

Pinta preta dos citros



a doença e seu manejo

Geraldo José da Silva Junior | Eduardo Feichtenberger
Marcel Bellato Spósito | Lilian Amorim
Renato Beozzo Bassanezi | Antonio de Goes

Pinta preta dos citros: a doença e seu manejo

1ª Edição – Araraquara (SP)
2016

Pinta preta dos citros: a doença e seu manejo

Geraldo José da Silva Junior

Fundo de Defesa da Citricultura, Fundecitrus

Eduardo Feichtenberger

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, APTA/SAA

Marcel Bellato Spósito

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Esalq/USP

Lilian Amorim

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Esalq/USP

Renato Beozzo Bassanezi

Fundo de Defesa da Citricultura, Fundecitrus

Antonio de Goes

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/Unesp



1ª Edição – Araraquara (SP)
2016

Copyright® Fundecitrus, 2016

Capa e Diagramação: Daniel Rampazzo (Casa de Ideias)

Foto da Capa: Geraldo José da Silva Junior

Impressão: Gráfica Silvamarts

Revisão linguística: Jussara Lopes e Casa de Ideias

Revisão final: Jaqueline R. Ribas e Amanda C. G. Oliveira (Fundecitrus)

Editado pelo Fundo de Defesa da Citricultura

Responsáveis:

Geraldo José da Silva Junior

(Pesquisador)

Fabiana Assis dos Santos

(Coordenadora de Comunicação)

E-mail: comunicacao@fundecitrus.com.br

Endereço eletrônico: www.fundecitrus.com.br

Araraquara, SP – 2016

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Fundecitrus

632.4 Pinta preta: a doença e seu manejo / Geraldo José da Silva Junior
P659 (organizador); Eduardo Feichtenberger ... [et al.]. –
Araraquara, SP: Fundecitrus, 2016.
208 p.

ISBN 978-85-68170-02-1

1. Doenças de plantas 2. Citricultura 3. Pinta preta I. Silva Junior, G. J. II. Feichtenberger, E. III. Spósito, M. B. IV. Amorim, L. V. Bassanezi, R. B. VI. Goes, A. VII. Título

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte deste livro pode ser reproduzida, armazenada em um sistema de recuperação ou transmitida de qualquer forma ou por qualquer meio eletrônico, mecânico, fotocópia, gravação ou quaisquer outros sem a autorização dos autores e sem dar os devidos créditos.

ISBN: 978-85-68170-02-1

Impresso no Brasil

Agradecimentos

Aos citricultores e empresas citrícolas que são mantenedores do Fundecitrus e sempre colaboraram com a realização das pesquisas incluídas nesta publicação.

Ao presidente do Fundecitrus, Lourival Carmo Monaco, aos conselheiros, e ao gerente geral, Antonio Juliano Ayres, que apoiaram a realização desta obra.

Aos pesquisadores e funcionários do Fundecitrus, da APTA, da Esalq/USP, da FCAV/Unesp e das demais instituições parceiras, que estiveram sempre engajados na realização das pesquisas com a pinta preta dos citros e forneceram informações e imagens para esta obra.

Aos funcionários e ex-funcionários do Fundecitrus, aos alunos de graduação e pós-graduação de diferentes instituições que estiveram envolvidos nas pesquisas que geraram resultados inseridos nesta publicação.

À Coordenadoria de Defesa Agropecuária – CDA, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo – SAA/SP, pelas informações sobre o Programa Estadual de Exportação de Frutas Cítricas para a Comunidade Europeia, da CDA.

Dedicatória

Dedicamos esta obra aos citricultores que acreditam e investem na realização de pesquisas para a melhoria e sustentabilidade da citricultura.

Os autores



Geraldo José da Silva Junior

Engenheiro agrônomo graduado pela Universidade Federal de Viçosa – UFV (Viçosa-MG), em 2006, concluiu o mestrado em Fitopatologia na mesma instituição, em 2008, e o doutorado em Ciências com ênfase em Fitopatologia pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Esalq/USP (Piracicaba-SP), em 2011. Desde 2010 é pesquisador do Fundecitrus (Araraquara-SP), onde também atua como docente e orientador do Mestrado Profissional em Controle de Doenças e Pragas dos Citros. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Fitopatologia, atuando nos seguintes temas: Etiologia, Epidemiologia e Manejo de Doenças Fúngicas. No Fundecitrus é responsável por pesquisas com etiologia, epidemiologia e manejo das doenças dos citros causadas por fungos, sendo as principais a pinta preta e a podridão floral dos citros.



Eduardo Feichtenberger

Engenheiro agrônomo graduado pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Esalq/USP (Piracicaba-SP), em 1971, administrador de empresas pela Associação de Ensino de Itapetininga, em 1973, e mestre em Fitopatologia pela Universidade da Califórnia (Riverside, EUA), em 1979. É funcionário da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo (SAA) desde 1971. Trabalhou na Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI) até 1973, depois no Instituto Biológico (IB) como pesquisador até 1987, quando se transferiu para a Unidade de Pesquisa do IB de Sorocaba. Atualmente é pesquisador da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA/SAA) e chefe da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba. Tem experiência em fitopatologia, com ênfase em etiologia, epidemiologia, ecologia e manejo de doenças dos citros provocadas por fungos, incluindo a pinta preta, e patógenos do gênero *Phytophthora*.



Marcel Bellato Spósito

Engenheiro agrônomo graduado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCAV/Unesp (Jaboticabal-SP), em 1989, fez o Master em Citricultura pela Universitat Politècnica de València (Espanha), em 1993, e concluiu o mestrado em Fitotecnia pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Esalq/USP (Piracicaba-SP), em 1998, e doutorado em Fitopatologia pela mesma instituição, em 2004. Foi pesquisador do Fundecitrus (Araraquara-SP), entre 1998 e 2000, responsável por pesquisas com etiologia, epidemiologia e manejo de doenças dos citros causadas por fungos, principalmente com pinta preta. Desde 2010 é professor do Departamento de Produção Vegetal da Esalq/USP, sendo credenciado nos programas de pós-graduação em Fitotecnia e Fitopatologia desta instituição. Tem experiência com Fitopatologia, Fitotecnia e Fisiologia de plantas frutíferas.



Lilian Amorim

Engenheira agrônoma graduada pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Esalq/USP (Piracicaba-SP), em 1981, concluiu o mestrado em Fitopatologia na Université Paris XI, em 1984 e o doutorado em Ciências com ênfase em Fitopatologia pela Esalq/USP, em 1990. Desde 1988 é professora do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Esalq/USP, onde atua como orientadora e docente em disciplinas de graduação e pós-graduação em Fitopatologia. Tem experiência na área de Fitopatologia, com ênfase em etiologia, epidemiologia e manejo de doenças de plantas. Na Esalq/USP tem coordenado pesquisas com epidemiologia e manejo das doenças de diferentes plantas frutíferas, incluindo a cultura dos citros, sendo os principais temas a pinta preta, a podridão floral e o huanglongbing.



Renato Beozzo Bassanezi

Engenheiro agrônomo graduado pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Esalq/USP (Piracicaba-SP), em 1992, concluiu o mestrado e o doutorado em Agronomia, com área de concentração em Fitopatologia, na mesma instituição, respectivamente em 1996 e 2000. Desde 2000 é pesquisador do Fundecitrus (Araraquara-SP), onde também atua como docente e orientador do Mestrado Profissional em Controle de Doenças e Pragas dos Citros desde 2009. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Fitopatologia, atuando nos seguintes temas: epidemiologia, avaliação de danos e manejo de doenças de citros. No Fundecitrus é responsável por pesquisas envolvendo a epidemiologia, o manejo e os danos causados pela leprose, morte súbita, cancro cítrico, clorose variegada dos citros, huanglongbing e pinta preta.



Antonio de Goes

Engenheiro agrônomo graduado pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em 1976, concluiu o mestrado e o doutorado em Agronomia (Fitopatologia) pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Esalq/USP (Piracicaba-SP), respectivamente em 1986 e 1995. Adicionalmente, concluiu Mestrado em Biotecnologia Vegetal junto à Universidade Ibero-Americana (Huelva, Espanha) em 2003. Tem o pós-doutorado no PRI/Wageningen, Holanda, realizado entre 2010 e 2011. Atualmente é professor da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCAV/Unesp. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Fitopatologia, atuando no tema epidemiologia e manejo de doenças, causadas por fungos em diferentes plantas frutíferas, especialmente citros, tais como a pinta preta e a podridão floral.

Apresentação

A citricultura brasileira cada vez mais é dependente da capacidade de nossos citricultores de manejarem as doenças e pragas prevalentes nas mais diferentes condições edafoclimáticas. Como acontece em todas as cadeias produtivas, a eficácia do controle das pragas e doenças depende de boas práticas agrícolas alicerçadas no conhecimento técnico e científico. Dentro dessa visão, o Fundecitrus trabalha com a missão de gerar conhecimentos, adequá-los às tecnologias para cada situação específica, e levá-los aos produtores de citros.

As informações e os conhecimentos evoluem rapidamente por meio de instituições dinâmicas e inovadoras, capazes de identificar os caminhos da eficácia para uma citricultura cada vez mais competitiva em um ambiente desafiador. O foco dessa orientação é promover o capital intelectual do corpo técnico sem perder de vista a necessidade de incorporar os conhecimentos ao capital institucional para garantir sua evolução e, conseqüentemente, sua capacidade de avançar em sua missão.

O Fundecitrus definiu um plano de trabalho para agregar as informações e conhecimentos em uma série de publicações que contemplem o estado da arte de cada doença ou praga. Esses materiais, revistos periodicamente, permitem aos citricultores atualizarem continuamente suas técnicas, e com suporte individual dos seus técnicos e pesquisadores obter os melhores resultados na busca da sustentabilidade.

A presente publicação sobre a pinta preta dos citros vem preencher um espaço importante no combate à doença que tem se tornado uma ameaça constante aos produtores, afetando diretamente a lucratividade de seus pomares. O trabalho cooperativo entre os especialistas sobre a doença mostra detalhes da epidemiologia, as estratégias de manejo e seus impactos sobre a lucratividade. O controle da doença pode ser alcançado pelo uso das técnicas recomendadas de maneira isolada ou associada ao combate de outras doenças que podem ocorrer simultaneamente em períodos específicos.

Esperamos que este livro colabore efetivamente para a melhoria da lucratividade da cadeia produtiva e que novas publicações possam ser feitas constantemente pelo Fundecitrus juntamente com os seus parceiros.

Lourival Carmo Monaco
Presidente do Fundecitrus

Prefácio

A cultura dos citros, nas condições do Brasil, e particularmente nas do estado de São Paulo, é bastante vulnerável à ocorrência de doenças. Dentre elas, as ocasionadas por fungos, que são favorecidas pelo clima quente e úmido, merecem especial atenção dos citricultores devido aos prejuízos que ocasionam na ausência de medidas de controle.

Relatada inicialmente no estado do Rio de Janeiro, em 1980, a pinta preta dos citros é uma das mais importantes doenças causadas por fungos que ocorrem nas plantações de citros do Brasil. Após essa primeira constatação, a doença atingiu gradativamente novos pomares e novas regiões, sendo relatada no estado de São Paulo, em 1993, no município de Conchal, e estando hoje presente em praticamente todos os pomares cítricos adultos de quase todas as regiões citrícolas do país.

A menos que se tomem rigorosas medidas para restringir seu avanço, a doença aumenta de importância a cada ano, à medida que o pomar envelhece. Os prejuízos são devidos à queda prematura de frutos maduros, com importante redução na produtividade, e às lesões formadas na casca, que reduzem o valor comercial dos frutos destinados ao mercado de frutas frescas. A doença é também a causa de severas restrições à exportação de frutas cítricas, principalmente para os países da União Europeia.

O livro *Pinta preta dos citros: a doença e seu manejo* apresenta, de modo claro e conciso, as implicações da presença da doença em pomares cuja fruta será destinada à produção de suco, ao mercado interno de frutas frescas e às exportações. Apresenta detalhes de interesse para citricultores, pesquisadores e demais profissionais do setor que queiram se dedicar ao assunto. Além disso, discute, em profundidade, todos os tópicos de interesse para uma boa compreensão da etiologia e epidemiologia da doença, bem como os procedimentos exigidos para a exportação de frutas cítricas. O manejo da doença é descrito com muitos detalhes, abrangendo as principais medidas de controle químico, cultural, biológico, genético e alternativo, além das medidas de exclusão com as respectivas legislações vigentes no Brasil e no mundo. Nos primeiros anos de ocorrência da pinta preta no Brasil, o manejo da doença tomou como base os dados obtidos no exterior, muitos dos quais não se mostraram válidos para as condições brasileiras. As pesquisas aqui realizadas, desde a década de 1990, permitiram avançar no conhecimento da doença e possibilitaram o desenvolvimento de programas de controle adequados para nossas condições.

Este livro reflete os resultados de importantes pesquisas realizadas ao longo dos últimos 20 anos com etiologia, epidemiologia e manejo da pinta preta pelas equipes coordenadas pelos pesquisadores Geraldo José da Silva Junior, Eduardo Feichtenberger, Marcel Bellato Spósito, Lilian Amorim, Renato Beozzo Bassanezi e Antonio de Goes. O grupo é detentor de sólidos conhecimentos teóricos e possui grande experiência prática, adquirida com o engajamento direto nas pesquisas aplicadas de epidemiologia e manejo da doença no campo. Citricultores, técnicos, extensionistas, pesquisadores, professores e estudantes encontrarão nesta obra uma riquíssima e segura fonte de informações para desenvolverem suas atividades.

