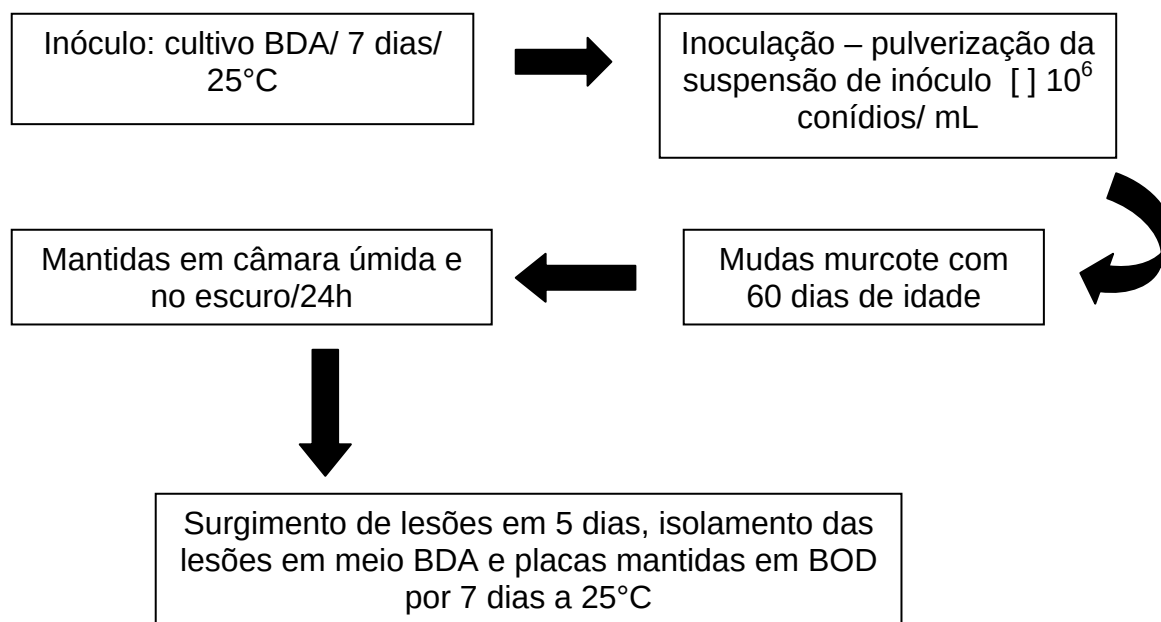


Figura 1. Esquema com os passos efetuados na fase de inoculação.

3.1.5 Teste “in vitro”

Foram avaliados 12 ingredientes ativos: trifloxystrobin, procimidone, iprodione, azoxystrobin, clorotalonil, difenoconazole, pyraclostrobin, trifloxystrobin + propiconazole, oxicloreto de cobre, trifloxystrobin + propinebe, folpet e trifloxystrobin + tebuconazole. Os tratamentos, grupo químico, concentração e formulação dos produtos utilizados neste experimento podem ser visualizadas na Tabela 1. Foram avaliadas 4 doses (10µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL e 1000 µg/mL) de cada ingrediente ativo, com 5 repetições. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado totalizando 15 tratamentos, conforme Tabela 1. Foram feitas soluções estoque para cada ingrediente ativo e a partir destes, retiradas as doses desejadas e misturadas ao meio de cultura previamente autoclavado, após homogeneização do meio foram vertidas cinco placas para cada dose e estas mantidas em BOD a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ por sete dias. A avaliação foi feita através de medição diária do crescimento radial do micélio em centímetros.

Tabela 1. Tratamentos, grupo químico, concentração e formulação dos fungicidas utilizados no teste “in vitro” para o controle de mancha marrom de alternaria em tangor murcote.

Tratamentos	Ingrediente ativo	Grupo químico	Concentração do i.a (%)	Formulação
1	trifloxystrobin	Estrobirulina	50	Grânulos dispersíveis em água
2	azoxystrobin	Estrobirulina	50	Grânulos dispersíveis em água
3	pyraclostrobin	Estrobirulina	25	Concentrado emulsionável
4	difenoconazole	Triazol	25	Concentrado emulsionável
5	trifloxystrobin + tebuconazole	Estrobirulina e triazol	30	Concentrado emulsionável
6	trifloxystrobin + propiconazole	Estrobirulina e triazol	50	Concentrado emulsionável
7	trifloxystrobin + propinebe	Estrobirulina e ditiocarbamatos	50 + 70	Grânulos dispersíveis em água + pó molhável
8	procimidone 1	Dicarboximida	50	Pó molhável
9	procimidone 2	Dicarboximida	50	Pó molhável
10	iprodione	Hidantoínas	50	Suspensão concentrada
11	clorotalonil 1	Ftalonitrila	50	Pó molhável
12	clorotalonil 2	Isoftalonitrilas	50	Suspensão concentrada
13	folpet	Dicarboximida	50	Pó molhável
14	oxicloreto de cobre	Cúpricos	58,95	Suspensão concentrada
15	testemunha - água			

Fonte: Andrei, 2005.

3.1.6 Teste de meios de cultura

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições, o trabalho constou de nove tratamentos: meio Martin, cenoura-ágar, BDA, BDA acrescido de benomyl, batata-cenoura-ágar, suco de tomate-ágar, V8, extrato de folhas de murcote e aveia-ágar (Apêndice). Em cada repetição (placa) foi colocado um fragmento de folha contendo lesões, previamente desinfestadas em álcool 70%, hipoclorito de sódio 10% e água destilada esterelizada. As placas foram mantidas em BOD na temperatura de 25° C por cinco dias e então avaliadas. A avaliação foi realizada com auxílio de microscópio ótico onde foram feitas lâminas para constatação da presença do patógeno a partir da presença de conídios.

3.2 Ensaio de campo

O experimento de campo foi realizado na Fazenda Triângulo em Pratânia – SP. O delineamento experimental foi de parcelas subdivididas em blocos, com 10 tratamentos principais e 3 doses (sub-parcelas), com 5 repetições, definidos a partir do teste “in vitro”. Os tratamentos consistiram dos seguintes princípios ativos: 1. azoxystrobin, 2. pyraclostrobin, 3. trifloxystrobin, 4. trifloxystrobin + tebuconazole (2 aplicações) seguido de mancozeb, 5. difenoconazole, 6. trifloxystrobin + propiconazole, 7. iprodione, 8. trifloxystrobin + propineb (2 aplicações) seguido de cobre, 9. cobre + óleo e 10. Testemunha (água) (Tabela 2). As dosagens foram: dose 1 – pulverização de meia dose da dose recomendada pelo fabricante; dose 2 – pulverização de dose cheia, recomendada pelo fabricante; dose 3- pulverização de uma dose e meia. Foram feitas 5 aplicações, sendo a primeira aplicação realizada no dia 29 de setembro de 2004, no início da brotação, visando reduzir a produção de inóculo sobre a folhagem velha e impedir a infecção de brotações novas e as aplicações subseqüentes em intervalos de 15 dias (13/10, 27/10, 10/11 e 24/11).

Foram feitas avaliações de incidência de mancha marrom nas folhas e número de lesões por folha. Ambas avaliações foram realizadas através da coleta de 10 folhas colhidas ao acaso do terço médio da planta de cada repetição. Foram efetuadas 4 avaliações durante o experimento de campo (22/10; 03/11; 19/11 e 03/12/2004).

As análises nos frutos tiveram início no dia 18 de fevereiro de 2005, sendo realizadas 3 avaliações. Avaliou-se incidência em frutos, onde foram selecionados ao acaso uma penca de frutos e determinados o número total de frutos da penca e o número de frutos com lesões; foi avaliado também o número de lesões em meio fruto, onde foram constatados o número de lesões presentes na face visível do fruto. A segunda e terceira avaliação ocorreram nos dias 21 de março e 20 de abril, respectivamente.

Foram feitas também duas avaliações do número de frutos caídos no chão (23/05 e 17/06), onde estes foram coletados e contados.

A colheita foi realizada nos dias 24 e 25 de agosto de 2005 e a produção foi obtida em Kg por planta, através de pesagem em balança de até 300 Kg.

3.2.1 Custo dos ingredientes ativos utilizados no ensaio de campo

Obtido através de cálculo baseando-se na dose utilizada em 1000 litros de calda, onde se obteve o custo por hectare referente a cada dose utilizada, custo em dólares de uma aplicação do tratamento por hectare, de cinco aplicações do tratamento por hectare e do custo das cinco aplicações em caixas por hectare. Dólar utilizado para cálculo, US\$ 2,30, caixa de murcote a R\$ 8,00 (Tabela 3).

3.3 Análise estatística

Realizada pelo programa Estat, através do teste de médias Tukey. Para análise os dados foram transformados.

Tabela 2. Tratamentos, grupo químico, concentração e formulação dos fungicidas utilizados no ensaio de campo para o controle de mancha marrom de alternaria em tangerina murcott.