Nelson Gimenes Fernandes

Professor da Universidade Estadual Paulista FCAV/Unesp (Jaboticabal – SP) de 1968 a 1998

Consultor Técnico Científico do Fundecitrus de 1998 a 2002

Secretário Executivo do Fundecitrus de 2002 a 2004

Sumário

1	Histórico e distribuição geográfica	19
2	Importância da doença	25
2.1	Produção de frutos destinada ao processamento industrial	27
2.2	Produção de frutas frescas	28
2.2.1	Mercado interno	28
2.2.2	Mercado externo	29
3	O patógeno	39
3.1	Identificação	39
3.2	Detecção	41
3.2.1	Isolamento	41
3.2.2	Repicagem e obtenção de culturas monospóricas	42
3.2.3	Preservação	42
3.2.4	Características culturais	45
3.2.5	Métodos moleculares de diagnose	46
4	Hospedeiros	49
5	Sintomatologia	53
5.1	Tipos de sintomas	53
5.2	Período de expressão dos sintomas	61
6	Fitopatometria	67
7	Epidemiologia	73
7.1	Relações entre o fungo, a planta e o ambiente	76
7.1.1	Sobrevivência do inóculo	76
7.1.2	Disseminação do inóculo	76
7.1.3	Infecção e colonização	77
7.1.4	Reprodução do inóculo	78
7.2	Progresso temporal e espacial da pinta preta	78

7.2.1	Progresso temporal da doença.....	78
7.2.2	Padrão espacial da doença em pomares.....	81
7.2.3	Padrão espacial da doença na planta.....	81
7.2.4	Importância das fontes de inóculo na introdução da doença em áreas livres.....	84
7.2.5	Importância relativa dos inóculos no progresso da doença.....	89
8	Manejo da pinta preta.....	91
8.1	Medidas de exclusão.....	91
8.1.1	Medidas quarentenárias.....	91
8.1.2	Plantio de mudas sadias.....	92
8.1.3	Controle do tráfego de veículos e equipamentos.....	93
8.1.4	Remoção de material vegetal de veículos que entram na propriedade.....	93
8.2	Controle cultural.....	94
8.2.1	Cobertura ou remoção das folhas de citros caídas.....	94
8.2.2	Antecipação da colheita e remoção de frutos temporãos.....	100
8.2.3	Poda de ramos secos.....	102
8.2.4	Irrigação.....	104
8.2.5	Uso de quebra-ventos.....	104
8.3	Controle químico.....	106
8.3.1	Histórico do controle químico no mundo e no Brasil.....	108
8.3.2	Fungicidas utilizados no controle da doença.....	110
8.3.3	Período de proteção dos frutos.....	123
8.3.4	Intervalos entre as pulverizações.....	127
8.3.5	Volumes de calda.....	129
8.3.6	Utilização de óleo e adjuvantes nas aplicações.....	137
8.3.7	Custos das pulverizações para o controle da doença.....	140
8.3.8	Resistência a fungicidas e estratégias antirresistência.....	144
8.4	Demais estratégias de manejo nos pomares.....	149
8.4.1	Controle genético.....	149
8.4.2	Controle biológico e alternativo.....	153

8.5	Manejo pós-colheita.....	155
8.6	Sugestões de programas de manejo	162
8.6.1	Pomares para produção de frutas destinadas ao processamento industrial.....	162
8.6.2	Pomares para a produção de frutas frescas.....	167
8.7	Principais erros cometidos em pulverizações.....	170
9	Procedimentos para a exportação.....	173
9.1	Base legal do programa de exportação de frutos para a UE	178
9.2	Programa Paulista de Exportação de Frutas para a UE.....	180
	Referências consultadas.....	181

1 Histórico e distribuição geográfica

A pinta preta ou mancha preta dos citros é causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa* (teleomorfo: *Guignardia citricarpa*) e é específica dos citros. A doença foi descrita pela primeira vez na região costeira do estado de Nova Gales do Sul, na Austrália, em 1892, em pomares de laranjeiras doces [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], onde acarretou prejuízos pouco significativos.

Na África do Sul, a pinta preta foi constatada pela primeira vez, em 1929, em limoeiros [*C. limon* (L.) Burm f.], e depois em laranjeiras ‘Valência’, em pomares de pequenas áreas de cultivo. A partir de 1950 houve ampla distribuição geográfica da doença, assumindo elevada importância, com reflexos significativos na redução da produção e qualidade dos frutos naquele país.

A doença já foi relatada em vários países de diferentes continentes do mundo, incluindo os principais produtores de citros, tais como Argentina, Brasil, China e Estados Unidos. Em alguns países a distribuição da doença é restrita, por ocorrer em algumas regiões cítricas e não estar presente em outras (Tabela 1.1; Figura 1.1).

A pinta preta, mesmo tendo tido várias chances de ser introduzida em regiões de clima mediterrâneo, nunca se estabeleceu nelas. Em alguns países, tais como Fiji, Japão, México, Nova Zelândia, Peru e Vanuatu a doença foi relatada (CMI, 1990; Kotzé, 2000; Stringari *et al.*, 2009), embora ainda não tenha sido confirmada oficialmente ou a espécie relatada não era *P. citricarpa* (CABI/EPPO, 2016; Everett e Rees-George, 2006). Na Suazilândia e no Uruguai a doença foi considerada como presente, mas ainda há divergências na literatura. Segundo informações da Agência Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority* – EFSA) e do Sistema de Notificação e Alerta Rápido da Comissão Europeia para Interceptações de Pragas em Plantas e Produtos Vegetais (*Europhyt*), frutos cítricos com sintomas da pinta preta já foram interceptados em países da União Europeia (UE) em carregamentos provenientes de Bangladesh, Benin, Camarões, Guiné, Tailândia e Vietnã. Contudo, a doença ainda não foi oficialmente relatada nesses países.

Tabela 1.1 Distribuição geográfica de *Phyllosticta citricarpa* no mundo.

País	Situação	Fonte
Ásia		
Butão	Presente	CABI/EPP0, 2016; EPP0, 2016
China	Distribuição restrita	Zheng, 1983; EPP0, 2016
Filipinas	Presente	Kotzé, 2000; EPP0, 2016
Indonésia	Presente	Kotzé, 2000; EPP0, 2016
Taiwan	Presente	Kotzé, 2000; EPP0, 2016
África		
África do Sul	Distribuição restrita	Doidge, 1929; Wager, 1945; EPP0, 2016
Gana	Presente	Brentu <i>et al.</i> , 2012; CABI/EPP0, 2012
Quênia	Presente	Kotzé, 2000; EPP0, 2016
Moçambique	Distribuição restrita	Kotzé, 2000; EPP0, 2016
Namíbia	Poucas ocorrências	CABI/EPP0, 2012
Nigéria	Presente	Kotzé, 2000; CABI/EPP0, 2012
Suazilândia	Distribuição restrita	Kotzé, 2000; CABI/EPP0, 2012; Europhyt, 2016
Uganda	Presente	Reeder <i>et al.</i> , 2009; CABI/EPP0, 2012
Zâmbia	Presente	CABI/EPP0, 2012; EPP0, 2016
Zimbabwe	Presente	Whiteside, 1965, 1967; Kotzé, 2000; EPP0, 2016
Américas		
Argentina	Distribuição restrita	Foguet <i>et al.</i> , 1985; CABI/EPP0, 2012
Brasil	Distribuição restrita	Robbs <i>et al.</i> , 1980; CABI/EPP0, 2012
Cuba	Presente	Vázquez, 2007; Hidalgo e Pérez, 2010; CABI/EPP0, 2012
Estados Unidos	Distribuição restrita	USDA/APHIS, 2010a; Schubert <i>et al.</i> , 2010, 2012
Uruguai	Presente	USDA/APHIS, 2012a; EFSA, 2014; Europhyt, 2016
Oceania		
Austrália	Distribuição restrita	Cobb, 1897; Kiely, 1948a,b; CABI/EPP0, 2012

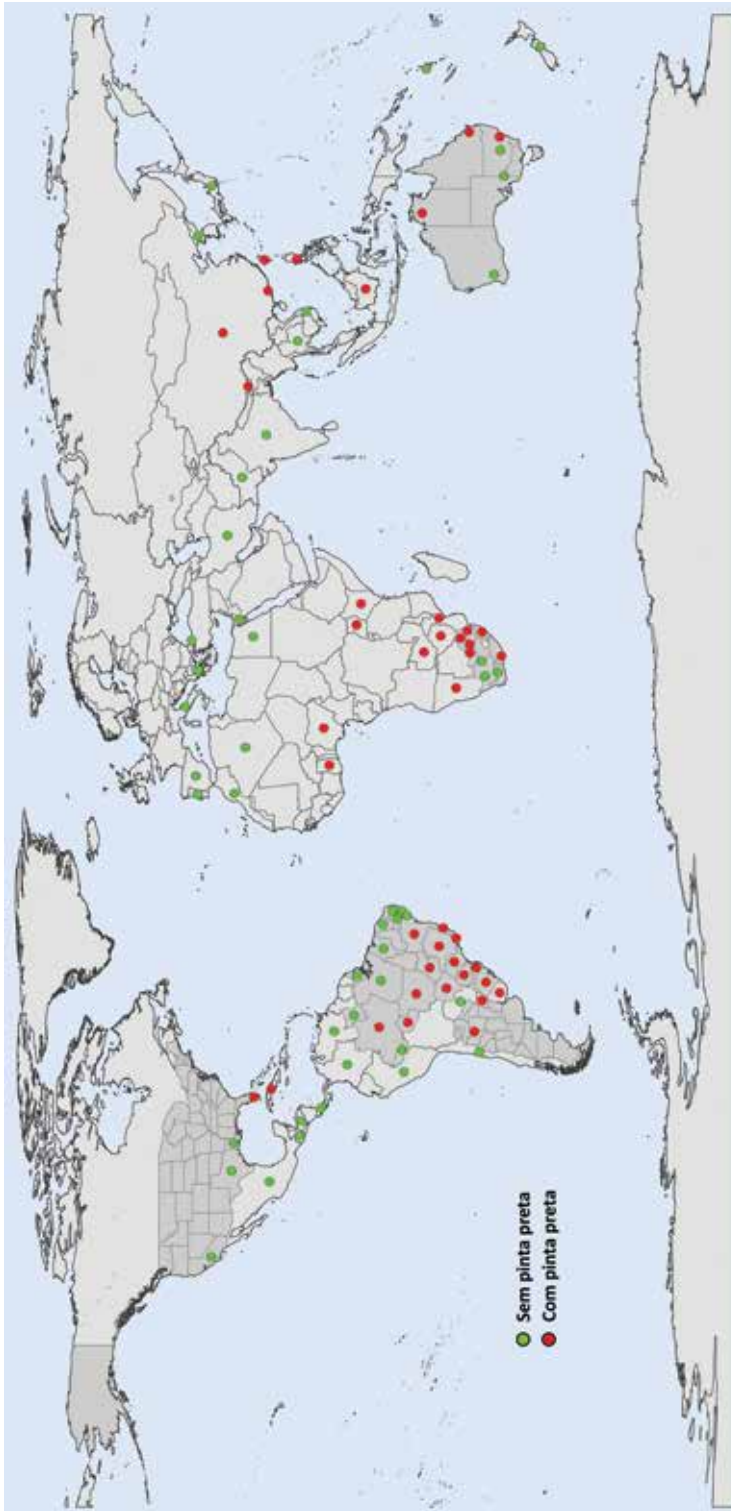


Figura 1.1 Distribuição geográfica de *Phyllosticta citricarpa* em diferentes estados e países produtores de citros do mundo.

No Brasil, o primeiro relato da pinta preta em cultivos comerciais ocorreu em 1980, em pomares de ‘Mexerica-do-Rio’ (*C. deliciosa* Ten.), nos municípios de São Gonçalo e Itaboraí, estado do Rio de Janeiro, de onde o patógeno disseminou-se, rapidamente, para outros municípios da Baixada Costeira Fluminense. Em 1986, a doença foi detectada no Vale do Caí, no estado do Rio Grande do Sul. No estado de São Paulo, a doença foi observada pela primeira vez em 1992, e relatada no ano seguinte, em pomares de limoeiros verdadeiros e laranjeiras doces de maturação tardia, nos municípios de Conchal e Engenheiro Coelho. Em Minas Gerais, a pinta preta foi observada pela primeira vez em 2001, no município de Monte Santo de Minas. Em 2002, a doença foi detectada no município de Jerônimo Monteiro, estado do Espírito Santo, afetando severamente laranjeiras ‘Natal’. Em 2004, a doença foi detectada em plantas de citros do município de Cerro Azul, localizado no Vale do Ribeira paranaense e, em 2005, em plantas da Região Noroeste do estado do Paraná. A pinta preta está presente em todos os estados das Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. Na Região Norte, está presente em Rondônia desde 2008 e no Amazonas desde 2003, quando ela foi detectada no município de Itacoatiara, em pomar de laranjeiras ‘Pera’. Na Região Nordeste, a doença foi observada inicialmente em frutos de ‘Mexerica-do-Rio’ provenientes da Bahia interceptados em São Paulo em 2008. Em 2012, foi confirmada a presença da pinta preta em cinco municípios do Recôncavo Baiano: Santo Antonio de Jesus, Jaguaripe, Laje, Varzeado e São Miguel das Matas (Tabela 1.2; Figura 1.2).