	Tratamentos Ingrediente ativo	Grupo químico	Concentração do i.a (%)	Formulação
1	azoxystrobin	Estrobirulina	50	Grânulos dispersíveis em água
2	pyraclostrobin	Estrobirulina	25	Concentrado emulsionável
3	trifloxystrobin	Estrobirulina	50	Grânulos dispersíveis em água
4	trifloxystrobin + tebuconazole (2 aplicações)	Estrobirulina e triazol	30	Concentrado emulsionável
	mancozeb		80	Pó molhável
5	difenoconazole	Triazol	25	Concentrado emulsionável
6	trifloxystrobin + propiconazole	Estrobirulina e triazol	50	Concentrado emulsionável
7	iprodione	Hidantoínas	50	Suspensão concentrada
8	trifloxystrobin + propinebe (2 aplicações)		50 + 70	Grânulos dispersíveis em água + pó molhável
	cobre	Estrobirulina e ditiocarbamatos	58,95	Suspensão concentrada
9		Cúpricos + óleo vegetal		Suspensão concentrada
	Cobre + óleo		58,95 + 93	Óleo emulsionável
10	testemunha - água			

Tabela 3. Custo dos fungicidas utilizados no controle de mancha marrom de alternaria em tangor murcote.

Ingrediente ativo	Dose/1000L	Custo em R\$/ha	R\$/ litro/Kg
trifloxystrobin	37,5 g	64,35	R\$ 750,00
	75 g	128,7	
	112,5 g	193,05	
azoxystrobin	50 g	51,48	R\$ 450,00
	100 g	102,96	
	150 g	154,44	
pyraclostrobin	100 mL	34,32	R\$ 150,00
	200 mL	68,64	
	300 mL	102,96	
difenoconazole	175 mL	72,07	R\$ 180,00
	350 mL	144, 14	
	525 mL	216,21	
trifloxystrobin + tebuconazole	250 mL	68,64	R\$ 120,00
	500 mL	137,28	
	750 mL	205,92	
trifloxystrobin + propiconazole	37,5 mL	9,43	R\$ 110,00
	75 mL	18,87	
	112,5 mL	28,29	
trifloxystrobin + propinebe	500 g	22,88	R\$ 20,00
	1000 g	45,76	
	1500 g	68,64	
oxicloreto de cobre + óleo	1000 mL + 500 mL	17,16	R\$ 10,00 + R\$ 5,00
	2000 mL + 1000 mL	34,32	
	3000 mL + 1500 mL	51,48	
oxicloreto de cobre	1000 mL	11,44	R\$ 10,00
	2000 mL	22,88	
	3000 mL	34,32	
mancozeb	1000 g	12,58	R\$ 11,00
	2000 g	25,16	
	3000 g	37,75	
iprodione	75 mL	54,34	R\$ 95,00
	150 mL	108,68	
	225 mL	163,02	

3.4 Análise qualitativa

Foram colhidos 5 frutos aleatoriamente de cada repetição. Os frutos amostrados foram armazenados em sacos plásticos, etiquetados e levados ao laboratório no departamento de Produção Vegetal, setor de Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas UNESP/Botucatu. Foram realizados os seguintes testes:

3.4.1 Sólidos Solúveis totais (SST)

Este teste foi determinado por leitura em refratômetro B&S mod. RFM 330 do suco do fruto, corrigido pela temperatura e pela acidez e expresso em graus Brix (°Brix).

3.4.2 Acidez

Determinada pela titulação de 2 mL de suco com NaOH, em solução 0,3125N usando fenolftaleína como indicador, expressa na porcentagem (gramas de ácido cítrico por 100 mL de suco).

3.4.3 Ratio

Foi obtido por cálculo, dividindo-se o teor obtido de SST pela porcentagem de acidez titulada.

3.5 Análise quantitativa

3.5.1 Tamanho de frutos

Através da medição do diâmetro do fruto longitudinal e transversalmente com o auxílio de um paquímetro digital fornecendo resultado em milímetros.

3.5.2 Massa

Determinado pela pesagem em balança digital dos frutos individualmente, sendo ao final realizada uma média.

3.5.3 pH

Determinado diretamente através de leitura em peagômetro, modelo 310, Thermo Orion.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Crescimento micelial em diferentes temperaturas, tamanho dos conídios e produção de conídios.

O crescimento micelial de *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, observado na Figura 2, nas temperaturas de 25°C, 28°C e temperatura ambiente não apresentou diferenças significativas, sendo a temperatura de 25°C a que mostrou crescimento mais acentuado da colônia. Na temperatura de 30°C já se observou uma redução no crescimento enquanto que na temperatura de 37°C não ocorreu crescimento, dados estes concordantes com aqueles obtidos na literatura sobre o desenvolvimento do patógeno (Canihos et al. 1999; Timmer, 2000; Prates, 2004). Com relação ao tamanho de conídios, (Tabela 4), as temperaturas de 25°C, 28° e temperatura ambiente não diferiram estatisticamente entre si no comprimento, sendo superior àquele encontrado na temperatura de 30°C; concordando com os dados obtidos por Rotem (1994) onde o tamanho médio de conídios varia de 20 a 63 µm de comprimento e 9 a 18 µm de largura. Os resultados obtidos neste experimento demonstram que na temperatura de 28°C os conídios apresentaram os melhores índices, tanto em comprimento e largura quanto em número de conídios/mL, caracterizando-a como a melhor temperatura para obtenção de esporos.

Tabela 4. Tamanho médio e número de conídios por mL de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* desenvolvidos em diferentes temperaturas.

Temperatura	Avaliações		
	Comprimento ¹ (μm)	Largura ¹ (μm)	conídios/ml
25°C	27,5 a	8,8 ab	3,5x10 ⁵
26°C	23,2 b	7,9 b	1,5x10 ⁵
28°C	37,3 a	9,0 a	9,0x10 ⁵
30°C	24,1 b	8,8 ab	1,5x10 ⁵
Ambiente	28,3 a	8,9 a	0,9x10 ⁵
C.V. ² 22,5 D.P. ³ 5,9 C.V. ² 10,6 D.P. ³ 0,3			

1. Médias seguidas da mesma letras não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a nível de 1% de probabilidade.

2. Coeficiente de variação em porcentagem.

3. Desvio padrão.

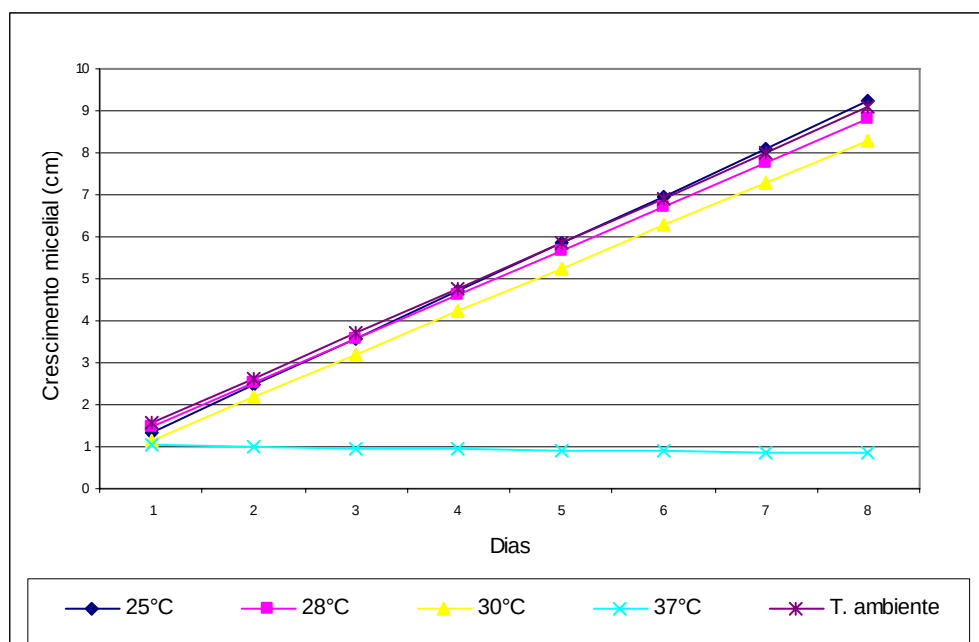


Figura 2. Crescimento micelial (cm) de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em diferentes temperaturas.

Tabela 5. Componentes de equação de regressão linear do crescimento micelial x temperatura de *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, em diferentes temperaturas.

Temperaturas	Equação	R ²
25°C	Y= 0,208+1,125X	0,976
28°C	Y= 0,443+1,045X	0,993
30°C	Y= 0,145+1,02X	0,995
37°C	Y= 1,05-0,025X	0,333
ambiente	Y=0,473+1,075X	0,984

4.2 Influência da luminosidade no crescimento micelial

Pode-se observar que nos primeiros 5 dias o crescimento nas duas condições, fotoperíodo e escuro, manteve-se constante e igual nos dois procedimentos. As placas submetidas ao crescimento no escuro apresentaram um crescimento maior ao final dos setes dias quando comparadas com as submetidas ao fotoperíodo de 12 horas (Figura 3).

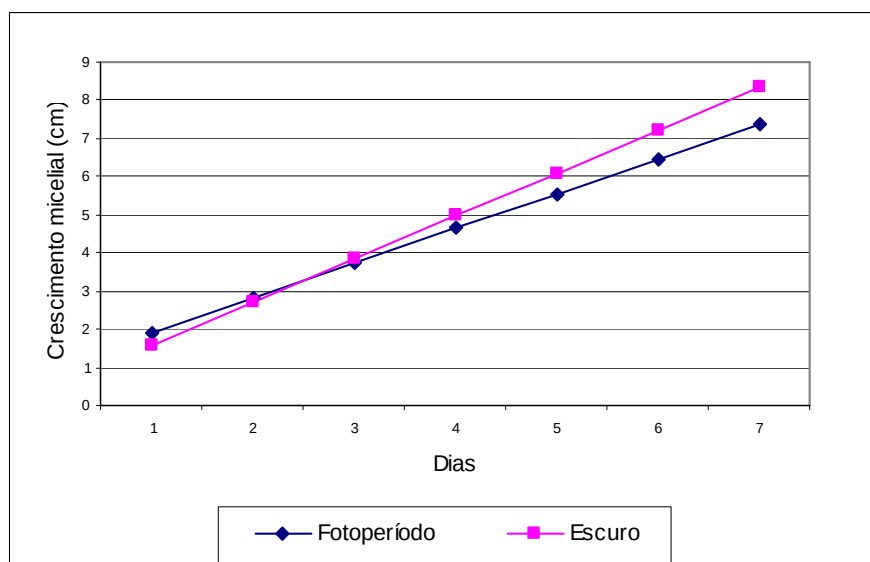


Figura 3. - Influência da luminosidade no crescimento micelial (cm) de *Alternaria alternata* f. sp. citri.

Tabela 6. Componentes de equação de regressão linear do crescimento micelial x fotoperíodo e escuro, de *Alternaria alternata* f. sp. citri.

Condições	Equação	R ²
Fotoperíodo	Y= 1,014+0,907X	0,963
Escuro	Y= 0,471+1,125X	0,998

4.3 Teste de patogenicidade

Após a formação da colônia pode-se confirmar a presença do patógeno, comprovando-se ser o agente causador da mancha marrom através das características da colônia e dos conídios.

4.4 Teste “in vitro”

Os resultados dos testes “in vitro” para fungicidas podem ser observados nas Figura 4 e Figura 5. Os fungicidas iprodione, trifloxystrobin, azoxystrobin, pyraclostrobin, difenoconazole e a mistura de fungicidas trifloxystrobin + propiconazole mostraram inibição completa do crescimento micelial em todas as doses avaliadas. Verificou-se que os fungicidas folpet e oxicleto de cobre apresentaram eficiência na maior dose avaliada (1000 µg/mL) enquanto iprodione controlou o desenvolvimento do patógeno em todas as concentrações utilizadas. Os fungicidas procimidone e clorotalonil foram os que apresentaram os resultados menos expressivos, com vantagem para procimidone (Figura 4).

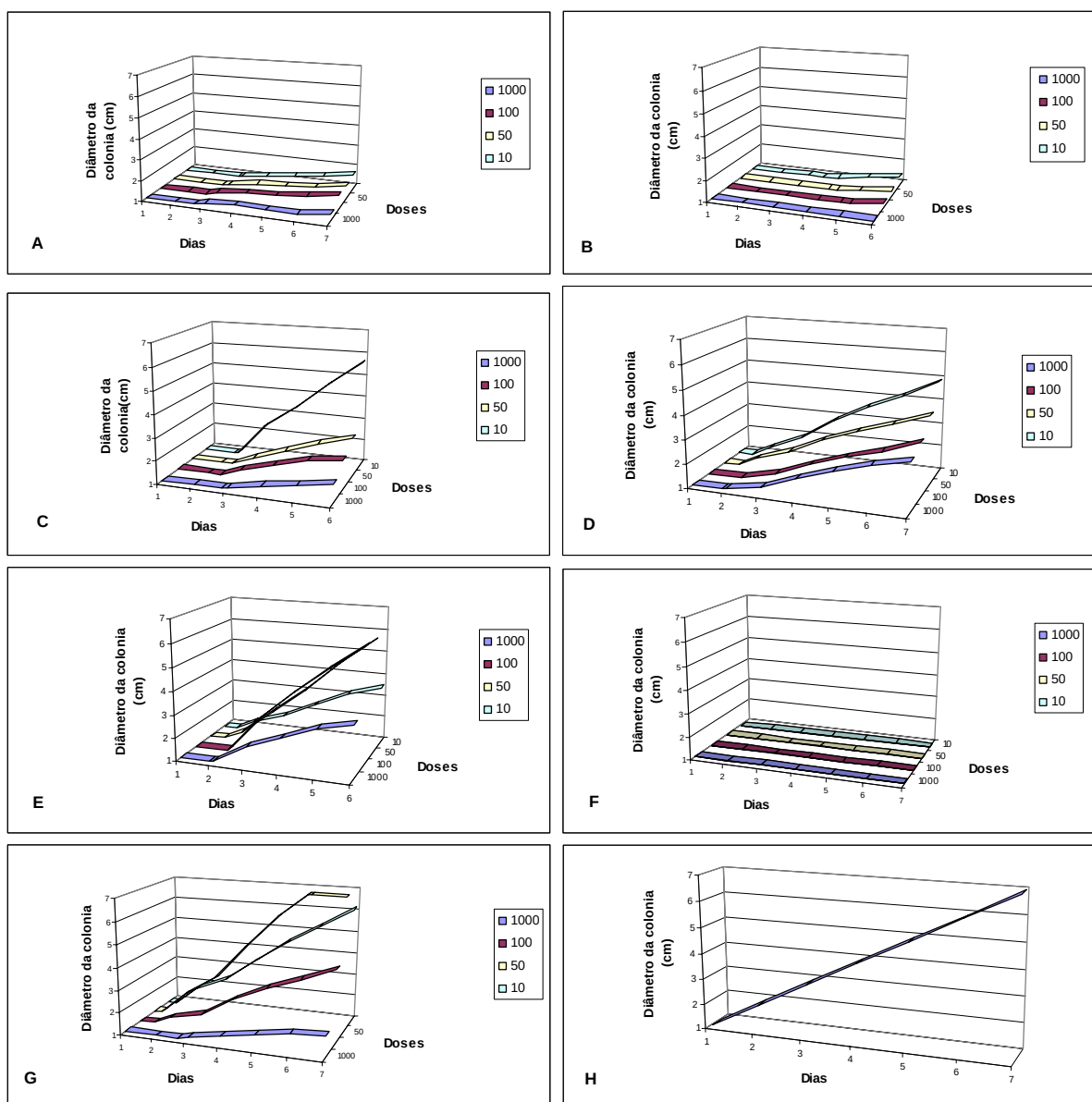


Figura 4. – Crescimento micelial de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* sob diferentes ingredientes ativos e doses. A – procimidone 1, B – procimidone 2, C – folpet, D – clorotalonil 1, E – clorotalonil 2, F – iprodione, G – oxicloreto de cobre e H – testemunha.