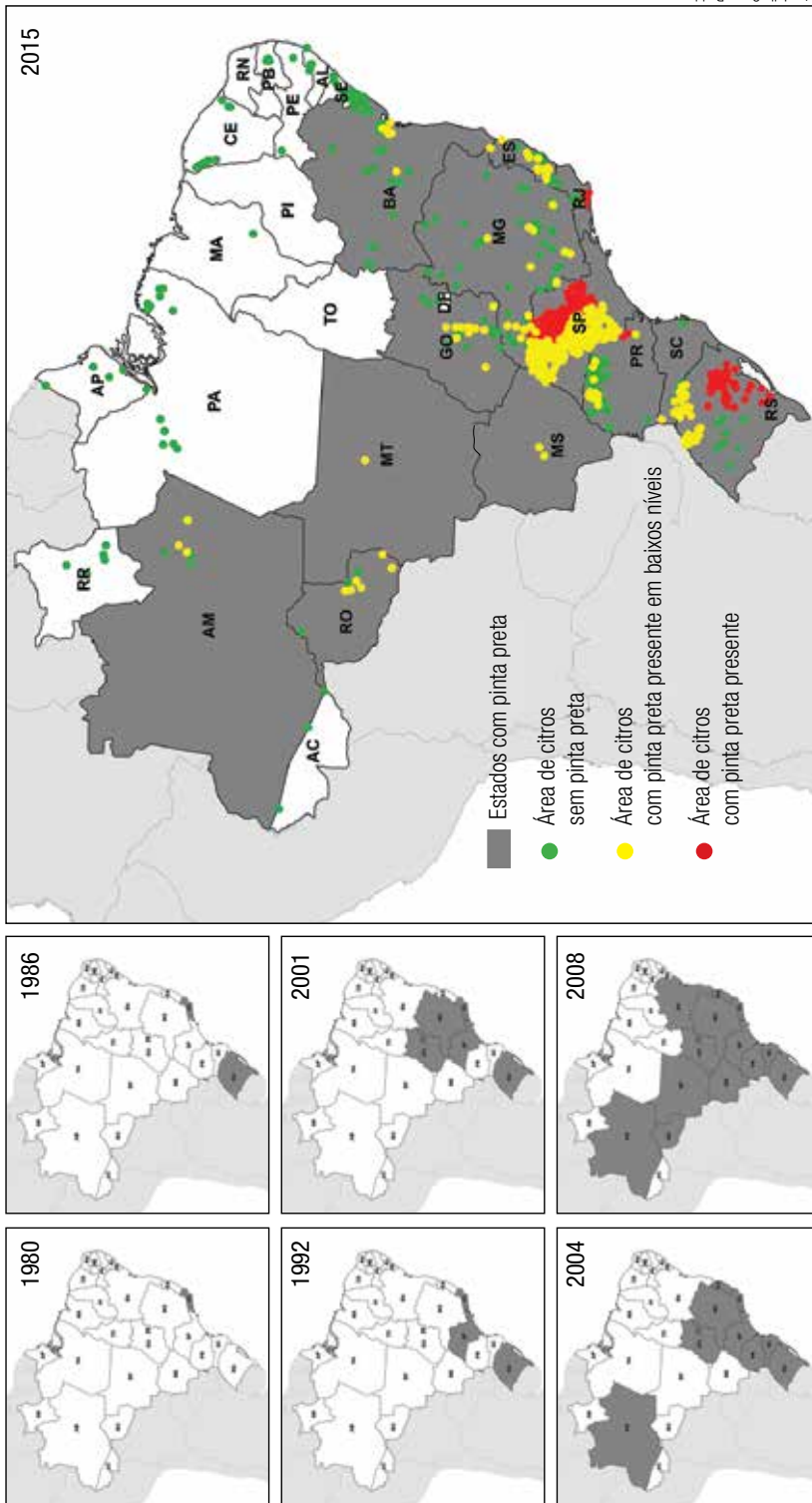
Regiões no mundo sem ocorrência da pinta preta

Em escala global, a pinta preta nunca foi relatada em regiões produtoras de citros de clima mediterrâneo, onde o inverno é frio e chuvoso e o verão é quente e seco, como na Europa Meridional (Espanha, Itália e Grécia), no estado da Califórnia, nos Estados Unidos, no sudoeste da África do Sul (região do Cabo) e no sudoeste da Austrália.

Tabela 1.2 Distribuição geográfica de *Phyllosticta citricarpa* nos diferentes estados do Brasil com o respectivo ano de detecção.

Região	Estado	Ano	Fonte
Sudeste	Rio de Janeiro	1980	Robbs <i>et al.</i> , 1980
	São Paulo	1992	Goes e Feichtenberger, 1993
	Minas Gerais	2001	UPDS/APTA ^a ; Baldassari <i>et al.</i> , 2004
	Espírito Santo	2002	Costa <i>et al.</i> , 2003
Sul	Rio Grande do Sul	1986	Feichtenberger, 1996
	Santa Catarina	2004	Andrade <i>et al.</i> , 2004
	Paraná	2004	Caixeta <i>et al.</i> , 2005; Nunes <i>et al.</i> , 2006
Centro-Oeste	Goiás	2001	UPDS/APTA ^a ; Agrodefesa, 2013
	Mato Grosso	2008	MAPA ^b
	Mato Grosso do Sul	2008	MAPA ^b
Norte	Amazonas	2003	Gasparotto <i>et al.</i> , 2004
	Rondônia	2008	Vieira Junior <i>et al.</i> , 2010
Nordeste	Bahia	2008	UPDS/APTA ^a ; Silva <i>et al.</i> , 2013

^aRelato baseado em laudos oficiais emitidos pela Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba (UPDS/APTA/SAA), com base na detecção do patógeno em amostras de citros oriundas de pomares dos estados de Minas Gerais (2001), Goiás (2001) e Bahia (2008). ^bRelato baseado na Instrução Normativa 49/2013 com a Lista de Pragas Quarentenárias A2 Presentes no Brasil, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).



Arte: Julio Cesar Rodrigues

Figura 1.2 Distribuição geográfica de *Phylosticta citricarpa* no Brasil de 1980 a 2015, e ocorrência da doença por municípios com mais de 100 ha de citros (Fonte: IBGE, 2014). Fontes de ocorrência de pinta preta por municípios: RS, informações pessoais; SC, Andrade *et al.* (2004); PR, Adapar; SP, informações pessoais; MG, IMA; ES, Incaper; RJ, Seapec; GO, Agrodefesa; MT e MS, informações pessoais; RO, Vieira Jr. *et al.* (2010); BA, Silva *et al.* (2013).



2

Importância da doença

A pinta preta causa danos qualitativos e quantitativos. Os danos qualitativos são decorrentes de sintomas que a doença apresenta na casca dos frutos cítricos, que os tornam menos atrativos aos consumidores no mercado interno de frutas frescas e que restringem as exportações para países onde a doença não está presente, como é o caso dos países-membros da União Europeia (UE). Os danos quantitativos estão relacionados à queda prematura dos frutos, o que reduz a produtividade das plantas severamente afetadas pela doença (Figura 2.1). Esse dano é, economicamente, o mais significativo para a citricultura brasileira, pois mais de 70% da produção de citros no país é destinada ao processamento da fruta para a produção de suco e subprodutos. A presença de sintomas na casca dos frutos não interfere na qualidade do suco, portanto, para os citricultores que destinam sua fruta para a indústria de suco, os frutos podem apresentar sintomas, contudo o produtor deve controlar a doença para que não ocorra a queda prematura de frutos.



Fotos: Gerardo J. Silva Jr. e Arquivo Fundectrus

Figura 2.1 Queda acentuada de frutos em plantas adultas de laranjeiras de maturação tardia, com alta intensidade de sintomas de pinta preta, no estado de São Paulo.

Em pomares de laranjeiras ‘Pera’ e ‘Valência’, independentemente da severidade da doença, as características organolépticas do suco, tais como quantidade de sólidos solúveis e acidez, são similares (Tabela 2.1). As indústrias que processam frutos de laranjeiras doces no Brasil avaliam a qualidade dos sucos empregando a variável índice tecnológico, que consiste na quantidade de sólidos solúveis (em kg) por caixa de laranja de 40,8 kg. Os valores desse índice considerados como bons, em geral, estão entre 2,2 e 2,7. Para plantas de ‘Pera’ e ‘Valência’, os valores desse índice encontrados para os sucos obtidos de frutas com diferentes severidades da pinta preta estiveram próximos dessa faixa (Tabela 2.1). Em laranja ‘Natal’ também não houve diferenças no rendimento de suco, teor de sólidos solúveis, acidez e *ratio* entre frutas aderidas nas plantas com diferentes níveis de severidade da doença. Porém, na comparação entre frutos caídos e frutos retidos na planta

Tabela 2.1 Valores médios de teor de suco (%), acidez titulável (%), sólidos solúveis (°Brix), *ratio* (sólidos solúveis/acidez) e índice tecnológico (kg de sólidos solúveis por caixa de 40,8 kg), em frutos com diferentes severidades de pinta preta (% da área sintomática), em laranjeiras ‘Pera’ na safra 1997/98, em Conchal-SP, e em laranjeiras ‘Valência’, na safra 2011/2012, em Tambaú-SP.

Severidade de pinta preta (%) ^a	Teor de suco (%) ^b	Acidez titulável (%) ^b	Sólidos solúveis (°Brix) ^b	<i>Ratio</i> ^b	Índice tecnológico ^b
Laranja ‘Pera’ – Safra 1997/98					
0,12 a	55,90 ^{NS}	0,85 ^{NS}	12,10 ^{NS}	14,20 ^{NS}	2,76 ^{NS}
0,21 a	55,60	0,76	11,30	14,80	2,56
0,25 a	55,90	0,87	12,30	14,30	2,81
0,41 b	52,80	0,88	12,10	13,90	2,61
0,42 b	56,00	0,77	11,60	14,90	2,65
0,47 b	53,20	0,77	11,70	15,10	2,54
0,52 b	53,60	0,86	12,40	14,50	2,71
0,96 c	55,30	0,87	12,50	14,30	2,82
Laranja ‘Valência’ – Safra 2011/12					
0,98 a	54,10 ^{NS}	0,62 ^{NS}	10,40 ^{NS}	16,91 ^{NS}	2,30 ^{NS}
1,15 a	52,50	0,57	10,05	17,68	2,15
2,03 b	52,20	0,61	10,23	16,81	2,18
6,65 c	54,90	0,65	10,75	16,60	2,41

^aMédias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). ^bNS, não significativo. Fontes: Aguilar-Vildoso *et al.* (1999); Silva (2013a)

ocorreu alteração no rendimento de suco, acidez e *ratio*. A colheita de frutos caídos com posterior mistura aos frutos colhidos da planta pode reduzir a qualidade do suco produzido a partir do processamento conjunto desses frutos.

2.1 Produção de frutos destinada ao processamento industrial

A importância da pinta preta em pomares cuja produção é destinada ao processamento de frutos para a fabricação de suco e subprodutos está relacionada à redução da produtividade pela queda prematura de frutos provocada pela doença. A queda é mais acentuada em variedades de laranjeiras doces de maturação tardia e em pomares mais velhos, onde, em geral, ocorre um acúmulo progressivo de inóculo do fungo. A ausência de controle químico da pinta preta em pomares de laranjeiras doces de maturação tardia, com idades entre 10 e 22 anos, provoca queda acentuada de frutos (média de 46,4%). Por outro lado, em pomares onde o controle químico é realizado com intervalos de aplicação corretos e doses e produtos recomendados, a queda prematura de frutos até a colheita, de outubro a dezembro, pode ser reduzida, em média, a 12,1%, valores normalmente encontrados em pomares sem a presença da doença (Figuras 2.2 e 2.3).



Figura 2.2 Aspecto visual de frutos em área pulverizada e não pulverizada com fungicidas para o controle da pinta preta dos citros em laranjeira 'Valência'. Fonte: Silva (2013a).

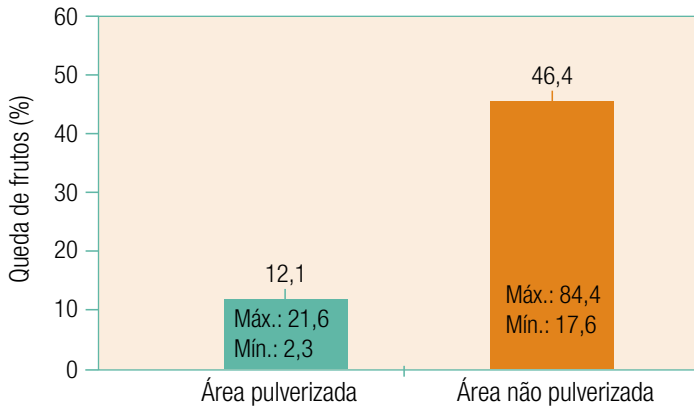


Figura 2.3 Porcentagem de frutos caídos em áreas não pulverizadas com fungicidas e em áreas com o manejo recomendado para o controle da pinta preta dos citros em pomares adultos de laranjeiras de maturação tardia, nas regiões central e leste do estado de São Paulo entre 2010 e 2014. Valores sobre as barras correspondem à média observada em 11 campos experimentais. Máx. e Mín. correspondem às porcentagens máxima e mínima de queda prematura observada. Fonte: Feichtenberger e Spósito (2003); Vinhas (2011); Del Rovere (2013); Silva (2013a,b); Metzker (2014).

2.2 Produção de frutas frescas

2.2.1 Mercado interno

A produção de citros no Brasil está concentrada no estado de São Paulo, onde 20-30% da produção se destina ao mercado interno de frutas frescas. Os sintomas da pinta preta podem aparecer em frutos no campo, bem como no período pós-colheita, causando prejuízos elevados, principalmente em limões, laranjas doces, tangerinas e tangores comercializados no mercado interno de frutas frescas. Diferentemente do mercado externo (exportações), em que a tolerância para a ocorrência de sintomas é zero, o mercado interno é menos exigente, sendo que grande parte dos frutos comercializados no país apresenta sintomas (Figura 2.4). Apenas os frutos muito afetados são considerados impróprios para o comércio *in natura*, sendo direcionados para o processamento industrial na produção de suco, ou então descartados nos próprios *packinghouses*.

O manejo da pinta preta em pomares cuja produção é destinada ao mercado interno de frutas frescas, em geral, é mais caro se comparado ao realizado em pomares que destinam frutos para a produção de suco, uma vez que a tolerância para a presença de sintomas é muito menor. O manejo da doença em pomares para o mercado interno deve ser muito rigoroso e eficiente, caso contrário os frutos produzidos poderão não ser aceitos no mercado de frutas frescas, devendo estes ser direcionados para a indústria de suco, que em geral opera com preços menores.



Fotos: Geratão J. Silva Jr.

Figura 2.4 Frutos de laranja doce com sintomas de pinta preta sendo comercializados em gôndolas de supermercados no Brasil.

2.2.2 Mercado externo

A produção de citros no estado de São Paulo a partir da década de 1960 passou a ser destinada prioritariamente à indústria de suco cítrico, reduzindo a importância relativa das exportações brasileiras de frutas cítricas frescas. Contudo, em valores absolutos, as exportações de frutas frescas continuam sendo importantes no Brasil (Tabela 2.2). As exportações de laranjas doces, limas ácidas ‘Tahiti’ [*C. latifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka] e limões verdadeiros são destinadas principalmente aos países da União Europeia (UE), variando durante o período de 1997 a 2015, de 66 a 94,9% do total exportado para as laranjas doces, e de 83,6 a 98,4% para as limas ácidas e os limões verdadeiros. As exportações de tangerinas são muito menores, inferiores a 20 mil toneladas na maioria dos anos, e dirigidas principalmente a outros mercados (Tabela 2.2).

A pinta preta apresenta grande importância para a exportação de frutas cítricas frescas, uma vez que frutos com sintomas da doença são impróprios para exportação, principalmente quando destinados aos países da UE, que vêm colocando muitas restrições à entrada em seu território de frutos produzidos em países ou regiões onde a doença ocorre. O patógeno *P. citricarpa* é considerado praga quarentenária A1 na UE, pelo fato de ainda não ter sido constatado nas áreas produtivas dos países-membros, e também segundo avaliação da Comissão Europeia (CE), pelo fato de poder vir a apresentar importância econômica se introduzido em alguns de seus países. A CE defende a tese de que a importação de frutos cítricos infectados e sintomáticos pode contribuir para a introdução do fungo agente causal da doença em seu território, e que, após a sua

introdução via frutos infectados, a doença poderia se estabelecer em regiões citrícolas que apresentam condições favoráveis ao patógeno, levando a danos e perdas. Entretanto, de acordo com as análises de risco elaboradas em separado ou em conjunto por vários dos países exportadores, incluindo África do Sul, Argentina, Austrália, Brasil, Estados Unidos e Uruguai, os riscos de introdução do patógeno, por meio de frutos infectados sem folhas e pedúnculos, e posterior estabelecimento da doença na UE, são relativamente baixos, devido sobretudo às limitações climáticas para a pinta preta se estabelecer em regiões da UE que apresentam aptidão para a produção de citros.

As restrições associadas à pinta preta impostas pela UE vêm sendo muito questionadas pelos principais países exportadores de frutas cítricas. No Brasil, essas restrições contribuíram muito para uma significativa redução do número de exportadores e do volume de frutas cítricas exportado para a UE de 1997 a 2015, principalmente as exportações de laranjas doces. Já no caso de frutos de lima ácida ‘Tahiti’, as exportações para a UE aumentaram significativamente no mesmo período, pois os frutos dessa lima ácida não apresentam sintomas de pinta preta (Figura 2.5; Tabela 2.2).

Exportações brasileiras de frutas e suco cítrico

As primeiras exportações brasileiras de frutas cítricas remontam ao início da década de 1910, e foram feitas para os países da América do Sul e, em 1927, para Alemanha e Inglaterra. As exportações cresceram nos anos seguintes, até 1939, quando atingiram 197 mil toneladas, um recorde jamais superado. Com o início da 2ª Guerra Mundial naquele ano, os principais mercados importadores europeus cortaram seus pedidos já em 1940, reduzindo drasticamente as exportações brasileiras, principalmente as paulistas, mas não afetando muito as exportações fluminenses, uma vez que na época elas eram destinadas principalmente ao mercado argentino, que continuou aberto para as frutas brasileiras. Com o término da guerra as exportações foram retomadas, mas elas foram muito prejudicadas pela reduzida disponibilidade de frutos, em decorrência, principalmente, da tristeza dos citros que dizimou grande parte dos pomares. A citricultura paulista recuperou-se anos depois e, entre 1960 e 1970, foi beneficiada pela geada de 1962 na Flórida, que reduziu drasticamente sua produção de suco cítrico. A partir dessa época, o Brasil se transformou em um importante produtor e exportador de suco cítrico.

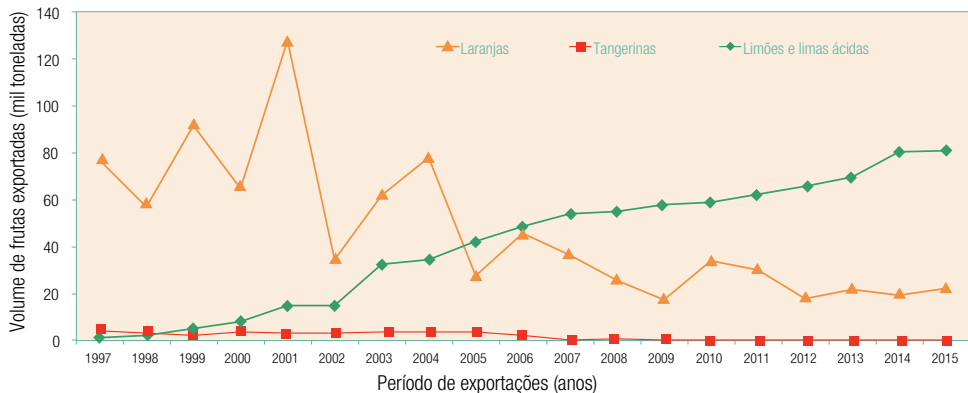


Figura 2.5 Exportações brasileiras de frutas cítricas (laranjas, tangerinas, limões e limas ácidas) em peso líquido (mil toneladas) para a União Europeia no período de 1997 a 2015. Fonte: Secretaria de Comércio Exterior (Secex).

Tabela 2.2 Exportações brasileiras de frutas cítricas (em mil toneladas, com percentual para a União Europeia-UE) e número de intercepções na UE com rechaço devido à doença pinta preta dos citros.

Ano	Laranjas		Tangerinas e mandarinas		Limões e limas ácidas		Nº de intercepções ^c
	Total ^a	UE ^b	Total ^a	UE ^b	Total ^a	UE ^b	
2015	23,5	22,3 (94,9%)	0,52	0,26 (51,1%)	96,6	80,8 (83,6%)	13
2014	20,1	19,1 (94,8%)	0,04	0	92,3	80,6 (87,3%)	5
2013	23,2	21,7 (93,3%)	0,6	0,1 (17,5%)	78,6	69,5 (88,4%)	3
2012	22,4	17,7 (78,6%)	1,4	0,2 (14,8%)	72,8	66,0 (90,6%)	11
2011	33,3	30,1 (90,4%)	0,9	0,02 (2,6%)	66,5	62,3 (93,7%)	45
2010	37,8	34,0 (89,8%)	2,0	0,2 (9,7%)	63,0	59,0 (93,4%)	6
2009	26,2	17,3 (66,0%)	4,4	0,3 (6,5%)	66,4	58,1 (87,5%)	36
2008	38,3	25,8 (67,6%)	6,8	0,5 (7,1%)	60,3	55,0 (91,1%)	4
2007	49,7	36,2 (72,7%)	6,1	0,03 (0,5%)	58,3	54,1 (92,9%)	7
2006	50,1	45,9 (91,6%)	10,7	2,2 (20,9%)	51,5	48,7 (94,6%)	115
2005	30,7	27,5 (89,6%)	12,5	3,9 (31,4%)	44,3	42,4 (95,8%)	45
2004	90,2	78,1 (86,6%)	18,1	3,8 (20,9%)	37,3	34,4 (92,0%)	1
2003	68,0	62,1 (91,3%)	18,3	3,8 (21,0%)	34,0	32,6 (95,7%)	63
2002	40,4	34,6 (85,6%)	20,1	3,2 (15,8%)	16,0	15,1 (94,7%)	30
2001	139,6	128,1 (91,8%)	17,3	3,0 (17,1%)	15,8	14,7 (92,8%)	36
2000	73,3	64,9 (88,5%)	12,0	3,6 (29,8%)	8,7	8,1 (93,5%)	ND
1999	103,1	91,5 (88,7%)	7,5	2,1 (28,1%)	5,3	5,2 (96,5%)	ND
1998	65,6	56,8 (86,6%)	5,3	3,2 (61,0%)	2,3	2,3 (98,4%)	ND
1997	91,7	76,9 (83,9%)	5,3	4,3 (80,7%)	1,5	1,5 (97,3%)	ND

^aTotal de exportações brasileiras em peso líquido (mil toneladas). ^bTotal destinado à União Europeia (UE), em mil toneladas (% em relação ao total exportado). Fonte: Secretaria de Comércio Exterior (Secex). ^cIntercepções com rechaço na União Europeia. Fontes: Comissão Europeia (CE) de 2009 a 2015, e Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA/SAA) de 2001 a 2008. ND, informação não disponível.

As primeiras restrições associadas à pinta preta em exportações brasileiras de frutas cítricas foram feitas pela CE somente no início da década de 2000, depois de 20 anos do primeiro relato da doença no Brasil. As restrições foram decorrentes da Diretiva 2000/29/CE, de 08/05/2000, que estabeleceu medidas de proteção contra a introdução na UE de organismos prejudiciais aos vegetais e produtos vegetais e contra sua posterior propagação no interior de seu território. Segundo a Diretiva, todos os produtos importados devem ser submetidos a controles fitossanitários para assegurar que eles estejam livres desses organismos prejudiciais. Quando eles são detectados nesses controles, toda a carga é impedida de ser desembarcada em qualquer território da UE. Como *P. citricarpa* está incluído na relação dos organismos reconhecidos como prejudiciais à UE, as restrições à entrada de frutos cítricos provenientes de países ou regiões onde a pinta preta já foi oficialmente constatada aumentaram significativamente depois do ano 2000. Assim, durante o período de 2001 a 2003, um total de 129 intercepções com rechaço foram feitas em portos de desembarque de países da UE em partidas de frutas cítricas originadas do Brasil (Tabela 2.2).

Em novembro de 2003, a Espanha tomou medidas temporárias e emergenciais proibindo a importação de frutos de citros originários da Argentina e do Brasil, devido ao elevado número de intercepções, no período de 2001 a 2003, de cargas provenientes do Brasil com pinta preta e de embarques provenientes da Argentina com cancro cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*). Naquele mesmo ano, a Holanda e o Reino Unido também oficializaram comunicados à CE da detecção de *P. citricarpa* em partidas de frutos de citros provenientes do Brasil. Como a UE instituiu um mercado comum por meio de um sistema padronizado de leis aplicáveis a todos os seus Estados-membros, a Espanha relatou à CE, no ano seguinte, as intercepções ocorridas no país e as consequentes medidas emergenciais que adotou em 2003, e solicitou providências da CE no sentido de impedir a entrada de frutos com sintomas de pinta preta e cancro cítrico em todo o território da UE, alegando que essa entrada colocaria em risco a sanidade dos citros do país. Em resposta à solicitação espanhola, a CE editou a Decisão 2004/416/CE, de 29/04/2004, contendo medidas emergenciais e temporárias exigidas para a entrada na UE de frutos de citros provenientes da Argentina e do Brasil. Entre as medidas adicionais relacionadas com a pinta preta, está a exigência de que os frutos devem ser acompanhados de um certificado do país exportador contendo declaração de que os frutos são provenientes de área reconhecidamente isenta de *P. citricarpa*, de que não foram observados sintomas de pinta preta em plantas da área de produção dos frutos desde o início do ciclo vegetativo das plantas, e de que nenhum dos frutos colhidos no local de produção mostrou, na sequência de exames oficiais, os sintomas típicos da doença. No certificado deve também constar que o local de produção dos frutos, as instalações de seu condicionamento (*packinghouse*), os produtores e/ou exportadores, e os operadores envolvidos no manuseio dos frutos estão registrados em programa oficial do país exportador. A Decisão 2004/416/CE também requer que os frutos só po-

derão ser introduzidos no território da UE se o seu transporte da unidade de produção até o local de exportação for acompanhado de documentação emitida sob autoridade e supervisão da organização nacional de proteção fitossanitária do país exportador, e que as informações apresentadas nessa documentação devem ser disponibilizadas aos órgãos de proteção fitossanitária da CE, para assim permitir que ela tenha um melhor acompanhamento e controle dos frutos importados.

Em 2004, atendendo à solicitação feita pelo Mercosul, representantes de órgãos oficiais de defesa vegetal e especialistas em doenças fúngicas e bacterianas dos citros do Brasil, Argentina e Uruguai se reuniram com autoridades e técnicos da UE, na sede da CE em Bruxelas, para discutir aspectos técnicos relacionados às doenças pinta preta e cancro cítrico nas exportações de frutos de citros dos países do Mercosul para os países da UE. Nessa reunião foram apresentados e discutidos os documentos elaborados pelo Comitê de Sanidade Vegetal do Cone Sul (Cosave), incluindo as análises de risco das duas doenças para a UE e as medidas fitossanitárias propostas pelo Mercosul para se evitar a remessa de frutos contaminados com as duas doenças aos países da UE. No caso da pinta preta, os especialistas dos três países relataram vários trabalhos científicos disponíveis na época que davam suporte consistente à tese de que os frutos de citros sem folhas e pedúnculos não representam risco de introdução de *P. citricarpa* no território da UE. Durante a reunião, também foi apresentado e discutido o documento elaborado pelo Brasil em atendimento ao pedido feito pela Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Limão (ABPEL), contendo solicitação para a exclusão da limeira ácida ‘Tahiti’ das exigências relacionadas à pinta preta nas importações pela UE, uma vez que os sintomas da doença não se expressam nessa variedade. Essa solicitação somente foi formalmente atendida pela CE dez anos depois. Foi nessa reunião que pela primeira vez representantes oficiais dos países exportadores do Mercosul tiveram oportunidade de apresentar e discutir com autoridades da CE suas posições e solicitações relativas às medidas fitossanitárias adotadas pela UE para essas duas doenças quarentenárias dos citros. Como resultado da reunião, no caso da pinta preta, a Unidade de Produção (UP) de frutos para exportação foi redefinida como uma ou mais áreas de uma mesma propriedade agrícola (quadras ou talhões), desde que bem delimitada(s) e reconhecidamente isenta(s) de *P. citricarpa*. Antes disso, a UP era representada por toda a propriedade. Durante a reunião de Bruxelas também foi confirmada a ida, naquele ano, de uma comitiva da UE aos países exportadores do Mercosul, para auditorias sobre a adoção das medidas preventivas nesses países em atendimento à Decisão 2004/416/CE e à Diretiva 2000/29/CE.

Quatro auditorias relacionadas com as doenças pinta preta e cancro cítrico nas exportações de frutas de citros para a UE já foram feitas no Brasil por comitivas da CE, em 2000, 2004, 2005 e 2011. A de 2005 foi feita, principalmente, para auditar as alterações introduzidas no programa oficial brasileiro de manejo de risco das duas doenças nessas exportações, após a reunião de Bruxelas e a edição da Decisão 2004/416/CE. A

auditoria de 2011, segundo a CE, foi motivada pelo elevado número de intercepções de *P. citricarpa* na UE em partidas de frutas brasileiras em anos anteriores: 36 intercepções em 2009, 6 em 2010 e 45 em 2011 (Tabela 2.2). Em decorrência do elevado número de intercepções desse fungo na UE em partidas de frutas provenientes do Brasil e de outros países exportadores, principalmente em frutas da África do Sul, a UE limitou em cinco o número máximo de intercepções por ano por país, ou seja, quando esse limite de intercepções for atingido por determinado país no ano, as importações de frutas deste país, em que 6 ou mais intercepções tenham sido feitas na UE, seriam suspensas naquele ano. No caso do Brasil, esse limite máximo passou a vigorar a partir de 01/08/2012.