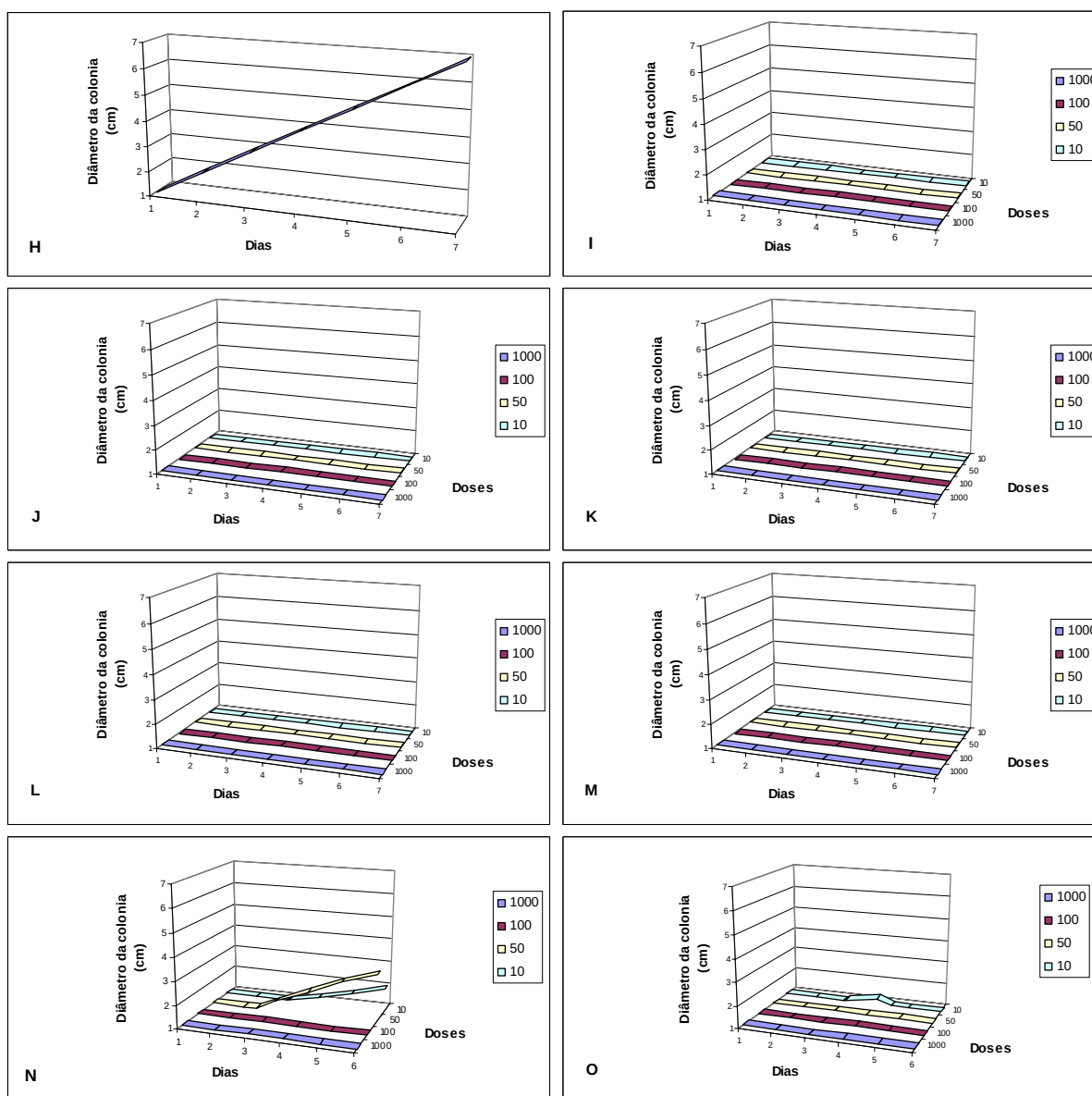


Figura 5. – Crescimento micelial de *Alternaria alternata* f. sp. citri sob diferentes ingredientes ativos e doses. H – testemunha, I – trifloxystrobin, J – azoxystrobin, K – pyraclostrobin, L – difenoconazole, M – trifloxystrobin + propiconazole, N – trifloxystrobin + tebuconazole e O – trifloxystrobin + propinebe.

A mistura de fungicida trifloxystrobin + tebuconazole mostrou eficiência nas doses de 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ enquanto trifloxystrobin + propinebe foram eficientes a partir da dose de 10 $\mu\text{g/mL}$ inibindo o crescimento do patógeno. Observou-se também, com relação a estas duas últimas misturas de fungicidas, uma maior eficiência no

controle quando trifloxystrobin é misturado com propinebe, pois atua em doses menores da estrobilurina.

Os dados obtidos discordam com àqueles obtidos por Mondal et al. (2005), pois azoxystrobin e pyraclostrobin inibiram completamente o crescimento do patógeno desde a menor dose (10 µg/mL) enquanto que o autor relata que em seus testes azoxystrobin requer uma dose superior a 100 µg/mL para reduzir o crescimento micelial de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em 50% e uma dose de 0,87 µg/mL de pyraclostrobin para obter a mesma redução.

O teste “in vitro” proporcionou uma visão da sensibilidade do patógeno quanto aos produtos, desta forma, os produtos que apresentaram os melhores resultados e o oxicleto de cobre foram selecionados para compor o quadro de tratamentos do ensaio de campo, para assim confirmar a eficácia destes produtos.

4.5 Teste de meios de cultura

O meio de cultura V8 destacou-se com 90% de isolamento do patógeno, os meios suco de tomate-ágar (STA), extrato de folha de murcote (EF), aveia-ágar (AVA), BDA e BDA+benomyl não diferiram estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade. E os meios Martin, cenoura-ágar (CA) e batata cenoura-ágar (BCA) mostraram-se os menos eficientes no isolamento do patógeno entre os meios comparados (Figura 6).

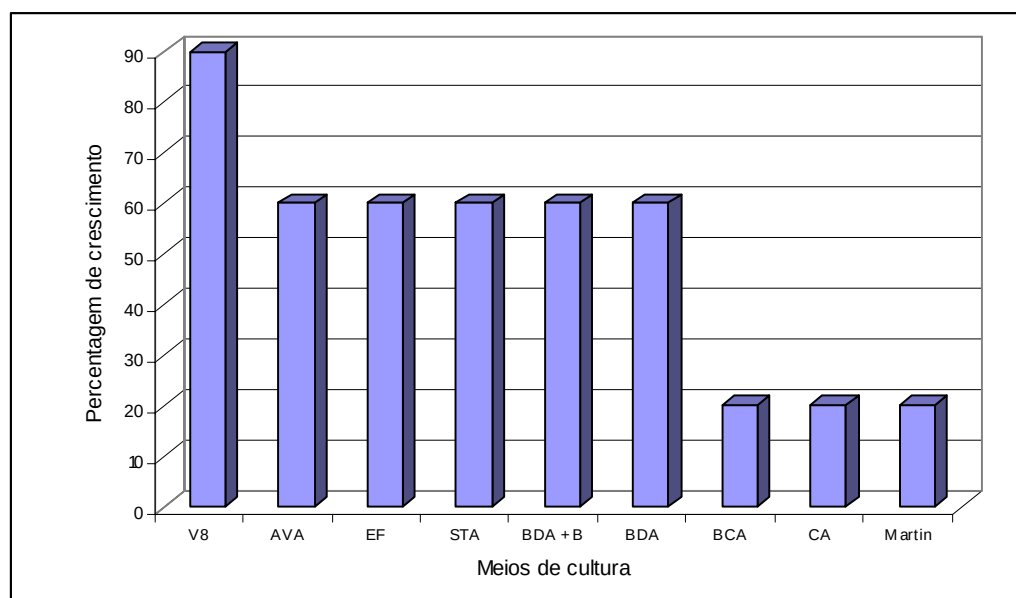


Figura 6. Avaliação do isolamento de isolados de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em diferentes meios de cultura.

4.6 Ensaio de campo

Não houve interação entre tratamentos e doses.

4.6.1 Incidência de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em folhas de murcote.

Os resultados observados na Tabela 7 demonstram que após a primeira aplicação (15 DAA) havia uma percentagem alta de folhas com sintomas da doença, destacando a testemunha com a maior incidência (80,0%). Aos 30 DAA nota-se uma redução na percentagem de folhas com sintomas, o que sugere a ação dos produtos utilizados, destacando-se aqueles com maior efeito curativo e capacidade de erradicação do patógeno (tratamentos 4 a 9), os quais não apresentaram diferença estatística entre si. Os tratamentos 6 (trifloxystrobin + propiconazole), 7 (iprodione), 8 (trifloxystrobin + propineb) e 9 (oxicloreto de cobre + óleo) foram os que apresentaram os melhores resultados aos 30 DAA, devido ao seu alto poder curativo e erradicante, visto que ao início das pulverizações todas as plantas encontravam-se com incidência elevada. Os tratamentos com estrobilurinas isoladamente, 1

(azoxystrobin), 2 (pyraclostrobin) e 3 (trifloxystrobin) apresentaram um menor efeito aos 30 DAA, justificado por seu baixo efeito curativo, mas que ao longo das pulverizações mostraram-se altamente eficientes, graças à sua principal característica que é uma ampla proteção das partes tratadas. A utilização das estrobilurinas de forma preventiva garante o sucesso no manejo de doenças. O tratamento 9 (oxicloreto de cobre + óleo), essencialmente protetor, mostra que é altamente dependente das condições climáticas, mostrando-se muitas vezes na mesma condição da testemunha. Os resultados observados neste experimento permitem afirmar que os melhores resultados foram obtidos com trifloxystrobin em mistura com tebuconazole (tratamento 4) e com iprodione (tratamento 7). Considerando pelo aspecto de resistência do patógeno à ação de fungicidas, as melhores alternativas seriam as misturas no tratamento 4 (trifloxystrobin + tebuconazole, 2 aplicações e mancozeb, 3 aplicações) e no tratamento 6 (trifloxystrobin + propiconazole).

Tabela 7. Dados de incidência de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em folhas de tangor murcote, realizado em diferentes épocas após a aplicação. Pratânia/SP, 2005.

Tratamentos	Avaliações ¹							
	15 DAA ²		30 DAA		45 DAA		60 DAA	
azoxystrobin	54,0	bc	48,0	ab	27,0	ab	9,0	bc
pyraclostrobin	46,0	c	34,0	b	22,0	ab	7,0	bc
trifloxystrobin	54,0	bc	29,0	bc	19,0	ab	6,0	bc
trifloxys. + tebuconaz.								
mancozeb	58,0	bc	14,0	cd	23,0	ab	1,0	c
difenoconazole	70,0	ab	12,0	cd	19,0	ab	6,0	bc
trifloxys.+ propiconazole	73,0	abc	9,0	d	20,0	ab	10,0	bc
iprodione	43,0	c	11,0	d	15,0	b	13,0	b
trifloxys + propineb								
cobre	49,0	bc	12,0	d	34,0	ab	16,0	ab
cobre + óleo	54,0	bc	11,0	d	23,0	ab	20,0	ab
testemunha	80,0	a	61,0	a	40,0	a	30,0	a
C.V. (%) ³	25,12		46,44		51,05		65,15	

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{x+0,5}$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

Quanto às diferentes doses avaliadas (Tabela 8), os resultados demonstram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos, desta forma indicando-se a dose recomendada pelo fabricante, pois além de um controle eficiente ainda permite um manejo com menor risco de seleção de resistentes, principalmente para aqueles produtos com único sítio de ação tal como as estrobilurinas e dicarboximida, considerados de alto risco de resistência.