Desde 2000 os países exportadores de frutos de citros tentam revogar as restrições associadas à pinta preta impostas pela CE. Dentre os muitos documentos elaborados pelos principais países exportadores solicitando e justificando a revogação de muitas das exigências feitas pela CE nas referidas importações estão:

1. Análise de risco de *P. citricarpa* para a UE nas exportações de frutas de citros da África do Sul para os países da UE, elaborada em 2000 pela África do Sul. Esse documento foi expandido nos anos seguintes até 2009, envolvendo discussões e pareceres técnicos oficiais sobre o tema, elaborados e publicados por especialistas e instituições da África do Sul e pela CE.
2. Análise de risco de *P. citricarpa* para a UE nas exportações de frutos cítricos dos países do Mercosul para os da UE, elaborado pelo Cosave em 2004, e apresentado nesse mesmo ano na reunião de Bruxelas anteriormente referida, entre representantes do Mercosul e da CE.
3. Documento elaborado pelo Brasil, que também foi apresentado na mesma reunião de Bruxelas entre o Mercosul e a CE, contendo solicitação e justificativas para a exclusão da lima ácida “Tahiti” das restrições fitossanitárias impostas pela Diretiva 2000/29/CE.
4. Análise de risco de *P. citricarpa* para os EUA na importação de frutos de limões verdadeiros provenientes do nordeste argentino, documento elaborado em 2010 pela APHIS (*Animal and Plant Health Inspection Service*), do USDA (*United States Department of Agriculture*), concluindo que os frutos não apresentam importância epidemiológica como via de introdução de *P. citricarpa* nos EUA, e que mesmo no caso de entrada de frutos infectados em áreas livres de pinta preta e que apresentam hospedeiros suscetíveis ao fungo, agente causal da doença, a sua transmissão e o estabelecimento da doença nessas áreas requer uma combinação de situações cuja ocorrência é muito improvável. O documento conclui, também, que a probabilidade de ocorrência dessa combinação de situações não é maior que a exposição decorrente de outras vias de introdução e disseminação não regulamentadas.

5. Parecer publicado pela APHIS/USDA, em 10/07/2013, autorizando a importação de frutos de citros, bem como frutos de híbridos de *Citrus* e do gênero *Fortunella*, provenientes do Uruguai, desde que os frutos sejam produzidos, processados e transportados em conformidade com as normas em vigor no país para a exclusão de pragas quarentenárias em importações de produtos agrícolas.
6. Documento elaborado e encaminhado à EFSA (*European Food Safety Authority*), em 2013, pelo Painel de Pesquisadores Especialistas em Pinta Preta, composto por representantes do Brasil, África do Sul, Argentina, Austrália e EUA. Esse documento contém contestações e sugestões para alterações na Consulta Pública que foi publicada neste mesmo ano pela EFSA, de título “Parecer científico sobre o risco de *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) para o território da UE com a identificação e avaliação das opções para a redução de riscos” (CRI, 2013). Esse parecer da EFSA foi depois publicado em 21/01/2014, mantendo-se as principais conclusões da consulta pública original e desconsiderando a maioria das contestações e sugestões apresentadas pelo Painel de Especialistas.

Abaixo, algumas das principais justificativas apresentadas e discutidas em vários dos documentos supracitados, em suporte às solicitações para a revogação de muitas das exigências feitas pela CE nas importações de frutas cítricas de países que já apresentam a doença (para mais detalhes, ver capítulo 7 “Epidemiologia”):

1. Os frutos cítricos sem folhas e pedúnculos não se constituem em vias de introdução de *P. citricarpa* em áreas onde a pinta preta ainda não ocorre.
2. O patógeno nunca foi relatado como tendo sido disseminado para novas áreas pelo trânsito de frutos cítricos sem folhas e pedúnculos. Durante décadas a África do Sul exportou grandes volumes de frutos com pinta preta para Espanha, Portugal, Itália, Grécia e outros países do sul da Europa sem que tenha havido, até agora, um único caso de relato da ocorrência da doença nesses países.
3. Os propágulos de *P. citricarpa* responsáveis pelo ciclo primário da doença, e portanto pela introdução em novas áreas, são os ascósporos, esporos sexuais do fungo. Os ascósporos nunca foram encontrados em frutos ou em ramos na copa das plantas. Eles são produzidos em folhas infectadas caídas ao solo em decomposição. Os esporos responsáveis pelo ciclo secundário da doença são os picnidísporos, esporos assexuais do fungo que não contribuem para a introdução da doença em novas áreas, mas sim pelo aumento na sua severidade após ela já ter sido introduzida no local.
4. A disseminação da doença para novas áreas está associada ao transporte de materiais de propagação infectados, como mudas e porta-enxertos (cavalinhos) de citros, ou folhas infectadas para áreas onde existam hospedeiros suscetíveis e as condições ambientais (climáticas) sejam favoráveis à doença.

5. A pinta preta já foi encontrada em muitas regiões produtoras de citros do globo que possuem condições climáticas favoráveis à doença, regiões que, em geral, apresentam temperaturas elevadas durante o período chuvoso do ano, coincidindo com a presença de frutos ou outros órgãos verdes das plantas em estádios suscetíveis ao fungo. A doença nunca foi observada em regiões de clima mediterrâneo, com estação quente e seca no verão e instável e úmido no inverno, como as regiões da Europa meridional, do sudoeste da Austrália, do norte e sudoeste da África do Sul, do centro do Chile, e na Califórnia (EUA).
6. O transporte de plantas, frutos e outros materiais de citros, mesmo que infectados, não representa risco de introdução de *P. citricarpa* e do estabelecimento da pinta preta em áreas cujas condições ambientais não são favoráveis à doença. Na Austrália, o transporte não regulamentado de plantas e frutos de citros vem sendo feito há mais de 100 anos, de regiões do país onde a pinta preta é endêmica para regiões do sudoeste do país que apresentam clima mediterrâneo, desfavorável à doença, regiões que até hoje estão livres do fungo. Na África do Sul, o transporte não regulamentado de plantas cítricas (mudas e porta-enxertos) vem sendo feito há mais de 50 anos, e o de frutos cítricos há mais de 85 anos, de regiões onde a pinta preta é endêmica para a região produtora do oeste do Cabo, que também apresenta clima mediterrâneo, e que também até agora é reconhecida como livre da doença e do seu agente causal.
7. A presença de *P. citricarpa* em frutos cítricos importados de regiões contaminadas não representa, necessariamente, risco de sua introdução e estabelecimento em novas áreas ou regiões. Após a introdução do fungo via frutos, para que ele cause a doença e que essa se estabeleça na área tornando-se endêmica, o fungo deve estar viável, esporular, ser disseminado para a superfície de tecidos suscetíveis de plantas hospedeiras, onde deve germinar, penetrar e infectar. O estabelecimento da doença somente será possível se as condições ambientais (climáticas) forem favoráveis durante todas as etapas do ciclo das relações patógeno-hospedeiro, cuja sequência e ocorrência é muito improvável, notadamente nas condições climáticas dos países europeus.
8. A pinta preta nunca foi encontrada afetando plantas de lima ácida ‘Tahiti’. Portanto, o transporte de frutos dessa variedade não representa nenhum risco de introdução de *P. citricarpa* em novas áreas ou regiões.

A exclusão da lima ácida ‘Tahiti’ das medidas regulatórias previstas na Diretiva 2000/29/CE somente foi formalizada com a edição da Decisão de Execução 2014/4191/EU, de 02/07/2014. Ela foi editada após a publicação pela EFSA, em 21/02/2014, da análise por ela realizada sobre o risco de *P. citricarpa* para a UE, que considerou muito improvável a possibilidade de entrada desse fungo na UE via comércio de frutos de lima ácida ‘Tahiti’. As demais reivindicações que vêm sendo feitas pelos principais

exportadores de frutas de citros para a UE, após a edição da Diretiva 2000/29/CE, não foram ainda atendidas pela CE.

O programa brasileiro de manejo da pinta preta nas exportações de frutas de citros para a UE foi elaborado para atender às exigências legais da CE (Diretiva de 2000 e Decisão de 2004). A Instrução Normativa (IN) 03, de 08/01/2008, depois alterada pela IN 01, de 05/01/2009, foi editada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para dar base legal a esse programa. Em São Paulo, o principal estado exportador de frutas cítricas para a UE, com base nas duas INs do MAPA, e também em observância às demais legislações afins e correlatas, a Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA), órgão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, estabeleceu o Programa Estadual de Exportação de Frutas Cítricas para a Comunidade Europeia, que depois foi ampliado e atualizado em 2015, passando a ser denominado Programa Estadual de Sanidade dos Citros – Exportação de Frutas (PESC-EF). Esse programa visa atender às exigências da UE e do MAPA e viabilizar as exportações de frutas cítricas por produtores que, voluntariamente, aderem a ele. Mais informações sobre esse programa estão contidas no capítulo 9 “Procedimentos para a exportação”.

3

O patógeno

3.1 Identificação

A pinta preta é causada por um fungo que se reproduz assexuada e sexuadamente, recebendo, assim, dois nomes. O nome atribuído à fase assexuada é *Phyllosticta citricarpa* (McApl.) van der Aa, que foi inicialmente descrita como *Phoma citricarpa* McAlpine, e depois como *Phyllostictina citricarpa* (McAlp.) Petrak. O nome da fase sexuada é *Guignardia citricarpa* Kiely.

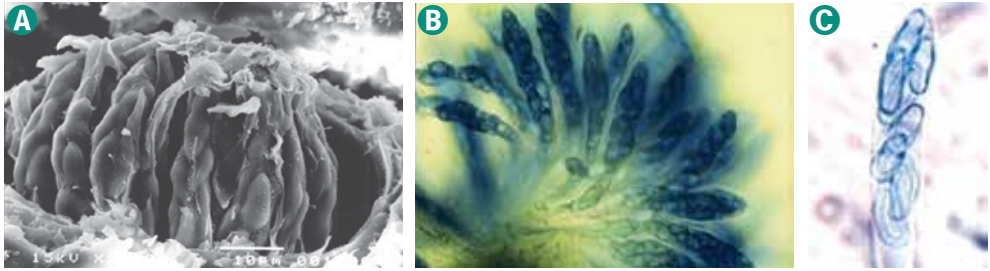
O gênero *Guignardia* já foi relatado em diferentes espécies de citros e também em outros hospedeiros, mas nem sempre estava associado aos sintomas da pinta preta. Inicialmente, duas espécies foram relatadas em plantas de citros, sendo a *G. citricarpa*, causadora da pinta preta, e a *G. mangiferae*, uma espécie endofítica. Com o uso das técnicas de sequenciamento de DNA, a partir da década de 2000, o fungo endofítico que sobrevive em plantas de citros passou a ser classificado como *Phyllosticta capitalensis*.

O patógeno *P. citricarpa* em sua fase sexual produz pseudotécios em folhas cítricas em decomposição no solo. Os pseudotécios são corpos de frutificação isolados ou agregados, globosos, com 100 a 175 µm de diâmetro, apresentando um ostíolo circular e sem paráfises. Dentro dos pseudotécios são formadas as ascas de formato cilíndrico-clavado, bitunicadas, de 45-85 µm × 12-15 µm. Cada asca contém oito ascósporos unisseriados, unicelulares, hialinos, asseptados, multigutulados, cilíndricos com o centro dilatado, tamanho de 8-17,5 × 3,3-8 µm, apresentando apêndices hialinos nas duas extremidades obtusas (Figura 3.1). Por apresentarem

Agente causal da pinta preta

No passado, o agente causal da doença era denominado pelo binômio *Guignardia citricarpa* (teleomorfo) e *Phyllosticta citricarpa* (anamorfo). Com a nova nomenclatura de fungos aprovada em 2011 ("Melbourne Code"), a nomenclatura binomial para fungos foi abolida, dando-se prioridade ao nome da forma (sexuada ou assexuada) com a qual o fungo foi inicialmente descrito. No caso do agente causal da pinta preta, como a forma assexuada (anamorfo) do fungo foi descrita antes da forma sexuada (teleomorfo), ele passou a ser designado exclusivamente como *P. citricarpa*. Os isolados não patogênicos (endofíticos) de *Phyllosticta* frequentemente associados aos citros pertencem ao clado *P. capitalensis*.

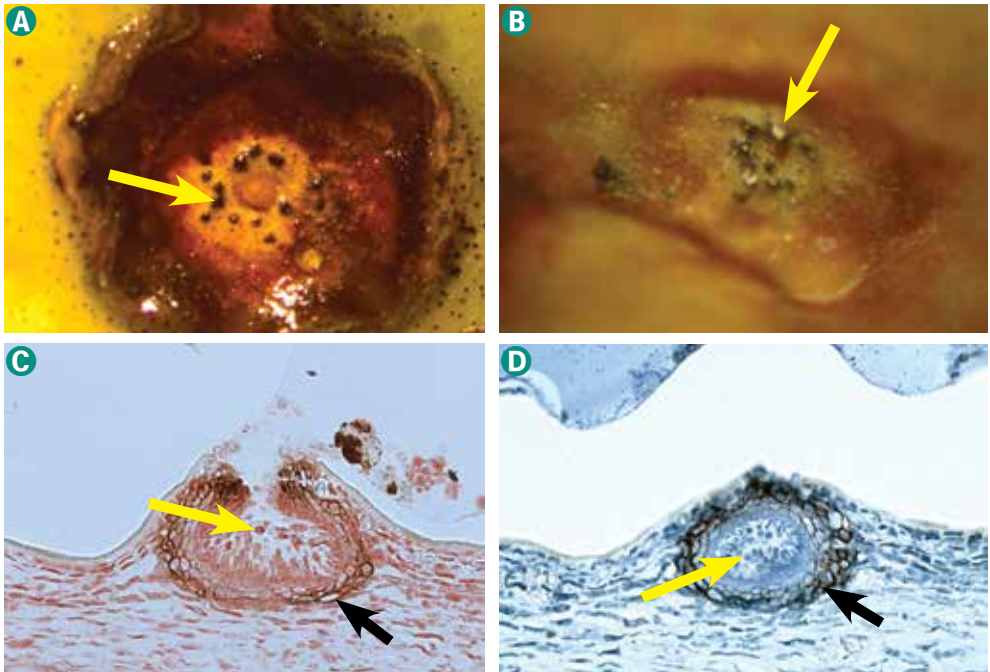
fototropismo positivo, essas estruturas são formadas na face da folha caída voltada para cima e não na face em contato com o solo.



Fotos: Ricardo B. Baldassarri (A e C) e Eduardo Felchtenberger (B)

Figura 3.1 Ascas contendo esporos sexuais (ascósporos) de *Phyllosticta citricarpa*, que são formados em folhas de citros em decomposição (A-B), e visualização de asca contendo oito ascósporos formada dentro do pseudotécio (C).

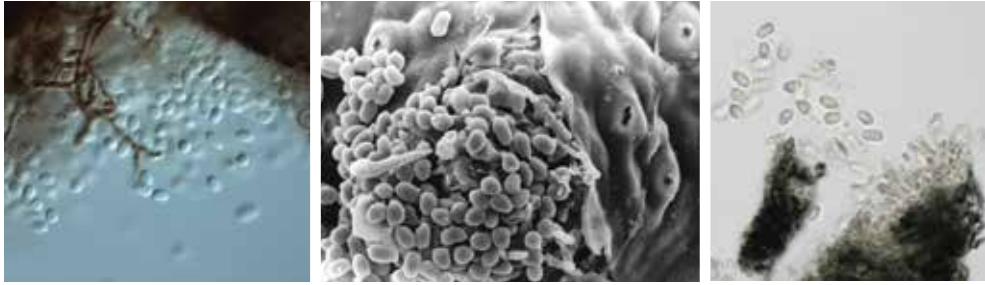
Em sua fase assexuada, o fungo produz, em lesões de frutos, ramos e folhas, picnídios globosos, imersos, solitários ou agregados, de coloração marrom-escuro a negra (Figura 3.2), medindo de 115 a 190 μm , com ostíolo levemente papilado, circular, de 12-14,5 μm de diâmetro. Quando os picnídios estão maduros, em seu ostíolo emergem os conídios envolvidos por uma substância mucilaginosa clara denominada cirro (Figura 3.2B).



Fotos: Rosana G. Pereira (A), Sílvia A. Lourenço (B) e João Paulo Marques (C-D)

Figura 3.2 Picnídios de *Phyllosticta citricarpa* formados em frutos de laranjeiras doces: (A) superfície de uma lesão de mancha dura contendo os picnídios no centro (seta); (B) picnídios (pontos negros) liberando os cirros (massa mucilaginosa) de conídios (seta); (C, D) cortes transversais de picnídios (setas pretas) contendo os conídios em seu interior (setas amarelas).

No interior dos picnídios são produzidos os conídios solitários, de formato ovoide a elíptico ou piriforme, tamanho $(9,4-10-12(-12,7) \times (5-6-7,5(-8,5) \mu\text{m}$, asseptados, hialinos, unicelulares, multigutulados, paredes finas e lisas, com um apêndice hialino numa das extremidades e presença de bainha mucosa pouco visível em torno da parede com espessura de até $1,5 \mu\text{m}$ (Figura 3.3).



Fotos: Ricardo B. Baldassari e Sílvia A. Lourenço

Figura 3.3 Esporos assexuais (conídios) de *Phyllosticta citricarpa* observados após o esmagamento de picnídios que continham os conídios em seu interior.

Na Ásia, a espécie *P. citriasiana* já foi relatada em plantas de toranja (*C. maxima*) causando lesões necróticas denominadas “*tan spot*” em frutos, sintomas distintos daqueles já relatados para a pinta preta. Morfologicamente *P. citriasiana* apresenta conídios maiores, com apêndices mais longos que *P. citricarpa*, além de não formar pigmento amarelo em meio de cultivo aveia-ágar e apresentar coloração mais escura, de cinza a preta, em diferentes meios de cultivo. Além disso, *P. citriasiana* parece requerer para o crescimento *in vitro* uma temperatura ótima inferior àquela requerida por *P. citricarpa* e, em meio de malte e aveia-ágar, cresce mais rapidamente que *P. citricarpa* e *P. capitalensis*.

3.2 Detecção

A detecção do patógeno deve ser feita pela associação das características morfológicas da colônia e do patógeno às suas características genéticas. A utilização apenas das características culturais ou morfológicas para separar *P. citricarpa* de *P. capitalensis* não é recomendada, podendo gerar resultados conflitantes e diagnose incorreta.

3.2.1 Isolamento

O isolamento consiste na obtenção de cultura pura do fungo em meio de cultivo a partir de tecidos infectados do hospedeiro. Diferentes meios de cultivo podem ser utilizados para o isolamento de *P. citricarpa*, embora os mais usados sejam o BDA (batata-dextrose-ágar) e o MEA (extrato de malte-ágar). Para a identificação e diferenciação entre *P. citricarpa* e *P. capitalensis* utiliza-se o meio AA (aveia-ágar) uma vez que nesse meio, somente *P. citricarpa* forma um halo amarelo circundando a colônia. Para o iso-

lamento do patógeno, o meio de cultivo é preparado, autoclavado (120°C/20 minutos) e distribuído em placas de Petri, de vidro ou poliestireno (plástico descartável).

O isolamento pode ser feito pelo método direto ou indireto. O primeiro consiste em transferir estruturas do patógeno presentes nas lesões do hospedeiro diretamente para o meio de cultivo. Por esse método, outros micro-organismos saprofíticos que crescem sobre as lesões podem ser transferidos juntamente com o patógeno e contaminar o meio de cultivo, dificultando o isolamento. O método indireto é o mais utilizado e recomendado para *P. citricarpa*, e consiste em retirar fragmentos do tecido infectado e transferi-los sequencialmente para três recipientes com álcool, hipoclorito de sódio e água, onde será realizada a desinfestação superficial dos fragmentos. Sugere-se retirar fragmentos de no máximo 0,5 por 0,5 cm da borda da lesão, na região entre a área sadia e lesionada onde o patógeno está em crescimento ativo. Esses fragmentos são imersos em solução contendo álcool (50% a 70%) por 30 segundos para a redução da tensão superficial dos tecidos, e depois imersos em solução contendo hipoclorito de sódio “água sanitária” (1% a 2%) por 1 a 10 minutos, sendo os fragmentos em seguida lavados em água destilada estéril para eliminação do excesso de hipoclorito de sódio e, por fim, eles são secos em papel de filtro autoclavado e colocados sobre meio de cultivo em placas ou tubos. Recomenda-se que, ao passar pelo hipoclorito de sódio, alguns fragmentos permaneçam por 1 minuto na solução e outros por 2, 3, 5 ou 10 minutos, pois assim, será possível escolher o melhor tempo de desinfestação que permitirá eliminar todos os contaminantes superficiais sem inativar o patógeno que está colonizando os tecidos mais internos do fragmento.

3.2.2 Repicagem e obtenção de culturas monospóricas

Após o crescimento do fungo no meio de cultivo, recomenda-se realizar a repicagem da colônia para outra placa com meio de cultivo e, assim, obter uma colônia pura. Essa colônia obtida no isolamento pode ser transformada em monospórica antes do seu armazenamento. Para isso, uma suspensão de *P. citricarpa* com concentração baixa de conídios ($<10^3$ conídios/mL) deve ser preparada com água estéril e distribuída sobre meio de cultivo ágar-água. Posteriormente, com o auxílio de um microscópio seleciona-se a região do meio de cultivo onde apenas um conídio isolado esteja germinando, região que será transferida para outra placa contendo BDA. A colônia desenvolvida será oriunda de apenas um conídio (monospórica).

3.2.3 Preservação

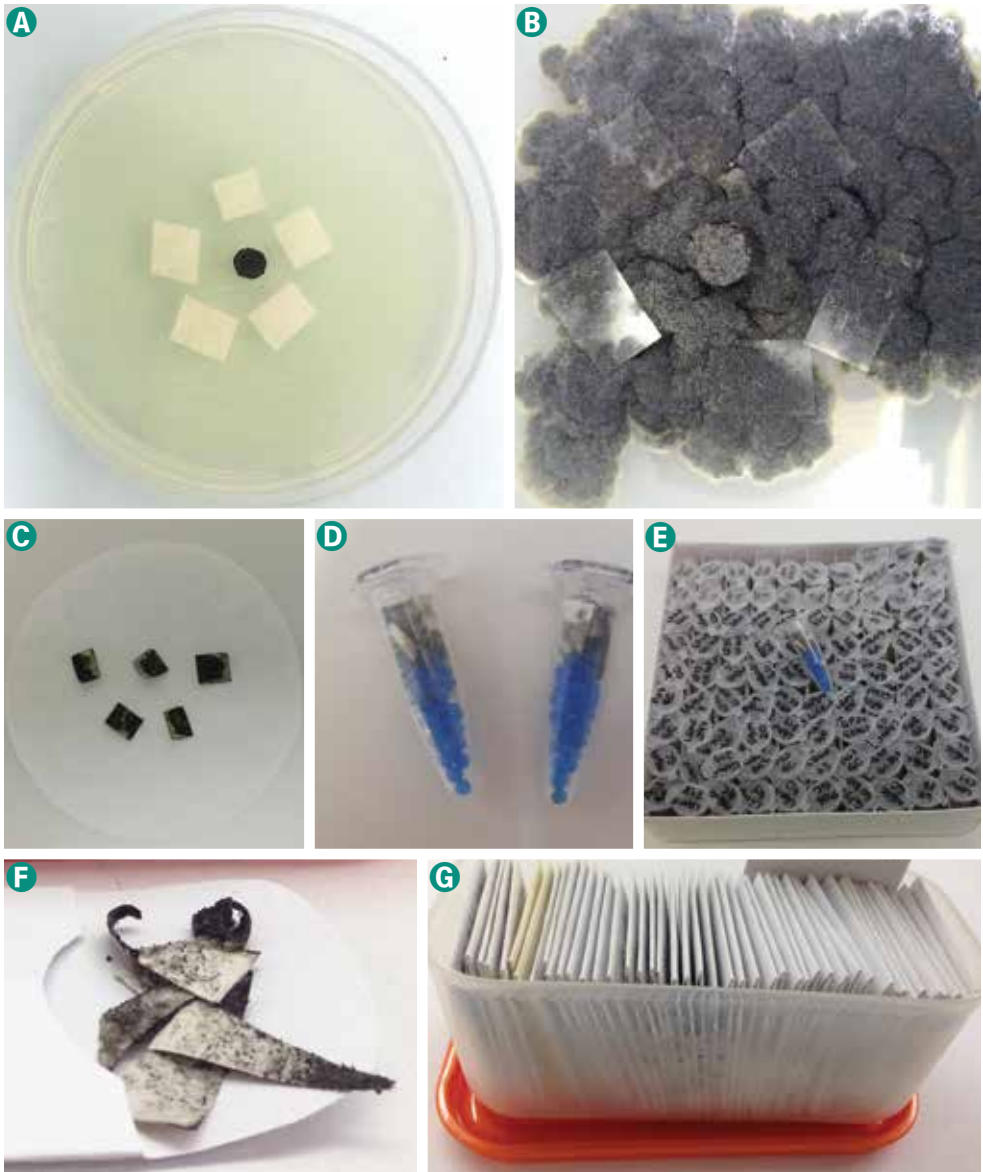
O fungo deve ser preservado/armazenado para que o mesmo isolado possa ser utilizado em estudos posteriores. O armazenamento pode ser de curto prazo, adotando-se o método de repicagens sucessivas de fragmentos de micélio fúngico em meio de cultivo técnica que apresenta baixo custo, simples manuseio e não requer equipamentos

sofisticados. O tubo é mantido em temperatura favorável ao crescimento do fungo (± 25 °C), e depois em temperatura ambiente (laboratório) ou de refrigeração (± 7 °C) por alguns meses. Além da refrigeração, a utilização de meio de cultivo mínimo (pobre em carboidratos) contribui para reduzir o crescimento e as atividades metabólicas do patógeno. Contudo, após alguns meses, o meio de cultivo se desidrata sendo necessário repicar o patógeno para outro tubo com meio de cultivo recém-preparado. Além de requerer repicagens sucessivas, esse método apresenta outras desvantagens, tais como: aumento do risco de contaminações, necessidade de espaço para manutenção dos isolados em tubos e, principalmente, aumento do risco de perda das características originais do isolado, como perda de patogenicidade e seleção de mutantes.

Nos armazenamentos por períodos mais prolongados, o patógeno pode ser preservado em freezer a -20 °C, em água ou óleo mineral ou em fragmentos de papel de filtro colonizados pelo fungo e mantidos em sílica gel, para absorção da umidade do papel. Para a preservação por longos períodos, existem outras técnicas, como a liofilização, o congelamento a -80 °C e a criopreservação em nitrogênio líquido.

O método de armazenamento de *P. citricarpa* mais utilizado no Brasil é o do papel de filtro seco congelado, no qual papéis de filtro cortados ($0,5 \times 0,5$ cm) e autoclavados são distribuídos sobre meio de cultivo BDA ou MEA vertido em placa de Petri, e sendo o fungo posteriormente repicado para o centro da placa com os papéis em torno dele. Após o patógeno crescer sobre os pedaços de papel por 3 ou 4 semanas, os mesmos são transferidos para microtubos contendo sílica gel, ou para pequenos envelopes de papel (utilizados em filatelia, de $4,8 \times 4,5$ cm) previamente esterilizados, sendo os microtubos ou os envelopes depois armazenados em geladeira a 7 °C ou em freezer a -20 °C (Figura 3.4). O procedimento é relativamente simples e os microtubos ocupam pouco espaço, permitindo o armazenamento de vários isolados em uma mesma geladeira ou freezer. Entretanto, pode-se perder alguns dos isolados se a colônia fúngica não estiver bem estabelecida nos papéis distribuídos sobre o meio de cultivo. Portanto, recomenda-se utilizar colônias crescidas sobre os papéis em BDA ou MEA por pelo menos 21 dias.

A completa secagem do papel de filtro colonizado pelo fungo é essencial para sua preservação por períodos prolongados. A secagem pode ser feita com a exposição dos fragmentos de papel colonizado ao ar filtrado em câmaras de fluxo laminar, por 1-4 horas. Os fragmentos secos são então transferidos, asépticamente, para microtubos contendo sílica gel, ou para envelopes previamente esterilizados. Neste caso, os pequenos envelopes contendo os fragmentos são colocados em vasilhas plásticas com sílica no fundo (Figura 3.4). Para garantir a viabilidade dos isolados recomenda-se repetir todo o processo de armazenamento a cada 2 ou 3 anos, utilizando-se em cada repetição o micélio do fungo originado do fragmento do papel de filtro previamente armazenado, após o restabelecimento da colônia com a colocação do papel de filtro no mesmo meio de cultivo (BDA ou MEA). Caso o(s) isolado(s) seja(m) muito utilizado(s) rotineiramente, recomenda-se fazer um número maior de microtubos ou envelopes para cada isolado em estudo.