Tabela 8. Efeito de diferentes doses de fungicidas utilizados no controle de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em folhas de tangor murcote. Pratânia/SP, 2005.

Doses	Avaliações ¹			
	15 DAA ²	30 DAA	45 DAA	60 DAA
1	53,0 a	21,0 a	19,0 a	8,0 a
2	58,0 a	21,0 a	24,0 a	10,0 a
3	55,0 a	18,0 a	24,0 a	12,0 a
C.V.(%) ³	25,02	50,06	43,97	74,07

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{x+0,5}$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

4.6.2 Número de lesões de mancha marrom de alternaria em folhas de murcote.

Os resultados demonstram que aos 15 DAA os tratamentos de 1 a 8 não apresentaram diferença estatística entre si, sendo os tratamentos 6,7,8 e 9 estatisticamente igual à testemunha. Os tratamentos 2, 3, 4 e 5 foram superiores à testemunha nesta avaliação. Na avaliação aos 30 DAA os tratamentos de 2 a 9 foram superiores à testemunha, somente o tratamento 1 foi estatisticamente igual à testemunha nesta avaliação e os tratamentos 3 a 9 não diferiram estatisticamente entre si. Aos 45 DAA somente o tratamento 8 mostrou-se inferior aos demais, talvez devido a falhas na amostragem. Aos 60 DAA os tratamentos de 1 a 7, 9 e 10 não apresentaram diferença estatística entre si, porém, igualmente à incidência a utilização de difenoconazole (tratamento 4) foi a que promoveu o menor número de lesões por folha (Tabela 9). Este fato pode estar relacionado à baixa pressão de doença observada no experimento, onde mesmo na testemunha verificou-se uma redução tanto na severidade quanto na incidência ao longo do período de avaliações. Aos 45 DAA somente o tratamento 8 mostrou-se estatisticamente inferior aos demais tratamentos, mantendo-se assim até a avaliação aos 60 DAA.

Tabela 9. Número de lesões de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em folhas de tangor murcote, submetidas a diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005.

Tratamentos	Avaliações ¹			
	15 DAA ²	30 DAA	45 DAA	60 DAA
azoxystrobin	2,05 abc	1,08 ab	0,53 b	0,200 bc
pyraclostrobin	0,98 c	0,80 bc	0,65 b	0,120 c
trifloxystrobin	1,02 c	0,60 bcd	0,38 b	0,130 c
trifloxys. + tebuconaz.				
mancozeb	1,15 c	0,24 cd	0,58 b	0,003 c
difenoconazole	1,16 bc	0,26 cd	0,25 b	0,086 c
trifloxys.+ propiconazole	1,48 abc	0,13 d	0,34 b	0,260 bc
iprodione	1,57 abc	0,22 d	0,28 b	0,280 bc
trifloxys + propineb				
cobre	2,26 abc	0,30 cd	4,45 a	1,790 a
cobre + óleo	2,84 a	0,58 bcd	0,92 b	0,960 b
testemunha	2,71 ab	1,46 a	0,84 b	0,770 bc
C.V.(%) ³	8,62	4,22	10,66	5,64

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

Quanto às diferentes doses utilizadas observadas na Tabela 10, verifica-se que ao 15 e 30 DAA não houve diferença significativa entre as doses. Aos 45 DAA a menor dose foi melhor do que a dose maior e aos 60 DAA as doses 1 e 2 foram melhores do que a dose 3.

Tabela 10. Efeito de diferentes doses de fungicidas utilizados no controle de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em folhas de tangor murcote, sobre o número de lesões. Pratânia/SP, 2005.

Doses	Avaliações ¹			
	15 DAA ²	30 DAA	45 DAA	60 DAA
1	1,12 a	0,40 a	0,46 b	2,29 b
2	1,65 a	0,49 a	0,80 ab	2,32 b
3	2,06 a	0,50 a	1,52 a	2,39 a
C.V.(%) ³	10,43	4,79	10,27	5,74

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

4.6.3 Incidência de mancha marrom de alternaria em frutos de murcote.

A elevada incidência de mancha marrom de alternaria pode ser observada na testemunha nas duas primeiras avaliações, onde 100% dos frutos apresentavam lesões do patógeno (Tabela 11). Na primeira e na última avaliação todos os tratamentos com fungicidas diferiram estatisticamente da testemunha, demonstrando a necessidade de controle. Na segunda avaliação também não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos com fungicidas, porém somente os tratamentos 1, 2, 3 e 7 foram estatisticamente superiores à testemunha. Este fato pode estar correlacionado às condições climáticas (Figura 7) que favoreceram uma maior pressão de mancha marrom de alternaria no período.

Tabela 11. Incidência de mancha marrom de alternaria em frutos de murcote submetidos à diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005.

Tratamentos	Avaliações ¹		
	142 DAA ²	173 DAA	203 DAA
azoxystrobin	8,9 d	42,7 b	0,0 b
pyraclostrobin	18,0 bcd	40,0 b	10,0 b
trifloxystrobin	11,1 cd	43,3 b	6,7 b
trifloxys. + tebuconaz.			
mancozeb	16,7 bcd	51,1 ab	0,0 b
difenoconazole	39,6 bcd	74,4 ab	0,0 b
trifloxys.+			
propiconazole	52,8 b	73,3 ab	0,0 b
iprodione	28,9 bcd	42,2 b	1,7 b
trifloxys + propineb			
cobre	38,9 bcd	75,5 ab	13,3 b
cobre + óleo	49,9 bc	80,0 ab	6,7 b
testemunha	100,0 a	100,0 a	35,5 a
C.V.(%) ³	84,76	64,36	246,91

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{x+0,5}$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

Na Tabela 12 se observa o efeito de diferentes doses sobre a incidência em frutos de murcote, ficando evidente que a dose recomendada pelo fabricante (dose 2) foi a que melhor resultado apresentou, não diferindo da maior dose em nenhuma das avaliações e sendo superior à menor dose na primeira e terceira avaliações.

Tabela 12. Efeito de diferentes doses de fungicidas utilizados na incidência de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* em frutos de tangor murcote. Pratânia/SP, 2005.

Doses	Avaliações ¹		
	142 DAA	173 DAA	203 DAA
1	50,1 a	77,6 a	9,7 a
2	36,0 b	63,3 ab	6,0 b
3	23,3 b	45,8 b	6,5 ab
C.V.(%) ³	76,58	62,78	178,36

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

4.6.4 Lesões em meio fruto de murcote.

Na primeira avaliação (Tabela 13) constatou-se que a testemunha apresentou o maior número de lesões quando comparada com os outros tratamentos. Os tratamentos 1, 2, 3 e 4 foram os que apresentaram o menor número de lesões, porém não diferiram estatisticamente dos demais tratamentos. Este mesmo fato se repetiu para as demais avaliações, isto é, todos os tratamentos fungicidas foram estatisticamente superiores à testemunha, sendo que na segunda e terceira avaliações não ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos fungicidas. Isto demonstra que as pulverizações, independente do ingrediente ativo utilizado, propiciaram um menor número de lesões em meio fruto.

Tabela 13. Efeito do número de lesões em meio fruto de murcote submetidos a diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005.

Tratamentos	Avaliações ¹					
	142 DAA ²		173 DAA		203 DAA	
azoxystrobin	2,290	c	2,727	b	0,7071	b
pyraclostrobin	2,359	c	2,374	b	0,7761	b
trifloxystrobin	2,312	c	2,374	b	0,7761	b
trifloxys. + tebuconaz.						
mancozeb	2,401	c	2,773	b	0,7071	b
difenoconazole	2,625	bc	2,774	b	0,7071	b
trifloxys.+						
propiconazole	2,943	b	2,552	b	0,7071	b
iprodione	2,449	bc	2,348	b	0,7416	b
trifloxys + propineb						
cobre	2,482	bc	2,558	b	0,7761	b
cobre + óleo	2,483	bc	2,524	b	0,7416	b
testemunha	4,337	a	3,852	a	1,0307	a
C.V. (%) ³	15,58		13,47		15,70	

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

Na Tabela 14 pode-se comprovar que a dose recomendada pelo fabricante mostrou-se a melhor opção não diferindo das demais doses em nenhuma das avaliações.

Tabela 14. Número de lesões de mancha marrom de alternaria em meio fruto de murcote submetidos a diferentes tratamentos com fungicidas. Pratânia/SP, 2005.