Fotos: Rosana G. Pereira (A-E) e Eduardo Feichtenberger (F-G)

Figura 3.4 Preservação de *Phyllosticta citricarpa* em papel de filtro seco e congelado. Fungo transferido para meio de cultivo e adição dos papéis autoclavados em torno do disco de micélio (A). Papéis colonizados pelo fungo (B) e mantidos em fluxo laminar para a secagem (C). Papéis secos adicionados em microtubos com sílica gel (D). Caixa (15 × 15 cm) com capacidade para armazenar 100 microtubos em geladeira ou freezer (E). Papéis secos acondicionados em envelopes (F) e caixa plástica (13 × 6 × 5,5 cm) com capacidade para armazenar até 50 envelopes (G).

O armazenamento em água ou óleo mineral também pode ser utilizado para *P. citricarpa*. No armazenamento em água, discos de meio de cultivo contendo estruturas do patógeno são adicionados em frascos contendo água esterilizada. No caso do óleo mineral, a colônia do patógeno, de aproximadamente 14 dias, crescida em meio sólido em tubo de ensaio, é coberta por uma camada de 1 a 2 cm de óleo. Esses métodos apresentam baixo custo, além de reduzir a contaminação por ácaros que pode ocorrer nas repicagens sucessivas. Entretanto, eles também requerem espaço para o armazenamento em refrigerador a 7 °C. Muito embora as repicagens nesses dois métodos sejam menos frequentes que no armazenamento de curto prazo de repicagens múltiplas, esses métodos reduzem, mas não eliminam completamente o risco de ocorrência de variações genéticas no isolado armazenado, como a perda de sua patogenicidade.

3.2.4 Características culturais

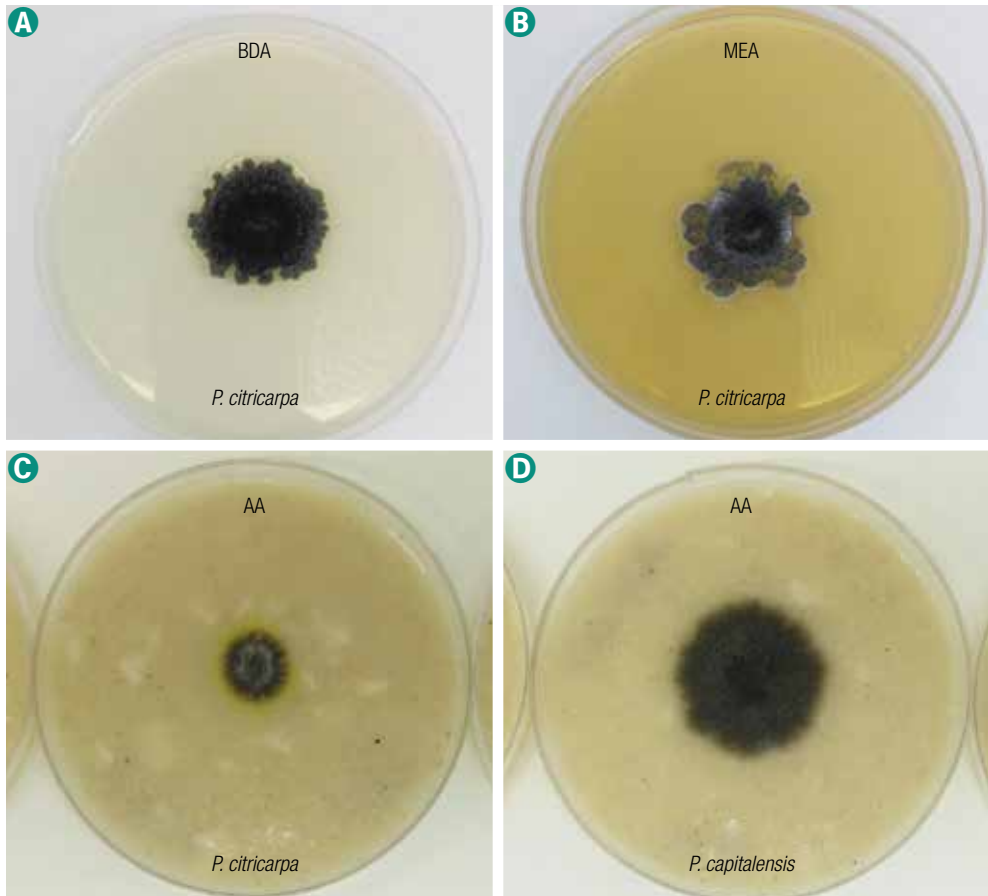
As principais características culturais de *P. citricarpa* que auxiliam em sua identificação são: morfologia da colônia, velocidade de crescimento no meio de cultivo e formação de halo em torno da colônia em meio de cultivo aveia-ágar (AA). A colônia típica de *P. citricarpa* tem coloração escura, de cinza a negra, com micélio denso. No meio BDA apresenta bordas irregulares com invaginações. Seu crescimento é mais lento que o de *P. capitalensis* em meio de cultivo BDA. Para os meios MEA ou AA, as duas espécies não apresentam diferenças significativas no crescimento (Tabela 3.1). Em meio AA, *P. citricarpa* cresce com a formação de um halo amarelo em torno da colônia, o que não é observado em *P. capitalensis* (Figura 3.5).

Tabela 3.1 Diâmetro médio da colônia (mm) de *Phyllosticta citricarpa* e *P. capitalensis* após 7 dias crescendo em diferentes meios de cultivo, no escuro, a 22 °C.

Meio de cultivo	Diâmetro da colônia (mm)	
	<i>P. citricarpa</i>	<i>P. capitalensis</i>
Batata-dextrose-ágar (BDA)	8 a 28	30 a 45
Extrato de malte-ágar (MEA)	14 a 28	17 a 30
Aveia-ágar (AA)	14 a 22	17 a 30

Fonte: Baayen *et al.* (2002).

Os conídios das duas espécies são muito similares, solitários, hialinos, asseptados, gutulados, com paredes finas e lisas, formato de elipsoide a ovoide, medindo (9,4-)10-12(-12,7) × (5-)6-7,5(-8,5) μm em *P. citricarpa* e (9,7-)11-12(-13,4) × (6,1-)6,5-7,5 μm em *P. capitalensis*. Portanto, não é possível separar as duas espécies pelos conídios, embora estes apresentem diferenças na espessura da bainha mucosa em torno da parede, sendo a bainha de *P. citricarpa* pouco visível ou menos espessa que 1,5 μm, ao passo que em *P. capitalensis* ela é mais espessa, medindo de 1,5 a 3,0 μm.



Fotos: Rosana G. Pereira

Figura 3.5 Colônias de *Phyllosticta citricarpa*, após 7 dias crescendo a 25 °C e 12h de fotoperíodo, em meio de cultivo batata-dextrose-água (BDA) (A), extrato de malte-água (MEA) (B) e aveia-água (AA) com formação de halo amarelo (C), e *P. capitalensis* em AA, sem formação de halo amarelo (D).

3.2.5 Métodos moleculares de diagnose

A identificação precisa do patógeno requer, na maioria dos casos, a utilização de procedimentos moleculares. Existem diferentes metodologias de diagnóstico molecular descritas na literatura para a separação, via PCR, das duas espécies. O método proposto por Glienke-Blanco *et al.* (2002) é baseado em *primers* específicos para *P. citricarpa*, com sequências derivadas de RAPD (amplificação aleatória de DNA polimórfico). No método proposto por Bonants *et al.* (2003), as duas espécies são separadas a partir das sequências de DNA da região ITS, sendo possível identificar *P. citricarpa* diretamente das lesões dos frutos. Porém, esse método necessita de, no mínimo, cinco lesões para se atingir um elevado nível de precisão, além do procedimento de extração ser um pouco demorado. Além disso, esse método não é específico o suficiente para separar *P. citricarpa* de *P. citriasiana*. Em 2006, o método desenvolvido por Meyer e colabora-

dores visava realizar a PCR em apenas um dia, com o uso de kits, e distinguia as duas espécies. No método de Peres *et al.* (2007), o DNA pode ser extraído do fungo crescido em meio de cultivo ou diretamente das lesões nos frutos. Esse método não separa *P. citricarpa* de *P. citrichinaensis*, espécie encontrada somente em *C. maxima* em alguns países da Ásia (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 Pares de *primers*, região a ser amplificada e tamanho do produto final da reação em cadeia da polimerase (PCR) para as espécies *Phyllosticta citricarpa* e *P. capitalensis* utilizados em trabalhos publicados em diferentes países.

Espécie fúngica	<i>Primers</i>	Região	Tamanho do produto da PCR	Fonte
<i>P. citricarpa</i>	GCP1 e GCP2	DNA polimórfico	370 pb	Glienke-Blanco <i>et al.</i> (2002)
	GCF3 e GCR7	ITS	490 pb	Bonants <i>et al.</i> (2003)
	CITRI1 e ITS4	ITS	580 pb	Meyer <i>et al.</i> (2006)
	GCN e GCMR	ITS	300 pb	Peres <i>et al.</i> (2007)
<i>P. capitalensis</i>	GCF2 e GCR4	ITS	210 pb	Bonants <i>et al.</i> (2003)
	CAMEL2 e ITS4	ITS	430 pb	Meyer <i>et al.</i> (2006)
	GMN e GCMR	ITS	290 pb	Peres <i>et al.</i> (2007)

Além da PCR convencional utilizada para a detecção das duas espécies, já existem metodologias relacionadas a qPCR (PCR em tempo real) para a quantificação das duas espécies em tecidos de citros. Um método com TaqMan para a qPCR foi desenvolvido para *P. citricarpa* (Van Gent-Pelzer *et al.*, 2007) e um método de qPCR duplex, utilizando o conjunto de *primer*/sonda GCITS e GMITS, foi desenvolvido para as duas espécies (Hu *et al.*, 2014).

Além da análise via PCR, o método denominado de LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*) pode ser utilizado para confirmar a presença de *P. citricarpa* em lesões de pinta preta com ou sem a presença de picnídios. Os extratos são preparados diretamente das lesões de pinta preta em frutos, sendo mais rápido que os outros métodos via PCR descritos anteriormente, pois o teste LAMP pode ser realizado em menos de 40 minutos (Tomlinson *et al.*, 2013).

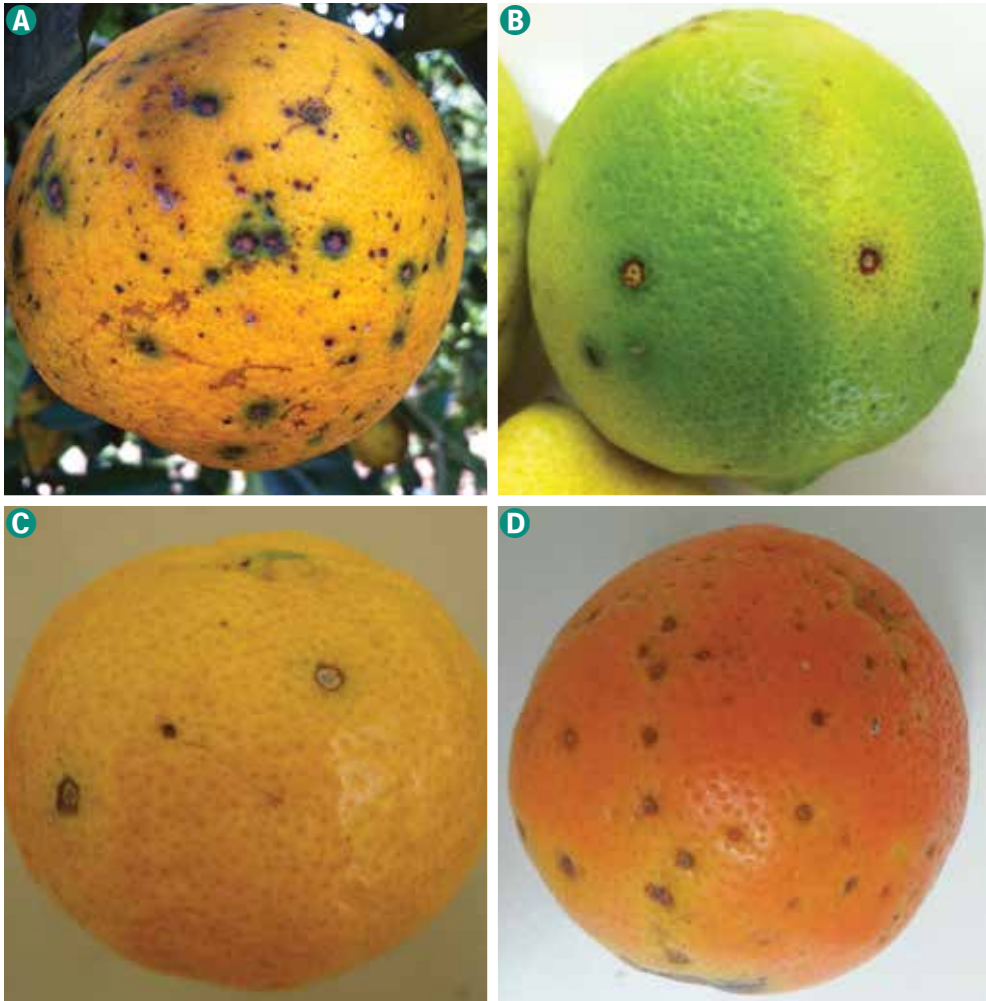


4 Hospedeiros

A pinta preta afeta as principais variedades comerciais de *Citrus* e gêneros afins utilizados na produção de frutas ou como porta-enxerto na produção de mudas. A doença já foi encontrada afetando laranjeiras doces [*C. sinensis* (L.) Osbeck], limoeiros verdadeiros [*C. limon* (L.) Burm. f.], algumas tangerineiras e mexeriqueiras (*C. reticulata* Blanco, *C. deliciosa* Tenore (Figura 4.1A-C), *C. nobilis* Lour., *C. unshiu* Marcow, *C. clementina* hort. ex Tan., *C. tangerina* hort. ex Tan., *C. myrtifolia* Raf.), pomeleiros (*C. paradisi* Macfad.), limeira ácida ‘Galego’ [*C. aurantiifolia* (Christm.) Swingle], limeira da ‘Pérsia’ (*C. limettoides* Tan.), limeira ácida ‘Lima de umbigo’ (*C. limetta* Risso), cidra (*C. medica* L.), tangoreiros ‘Murcott’ e ‘Tankan’ (híbridos *C. sinensis* × *C. reticulata*) e outras espécies de *Citrus* como: *C. celebica* Koord., *C. hystrix* D.C., *C. longispina* Wester, *C. madurensis* Lour., *C. natsuidai* Hay., *C. taiwanica* Tan. & Shim., *C. yatsushiro* hort. ex Tan., *C. pectinifera*, *C. poonensis* hort. ex Tan., *C. tankan* Hayata e yuzu (*C. junos* Siebold ex Tanaka). Os porta-enxertos suscetíveis já descritos são limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia* Osbeck) (Figura 4.1 D), tangerineira ‘Cleópatra’ (*C. reshni* hort. ex Tan.), tangerineira ‘Sunki’ [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tan.], limoeiro rugoso (*C. jambhiri* Lush.) e limoeiro ‘Volkameriano’ (*C. volkameriana* V. Ten & Pasq.) (Tabela 4.1).