Doses	Avaliações ¹		
	142 DAA ²	173 DAA	203 DAA
1	2,77 a	2,74 a	0,77 a
2	2,72 ab	2,74 a	0,75 a
3	2,51 b	2,58 a	0,78 a
C.V. (%) ³	17,97	23,32	21,27

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

4.6.5 Frutos caídos no solo.

Não houve diferenças significativas entre tratamentos e doses utilizadas. Um fator que pode ter prejudicado a avaliação seria o manejo da cultura, a roçadeira pode ter espalhado os frutos de modo a dificultar a separação dos mesmos por planta.

Tabela 15. Número de frutos caídos no solo submetidos a tratamento com diferentes fungicidas. Pratânia/SP, 2005.

Tratamentos	Avaliações ¹	
	236 DAA ²	261 DAA
azoxystrobin	3,0 a	1,0 a
pyraclostrobin	3,0 a	3,0 a
trifloxystrobin	3,0 a	1,0 a
trifloxys. + tebuconaz.		
mancozeb	4,0 a	3,0 a
difenoconazole	2,0 a	2,0 a
trifloxys.+		
propiconazole	6,0 a	4,0 a
iprodione	3,0 a	2,0 a
trifloxys + propineb		
cobre	4,0 a	4,0 a
cobre + óleo	2,0 a	2,0 a
testemunha	3,0 a	3,0 a
C.V. (%) ³	56,94	43,27

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 16. Número de frutos caídos no solo submetidos a tratamentos com diferentes fungicidas, e diferentes doses. Pratânia/SP, 2005.

Doses	Avaliações ¹	
	236 DAA ²	261 DAA
1	4,0 a	3,0 a
2	3,0 a	3,0 a
3	3,0 a	2,0 a
C.V. (%) ³	46,80	46,52

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. DAA - dias após a primeira aplicação.

3. Coeficiente de variação em porcentagem.

4.6.6 Produtividade

Os dados de produção demonstram que todos os tratamentos diferiram da testemunha (Tabela 17), mostrando que independente do produto utilizado obteve-se uma produção superior, chegando até ao dobro do número de caixas/ha. Numericamente pode-se notar que o tratamento 8 foi o que apresentou o maior número de caixas/ha, seguido do tratamento 6 com 308,78 caixas/ha. Porém ao verificar o custo de aplicação em caixas por tratamento (Tabela 23) nota-se que o tratamento 6 seria o mais rentável, pois descontando o custo da aplicação seria o tratamento com a maior produtividade em caixas/ha.

Tabela 17. Avaliação de produtividade de tangor murcote, submetida a diferentes tratamentos com fungicidas visando o controle de mancha marrom de alternaria. Pratânia/SP, 2005.

	Produtividade		
	Kg/planta ¹	Kg/ha	caixa/ha
azoxystrobin	41,89 a	11980,54 a	293,60 a
pyraclostrobin	39,78 a	11377,08 a	278,85 a
trifloxystrobin	37,44 a	10707,84 a	262,45 a
trifloxys. + tebuconaz.			
mancozeb	42,36 a	12114,96 a	296,90 a
difenoconazole	39,68 a	11348,48 a	278,15 a
trifloxys.+ propiconazole	44,05 a	12598,30 a	308,78 a
iprodione	40,18 a	11491,48 a	281,65 a
trifloxys + propineb			
cobre	48,75 a	13942,50 a	341,73 a
cobre + óleo	40,73 a	11648,78 a	285,51 a
testemunha	21,80 b	6234,80 b	152,81 b
C.V.(%) ²	15,13		

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. Coeficiente de variação em porcentagem.

Na Tabela 18, onde se verifica a diferença entre doses dos produtos utilizados, a dose recomendada pelo mostrou-se estatisticamente superior à menor dose e não apresentou diferença estatística para a maior dose.

Tabela 18. Produtividade de tangor murcote, submetida a diferentes tratamentos com fungicidas e diferentes doses visando o controle de mancha marrom de alternaria. Pratânia/SP, 2005.

Doses	Produtividade		
	Kg/planta ¹	Kg/ha	caixa/ha
1	44,59 a	12752,74	312,57
2	37,31 b	10670,66	261,53
3	43,06 ab	12315,16	301,84
C.V.(%) ²	19,51		

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$

2. Coeficiente de variação em porcentagem.

Os melhores resultados obtidos no teste “in vitro” foram confirmados no ensaio de campo, pois os ingredientes ativos iprodione, trifloxystrobin, azoxystrobin, pyraclostrobin, difenoconazole e trifloxystrobin + propiconazole, apresentaram bons resultados tanto no teste “in vitro” como no ensaio de campo.

Os produtos utilizados como padrão na Flórida: iprodione, trifloxystrobin, azoxystrobin, pyraclostrobin e cobre (Timmer, 2004b); também apresentaram resultados satisfatórios em nossa região, sendo então o fator preço que irá condicionar a escolha do produto.

As estrubilurinas pyraclostrobin, azoxystrobin e o cobre utilizados tanto em mistura com óleo vegetal como após duas aplicações da mistura trifloxystrobin + propinebe promoveram um bom controle quando comparado com a testemunha, confirmando os resultados obtidos por Alka Bathia & Timmer (2001).

4.6.7 Análise qualitativa

Os tratamentos e as doses avaliadas não diferiram entre si quanto ao brix e acidez, mostrando que a aplicação de fungicidas não interferiu na qualidade do fruto, quanto ao pH o tratamento 1 diferiu da testemunha, mas não diferiu dos outros tratamentos. Pode-se notar que os frutos apresentaram uma acidez alta, acarretando num ratio mais baixo do que o desejável que seria em torno de 13,7 (Figueiredo, 1991).

A alta acidez se deve ao fato da colheita ter sido realizada antes da completa maturação dos frutos, pois esta é feita após a liberação dada por um funcionário da empresa que irá comprar os frutos.

Tabela 19. Brix em °Brix, acidez em percentagem, ratio e pH de frutos de murcote.

	Avaliações Qualitativas ¹			
	Brix	Acidez	Ratio	pH
azoxystrobin	11,61 ab	1,33 a	8,719489	3,06 a
pyraclostrobin	11,39 ab	1,35 a	8,430951	2,96 ab
trifloxystrobin	10,99 b	1,34 a	8,222139	3,02 ab
trifloxys. + tebuconaz.				
mancozeb	11,45 ab	1,32 a	8,643774	2,99 ab
difenoconazole	11,99 a	1,37 a	8,741254	3,02 ab
trifloxys.+ propiconazole	11,58 ab	1,37 a	8,421818	3,00 ab
iprodione	11,79 ab	1,47 a	9,305961	3,00 ab
trifloxys + propineb				
cobre	11,81 ab	1,48 a	7,987821	2,99 ab
cobre + óleo	11,81 ab	1,48 a	8,014247	2,99 ab
testemunha	11,37 ab	1,28 a	8,892103	3,45 b
C.V.(%) ²	2,85	4,38		1,46

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. Coeficiente de variação em percentagem.

Tabela 20. Brix, acidez, ratio e pH de frutos de murcote, submetidos à diferentes doses.

Doses	Avaliações Qualitativas			
	Brix	Acidez	Ratio	pH
1	11,564 a	1,40 a	8,23	2,97 a
2	11,577 a	1,34 a	8,61	3,02 a
3	11,665 a	1,42 a	8,21	3,03 a
C.V.(%) ²	2,47	4,99		1,66

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. .Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. Coeficiente de variação em percentagem.

4.6.8 Análise quantitativa

Os resultados mostram que não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos quanto ao tamanho e ao peso do fruto, à exceção do tratamento 8 (trifloxistrobin + propinebe, 2 aplicações e oxicloreto de cobre, 3 aplicações) que mostrou-se estatisticamente superior à testemunha em todas as avaliações (Tabela 21). Um fator responsável pela testemunha apresentar apenas frutos grandes é devido à queda dos frutos novos que foi observada visualmente.

Não houve efeito de dose nos diâmetros dos frutos (Tabela 22).

Tabela 21. Avaliação quantitativa de frutos de murcote com medições longitudinais e transversais dos frutos e peso de frutos em gramas.

	Diâmetro de Fruto ¹		Peso ¹ (gramas)
	Longitudinal (mm)	Transversal (mm)	
azoxystrobin	69,052 a	58,01 a	155,541 a
pyraclostrobin	69,290 a	57,68 a	154,689 a
trifloxystrobin	68,786 a	56,49 ab	158,209 a
trifloxys. + tebuconaz.			
mancozeb	68,225 ab	56,40 ab	149,316 ab
difenoconazole	68,754 a	56,80 a	152,330 a
trifloxys.+ propiconazole	69,244 a	56,86 a	153,731 a
iprodione	68,395 ab	55,99 ab	148,366 ab
trifloxys + propineb			
cobre	65,396 b	54,05 b	131,430 b
cobre + óleo	67,261 ab	56,77 a	143,396 ab
testemunha	68,804 a	57,63 a	152,721 a
C.V.(%) ²	1,96	1,88	5,04

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. Coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 22. Variação de doses para avaliação quantitativa de frutos de murcote.

Dose	Diâmetro de Fruto ¹		Peso ¹ (gramas)
	Longitudinal (mm)	Transversal (mm)	
1	67,696 a	55,521 a	146,695 a
2	68,776 a	56,937 a	151,650 a
3	68,329 a	57,222 a	116,548 a
C.V.(%) ²	1,98	2,03	4,99

1. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para análise os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

2. Coeficiente de variação em porcentagem.

4.6.9 Custo de aplicação

O custo dos ingredientes ativos utilizados no manejo de MMA é um fator importante na tomada de decisão, uma vez vencido os demais parâmetros técnicos que norteiam esta escolha. Dos produtos utilizados neste experimento verifica-se que o tratamento 6 (trifloxystrobin + propiconazole), efetuado em 5 aplicações, mostrou-se o mais eficiente para a relação custo / benefício, pois mostrou-se tecnicamente igual ao tratamento 8 (trifloxystrobin + propineb, em duas aplicações e oxicloreto de cobre em 3 aplicações) (Tabela 23). O que se observou neste experimento é que, independente do ingrediente ativo utilizado, todos os tratamentos avaliados mostraram-se economicamente viáveis, pois as perdas provocadas pela doença foram superiores a 50% se comparadas com os tratamentos fungicidas.

Tabela 23. Custo das aplicações utilizadas no controle de mancha marrom de alternaria, preço de uma aplicação por hectare, preço das cinco aplicações efetuadas e custo transformado em caixas de murcote por hectare.

Produto Comercial	Dose	Custo (US\$)			custo em caixa/ha
		aplic/ha	ha	ha	
1 azoxystrobin	50 g	22,38	111,91		
	100 g	44,76	223,83		64
	150 g	67,15	335,74		
2 pyraclostrobin	100 ml	14,92	74,61		
	200 ml	29,84	149,22		43
	300 ml	44,76	223,82		
3 trifloxystrobin	37,5 g	27,98	139,89		
	75,0 g	55,96	279,78		80
	112,5 g	83,93	419,67		
4 trifloxystrobin + tebuconazole (2 aplicações)	250 ml	29,84	59,69		
	500 ml	59,69	119,37		
	750 ml	89,53	179,06		
				76,10	
	mancozeb (3 aplicações)	1000 g	5,47	16,41	44
		2000 g	10,94	32,82	
5 difenoconazole		3000 g	16,41	49,24	
	175 ml	31,33	156,67		
	350 ml	62,67	313,35		90
	525 ml	94,01	470,04		
6 trifloxystrobin + propiconazole	37,5 ml	4,10	20,50		
	75 ml	8,20	41,02		12
	112,5 ml	12,30	61,50		
7 iprodione	75 ml	23,63	118,13		
	150 ml	47,25	236,26		68
	225 ml	70,88	355,22		
8 trifloxystrobin + propinebe (2 aplicações)	500 g	37,93	75,85		
	1000 g	75,85	151,70		
	1500 g	113,78	227,56	90,77	
				181,55	52
	oxicloreto de cobre (3 aplicações)	1000 ml	4,97	14,92	
		2000 ml	9,95	29,84	
9 oxicloreto de cobre + óleo		3000 ml	14,92	44,77	
	1000 ml + 500 ml	7,46	37,30		
	2000 ml + 1000 ml	14,92	74,61		21
10 Testemunha	3000 ml + 1500 ml	22,38	111,91		
	-				

4.6.10 Dados climáticos.

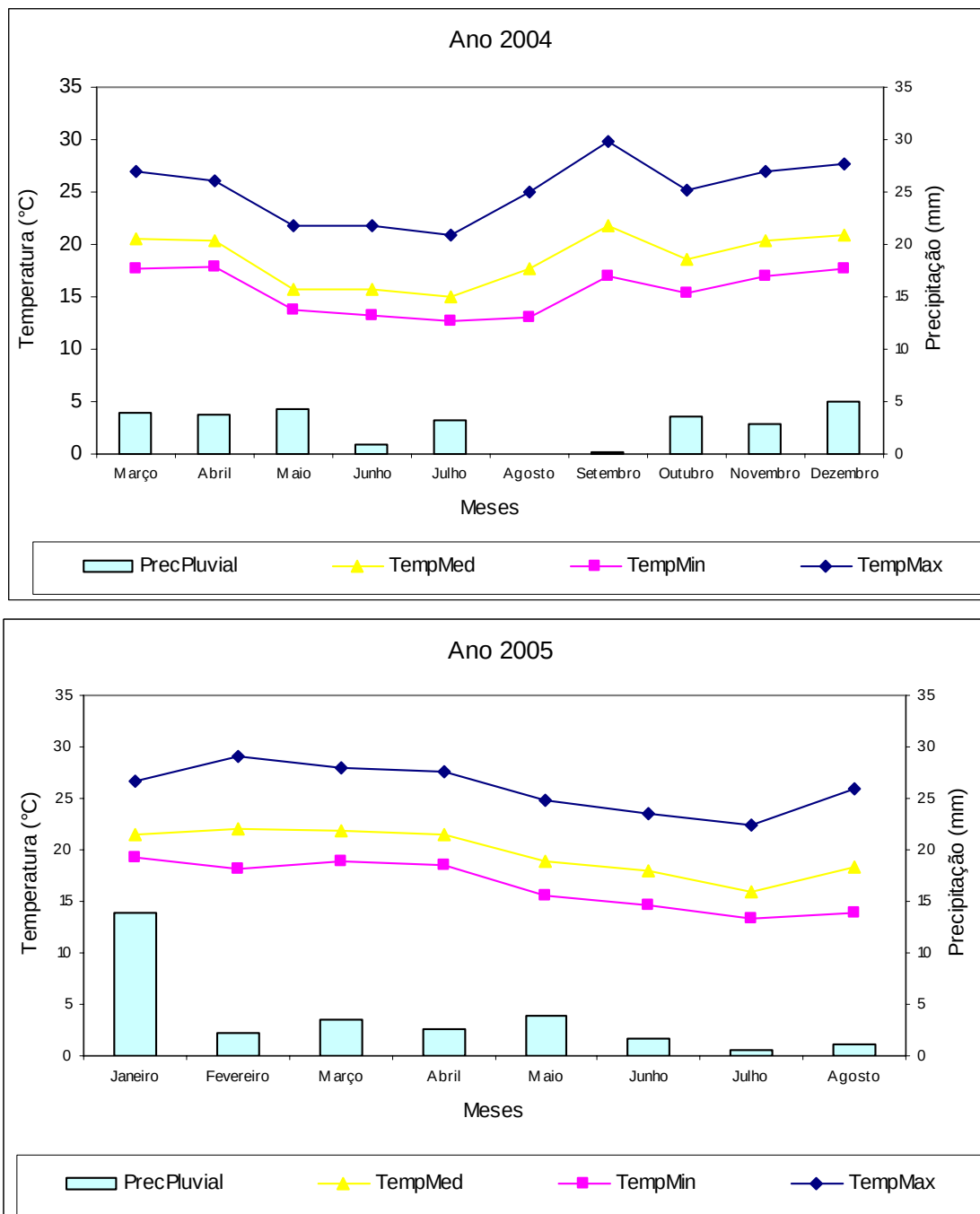


Figura 7. Dados climáticos referentes ao ano de 2004 e 2005, no período em que ocorreu a pesquisa. Fonte: Departamento de Ciências Naturais, FCA/Unesp.

Observando os dados climáticos referentes ao ano de 2004 (Figura 7) pode-se observar que no período da instalação do experimento e início das pulverizações (agosto-setembro) a precipitação foi muito baixa e a temperatura manteve-se numa média de 20°C. No ano de 2005 nota-se que no mês de janeiro houve um aumento na quantidade de chuva que diminuiu ao longo do ano e a temperatura se manteve em torno de 23°C, esta condição de temperatura elevada e umidade é um fator favorável ao desenvolvimento do patógeno que pode ter acarretado numa pressão maior do patógeno nos frutos (Tabela 11).

Durante o período do experimento a temperatura média permaneceu ao redor de 20°C (Figura 7), condição favorável ao desenvolvimento do patógeno, tendo em vista que o seu ótimo fica em torno de 25°C , influenciando em algumas avaliações o alto índice de doença.

5 CONCLUSÕES

1. Para o crescimento micelial de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* a temperatura de 25°C é a que proporciona um crescimento mais acentuado da colônia e a temperatura de 28°C a melhor temperatura para obtenção de esporos;
2. A luminosidade não influe no crescimento micelial;
3. No teste “in vitro” os ingredientes ativos iprodione, trifloxystrobin, azoxystrobin, pyraclostrobin, difenoconazole e trifloxystrobin + propiconazole inibiram completamente o crescimento do patógeno;
4. O meio de cultura V8 é eficiente para o isolamento de *Alternaria alternata* f. sp. *citri*;
5. São eficientes para proteção de folhas de *Alternaria alternata* f. sp. *citri* as misturas trifloxystrobin + tebuconazole e trifloxystrobin + propiconazole;
6. A mistura trifloxystrobin com propiconazole é rentável na comparação produtividade/custo, sendo recomendável para o controle de mancha marrom de alternaria.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI, J. P.; BUSHONG, P. M.; TIMMER, L.W. Greenhouse evaluation of products that induce host resistance of control of scab, melanose, and alternaria brown spot of citrus. **Plant Disease**, v.87, p.69-74, 2003.

ALKA BHATIA; ROBERTS, P.D.; TIMMER, L.W. Evaluation of the Alter-Rater Model for timing of fungicide applications for control of Alternaria brown spot of citrus. **Plant Disease**, v.87, p.1089-1093, 2003.

ALKA BHATIA & TIMMER, L.W. Evaluation of products for control of Alternaria brown spot on Novas, 2004. Disponível em
<<http://www.crec.ifas.ufl.edu/timmer/alternariafungicidereports.htm>>. Acesso em: 28 janeiro 2006.

ALKA BHATIA & TIMMER, L.W. Evaluation of fungicides for control of Alternaria brown spot on Murcotts, 2002a. Disponível em
<<http://www.crec.ifas.ufl.edu/timmer/alternariafungicidereports.htm>>. Acesso em: 28 janeiro 2006.

ALKA BHATIA & TIMMER, L.W. Evaluation of fungicides for control of Alternaria brown spot on Minneola tangelo, 2002b. Disponível em <http://www.crec.ifas.ufl.edu/timmer/alternariafungicidereports.htm>. Acesso em: 28 janeiro 2006.

ALKA BHATIA & TIMMER, L.W. Evaluation of fungicides for control of Alternaria brown spot on Murcotts, 2001. Disponível em <http://www.crec.ifas.ufl.edu/timmer/alternariafungicidereports.htm>. Acesso em: 28 janeiro 2006.

ALKA BHATIA & TIMMER, L.W. Evaluation of fungicides for control of Alternaria brown spot on Murcotts, 2000. Disponível em <http://www.crec.ifas.ufl.edu/timmer/alternariafungicidereports.htm>. Acesso em: 28 janeiro 2006.

ALVA, A.K.; GRAHAM, J.H. The role of copper in citriculture. **Adv. Agron.** v. 1, p. 145-170, 1991.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. São Paulo: Organização Andrei Editora Ltda, 1999.

AZEVEDO, L.A.S.; OLIVEIRA, S.H.F. Utilização de fungicidas protetores no manejo da resistência de fungos. **Boletim Técnico**, FRAC-BR, n.1, Campinas, SP, 2003.

CANIHOS, Y.; PEEVER, T.L.; TIMMER, L.W. Temperature, leaf wetness, and isolate effects on infection of Minneola Tangelo leaves by Alternaria sp. **Plant Disease**, v.83, p.429-433, 1999.

FANCELLI, M.I.; KIMATI, H. Ocorrência de linhagens de *Alternaria dauci* resistentes ao fungicida iprodione no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 14, n. 1/2, p.51, 1988.

FIGUEIREDO, J. O. Variedades comerciais. In: RODRIGUES, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. S. (Ed.). **Citricultura brasileira**. 2 ed. Campinas, SP. Fundação Cargill, v.1, p. 228-264, 1991.

FUNDECITRUS. Fundo de Defesa da Citricultura. Disponível em:<<
www.fundecitrus.com.br>>. Acesso em: 10 maio 2004.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002.

GOODING, G.V.; LUCAS, G.B. Factors influencing sporangial formation and zoospore activity in *Phytophthora parasitica* v. *nicotianae*. **Phytopathology**, v. 49, p. 277-281, 1959.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. Banco de dados. IEA. Disponível em:<<http://www.iea.sp.gov.br/out/ibcoiea.php>>. Acesso em: fevereiro 2005.

MARINO, L.K.; FERRAZ, F.M.; SILVA, M.M. Novo contrato de venda de laranja. **In: FNP Consultoria & Comercio. Agrianual 2003 – anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2003. p.297-98.

MILLER, P.M. V-8 juice Agar as a general purpose médium for fungi and bacteria. **Phytopathology**, v.45, p. 461-462, 1955.

MONDAL, S.N.; ALKA BHATIA, SHILTS, T., TIMMER, L.W. Baseline sensitivities of fungal pathogens of fruit and foliage of citrus to azoxystrobin, pyraclostrobin and fenbuconazole. *Plant Disease*, v. 89, p. 1186-1194, 2005.

PEREIRA, F.D.; SQUASSONI, V.L.; NOZAKI, M.H.; SOUZA, A.; GOES, A. Germinação de *Alternaria alternata* em meio de cultura, sob diferentes períodos de incubação. **Summa Phytopathologica**, v.32, p. 92, 2006.

PERES, N.A.R.; AGOSTINI, J.P.; TIMMER, L.W. Outbreaks of *Alternaria* Brown spot of citrus in Brazil and Argentina. **Plant Disease**, v. 87, p. 750, 2003.

PRATES, H.S. Mancha de *Alternaria* nas tangerinas. **Revista Coopercitrus**, Campinas, n.205, 2004.

ROTEM, J. **The genus *alternaria*: biology, epidemiology and pathogenicity**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1994. 326p.

ROSSETTI, V.V. **Manual ilustrado de doenças dos citros**. Piracicaba: Fealq/Fundecitrus, 2001. 207p.

TIMMER, L.W.; ROBERTS, P.D.; CHUNG, K.R. 2004 Florida Citrus Pest Management Guide: *Alternaria* Brown Spot. Disponível em:<< <http://edis.ifas.ufl.edu>>>. Acesso em: 10 jan. 2004a.

TIMMER, L.W. *Alternaria* Brown Spot. Disponível em:<<http://www.crec.ifas.ufl.edu/timmer>>. Acesso em: 24 setembro 2004b.

TIMMER, L. W.; GARNSEY, S.M.; GRAHAM, J.H. **Compendium of citrus diseases**. 2ª edição. Minnesota: APS Press, 2000.

TIMMER, L.W.; SOLEL, Z.; GOTTWALD, T.R.; IBÁÑEZ, A.M.; ZITKO, S.E. Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of citrus. **Phytopathology**, v.88, p.1218-1223, 1998.

TUITTE, J. **Plant Pathological Methods – Fungi and Bacteria**. Minneapolis: Burgess Publish Co,1969.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 – Meios de cultura

1. Suco V8 conforme Miller (1955)

V8	100mL
CaCO ₃	2 g
Agar	17 g
Água destilada	900 mL

Preparo: fundir o ágar e misturar aos outros ingredientes. Esterilizar em autoclave.

2. Meio de Martin (Tuite, 1969)

Dextrose.....	10 g
Peptona	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,5 g
Ágar	20 g
Água destilada	1000 mL
Rose bengal	0,033 g

Preparo: misturar os ingredientes dissolvidos à água destilada. Autoclavar durante 20 minutos. Adicionar o sulfato de estreptomicina quando o meio esfriar até 42-45°C.

3. Extrato de folha de murcote (EF) (Modificado de Tuiti, 1969)

Triturar 800 gramas de folha de murcote, por 3 minutos em liquidificador, em 2560 mL de água deionizada. Em 1000 mL do extrato, coado em papel filtro, adicionar 16 g de agar, ajustar o pH para 5,7 e autoclavar.

4. Suco de tomate-ágar (STA) (Modificado de Tuiti, 1969)

Preparado com 1000 mL de suco de tomate, 7,5 g de CaCO₃. Esta mistura foi passada em centrifugador FANEM modelo 204-NR a 2500 rpm por 3 minutos. Recolheram-se 200 mL

do sobrenadante completando-se o volume para 1000 mL com água destilada, ajustando-se o pH para 6,0. Adicionaram-se 17 g de agar, e autoclava.

5. Aveia-ágar (AVA) (Gooding & Lucas, 1959)

Aveia em flocos75 g
 Agar17 g
 Água destilada1000 mL

Preparo: misturar em um liquidificador, durante 5 minutos, 75 g de aveia em flocos a 600 mL de água. Aquecer a mistura a 45-55°C e adicionar 17 g de agar brevemente fundido em 400 mL de água. Esterilizar em autoclave.

6. Batata-cenoura-ágar (BCA) (Tuite, 1969)

Discos de batata descascada20 g
 Discos de cenoura descascada20 g
 Agar17 g
 Água destilada1000 mL

Preparo: deixar os discos de batata e cenoura em 500 mL de água, durante 60 minutos e depois ferver por 5 minutos. Filtrar o caldo através da gaze. Fundir o agar em 500 mL de água e misturar ao caldo. Ajustar o volume com água para 1000 mL. Esterilizar em autoclave.

7. Batata-dextrose-ágar

BDA39 g
 Água destilada1000 mL

Preparo: Misturar o BDA com a água destilada e autoclavar.

8. Batata-dextrose-ágar com benomyl

BDA	39 g
Água destilada	1000 mL
Benomyl	0,032 g

Preparo: Misturar o BDA com a água destilada e autoclavar. Antes de verter nas placas adicionar o benomyl.

9. Cenoura-ágar (CA) (Tuite, 1969)

Cenoura triturada	20 g
Agar	17 g
Água destilada	1000 mL

Preparo: deixar a cenoura triturada em água durante uma hora e depois ferver durante 5 minutos. Filtrar o caldo em gaze e misturar ao agar previamente fundido em 500 mL de água. Esterilizar em autoclave.