Genótipos resistentes à pinta preta

As informações de literatura sobre a resistência à pinta preta da laranjeira azeda (*C. aurantium* L.) e de seus híbridos são divergentes: alguns relatos a classificam como resistente (Kotzé, 1981; CABI/EPPO, 2016) e outros como suscetível (Aguilar-Vildoso *et al.*, 2002). Provavelmente essa diferença observada se deve ao comportamento diferenciado dos genótipos dessa espécie. Estudos com inoculação artificial do patógeno em acessos de laranja azeda seriam necessários para esclarecer essa interação entre *C. aurantium* e *P. citricarpa*. A lima ácida ‘Tahiti’ e algumas espécies de *Citrus* e outros gêneros afins, como *Fortunella*, *Severinia* e *Poncirus*, foram avaliadas em condições de campo (infecções naturais), no BAG-Citros do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” e não mostraram sintomas, sugerindo que elas podem apresentar resistência a *P. citricarpa*. Os híbridos originários de cruzamentos de *Citrus* com *Fortunella* se mostraram resistentes, enquanto os de cruzamentos de *Citrus* com *Poncirus* geraram genótipos suscetíveis, sugerindo que os genes de resistência podem ser dominantes para *Fortunella* e recessivos para *Poncirus*.



Fotos: Geraldo J. Silva Jr. (A, B, D) e Eduardo Fächtenberger (C)

Figura 4.1 Lesões típicas de pinta preta em frutos de *Citrus sinensis* (A), *C. limon* (B), *C. deliciosa* (C) e *C. limonia* (D).

Os sintomas da pinta preta ainda não foram observados em limeira ácida ‘Tahiti’ [*C. latifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka], *C. macrophylla* Wester, *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., kumquateiros (*Fortunella* spp.), e em severinia (*Severinia buxifolia* (Poir.) Tenore). A pinta preta também não foi encontrada, em condições de campo com alta quantidade de inóculo, em plantas do Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG-Citros) do Centro de Citricultura ‘Sylvio Moreira’, em Cordeirópolis-SP, nas seguintes espécies do gênero *Citrus*: *C. bergamia* Risso & Poit., *C. depressa* Hayata, *C. excelsa* Wester, *C. ichangensis* Swing., *C. karna* Raf., *C. keraji* hort. ex Tan., *C. pseudoparadisi* hort. ex Yu. Tan., *C. ujukitsu* Tanaka e *C. webberi* Wester (Tabela 4.1). As toranjas [*C. maxima* (Burm.) Merr.] apresentaram os sintomas da pinta preta no BAG-Citros, embora acredita-se que essa espécie possa ser resistente à *P. citricarpa*, e os sintomas observados tenham sido da doença ‘tan spot’ causada por *P. citriasiana*.

Tabela 4.1 Relação de suscetibilidade e resistência de espécies de *Citrus* e gêneros afins à pinta preta dos citros.

Espécies de <i>Citrus</i> e gêneros afins suscetíveis			
Nome científico	Nome comum	Nome científico	Nome comum
<i>Citrus aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	Lima ácida 'Galego'	<i>Citrus nobilis</i> Lour.	Tangerina 'King'
<i>Citrus celebica</i> Koord.		<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Pomelo
<i>Citrus clementina</i> hort. ex Tan.	Tangerinas clementinas	<i>Citrus pectinifera</i>	
<i>Citrus deliciosa</i> Tenore	Mexericas	<i>Citrus poonensis</i> hort. ex Tan.	
<i>Citrus hystrix</i> D. C.	Lima 'Kaffir'	<i>Citrus reshni</i> hort. ex Tan.	Tangerina 'Cleópatra'
<i>Citrus jambhiri</i> Lush.	Limão rugoso	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Tangerinas
<i>Citrus junos</i> Siebold ex Tanaka	Yuzu	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Laranja doce
<i>Citrus limetta</i> Risso	'Lima de umbigo'	<i>Citrus sunki</i> (Hayata) hort. ex Tan.	Tangerina 'Sunki'
<i>Citrus limettioides</i> Tan.	Lima da Pérsia	<i>Citrus taiwanica</i> Tan. & Shim.	
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f.	Limão verdadeiro	<i>Citrus tangerina</i> hort. ex Tan.	
<i>Citrus limonia</i> Osbeck	Limão 'Cravo'	<i>Citrus tankan</i> Hayata	'Jiaogan'
<i>Citrus longispina</i> Wester	'Talamisan'	<i>Citrus unshiu</i> Marcow	Tangerinas satsuma
<i>Citrus madurensis</i> Lour.		<i>Citrus volkameriana</i> V. Ten & Pasq.	Limão 'Volkameriano'
^a <i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	Toranja	<i>Citrus yatsushiro</i> hort. ex Tan.	
<i>Citrus medica</i> L.	Cidra	Híbrido <i>C. sinensis</i> × <i>C. reticulata</i>	Tangor 'Murcott'
<i>Citrus myrtifolia</i> Raf.	Tangerina 'Chinotto'	^b <i>Citrus aurantium</i> L.	Laranja azeda
<i>Citrus natsudaoidai</i> Hay.	Pomelo japonês de verão		
Espécies de <i>Citrus</i> e gêneros afins resistentes			
Nome científico	Nome comum	Nome científico	Nome comum
<i>Citrus bergamia</i> Risso & Poit.	Laranja azeda 'Bergamota'	<i>Citrus pseudoparadisi</i> hort. ex Yu. Tan.	
<i>Citrus depressa</i> Hayata	'Shekwasha'	<i>Citrus ujukitsu</i> Tan.	
<i>Citrus excelsa</i> Wester		<i>Citrus webberi</i> Wester	
<i>Citrus ichangensis</i> Swing.	'Íchang papeda'	<i>Fortunella crasifolia</i>	Kumquat
<i>Citrus karna</i> Raf.		<i>Fortunella margarita</i>	Kumquat
<i>Citrus keraji</i> hort. ex Tan.	'Keraji'	<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	Trifoliata
<i>Citrus latifolia</i> (Yu. Tanaka) Tanaka	Lima ácida 'Tahiti'	<i>Severinia buxifolia</i> (Poir.) Tenore	Severinia
<i>Citrus macrophilla</i> Wester	Álemow, Colo	^b <i>Citrus aurantium</i> L.	Laranja azeda

Fonte: Aguilar-Vildoso *et al.* (2002); Kotzé (1981); CABI/EPPD (2016). ^a *Citrus maxima* foi considerada como suscetível, embora novos estudos sejam necessários para esclarecer essa relação com *P. citricarpa*, uma vez que os sintomas observados podem ter sido causados por *P. citriasiana*. ^b *Citrus aurantium* é considerada suscetível por Aguilar-Vildoso *et al.* (2002) e resistente por Kotzé (1981).

Os citros de interesse comercial mais suscetíveis são os limões verdadeiros, tangerinas, pomelos e laranjas doces (Tabela 4.2). Dentre as laranjas doces, os maiores prejuízos são verificados em variedades de maturação tardia, como 'Valência', 'Natal', 'Folha murcha', dentre outras. Grandes perdas por queda de frutas também podem ser observadas em pomares mais velhos de variedades de maturação meia-estação como a 'Pera'.

Tabela 4.2 Incidência de pinta preta em frutos das principais espécies de *Citrus* no Banco Ativo de Germoplasma de *Citrus* (BAG-*Citrus*) do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”, em Cordeirópolis-SP, em 2000 e 2001.

Espécie de <i>Citrus</i>	Nome comum	Incidência da doença
<i>Citrus limonia</i> Osbeck	Limão ‘Cravo’	Alta  Baixa
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f.	Limão verdadeiro	
<i>Citrus limetta</i> Risso	‘Lima de umbigo’	
<i>Citrus deliciosa</i> Ten.	Mexerica	
<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Pomelo	
<i>Citrus limettioides</i> Tan.	Lima da Pérsia	
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Laranja doce	
<i>Citrus reticulata</i> Blanco ^a	Tangerina ‘Ponkan’	
<i>Citrus aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	Lima ácida ‘Galego’	
<i>Citrus clementina</i> hort. ex Tan.	Clementina	
<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	Toranja	
<i>Citrus aurantium</i> L.	Laranja azeda	

Fonte: Aguilar-Vildoso *et al.* (2002). ^aA espécie *Citrus reticulata* teve seu nível de incidência alterado em relação à publicação original, pelo fato de se mostrar menos suscetível que a maioria das demais espécies.

As variedades de maturação precoce são igualmente suscetíveis quando comparadas com as variedades de meia-estação e tardias, podendo apresentar as mesmas taxas de progresso da pinta preta ao longo do tempo (Tabela 4.3). Entretanto, a severidade da pinta preta, bem como a queda prematura de frutos, nas precoces podem ser reduzidas em função dessas variedades serem colhidas entre maio e julho. Essa colheita antecipada não permite a expressão dos sintomas da doença em sua totalidade nos frutos infectados, que é favorecida pelas altas temperaturas e intensa radiação solar. Essas condições, em geral, ocorrem durante os meses mais quentes e ensolarados do ano, durante a primavera e o verão, favorecendo a expressão dos sintomas nas variedades de maturação meia-estação e, principalmente, nas de maturação tardia.

Tabela 4.3 Taxas de progresso da pinta preta estimadas pelo modelo monomolecular para os dados de incidência e severidade nas variedades de laranjeiras doce ‘Hamlin’, ‘Pera’ e ‘Valência’, em Mogi Guaçu-SP, em 2001.

Variedade	Incidência (taxa) ^a	Severidade (taxa) ^a
Hamlin	0,01 ^{NS}	0,01 ^{NS}
Pera	0,01	0,01
Valência	0,02	0,01

^aNS, médias na mesma coluna não diferem entre si (Teste de *t*; $p > 0,05$). Fonte: Spósito *et al.* (2004b).



5 Sintomatologia

5.1 Tipos de sintomas

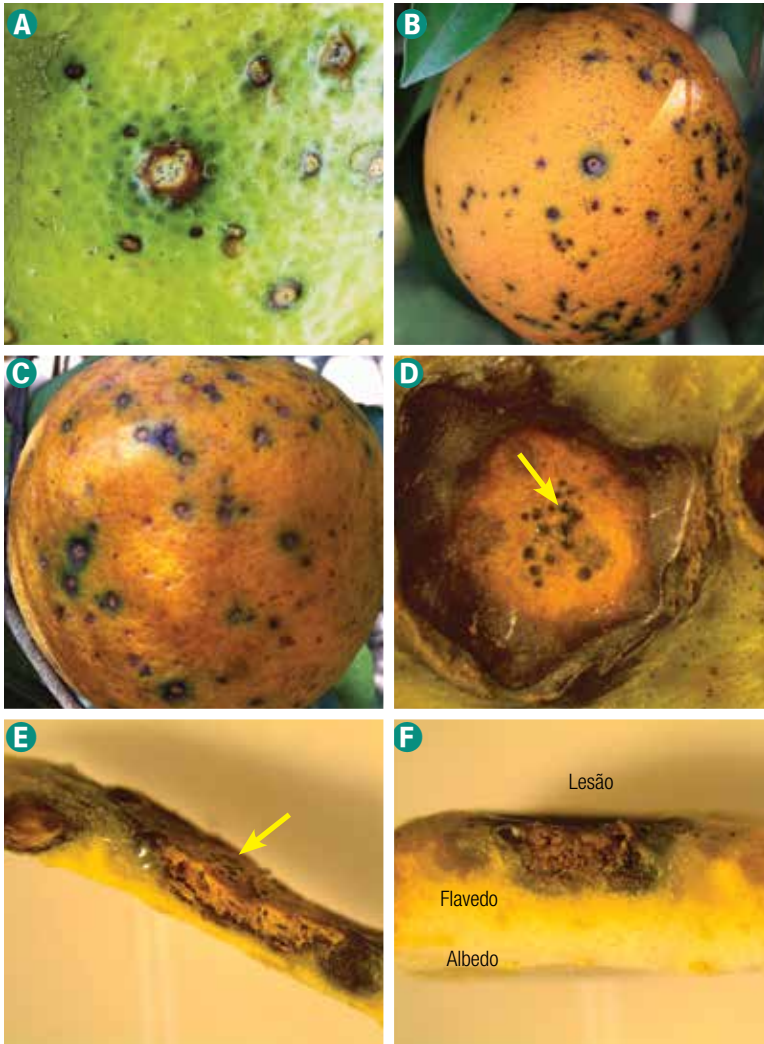
Phyllosticta citricarpa infecta ramos e frutos de quase todas as variedades comerciais de citros. Em folhas, os sintomas são frequentes apenas em limoeiros verdadeiros, limoeiro 'Cravo' e algumas tangerineiras e mexeriqueiras. Plantas velhas e estressadas, em geral, são mais afetadas do que plantas mais novas, sadias e vigorosas. A manifestação dos sintomas é favorecida pela radiação solar combinada com altas temperaturas. Portanto, os órgãos da planta mais expostos ao sol, especialmente ao poente, em geral, são os que mais expressam os sintomas da doença.

A literatura internacional cita quatro diferentes sintomas associados à pinta preta em frutos cítricos: mancha dura, falsa melanose, mancha sardenta e mancha virulenta. No Brasil, são citados mais dois tipos de sintomas: mancha rendilhada e mancha trinca-da. Em áreas com elevada quantidade de inóculo, mais de um desses tipos de sintomas podem ser observados em um único fruto (Figura 5.1).



Figura 5.1 Plantas de laranjeiras doces com frutos contendo diferentes tipos de sintomas de pinta preta causada por *Phyllosticta citricarpa*.

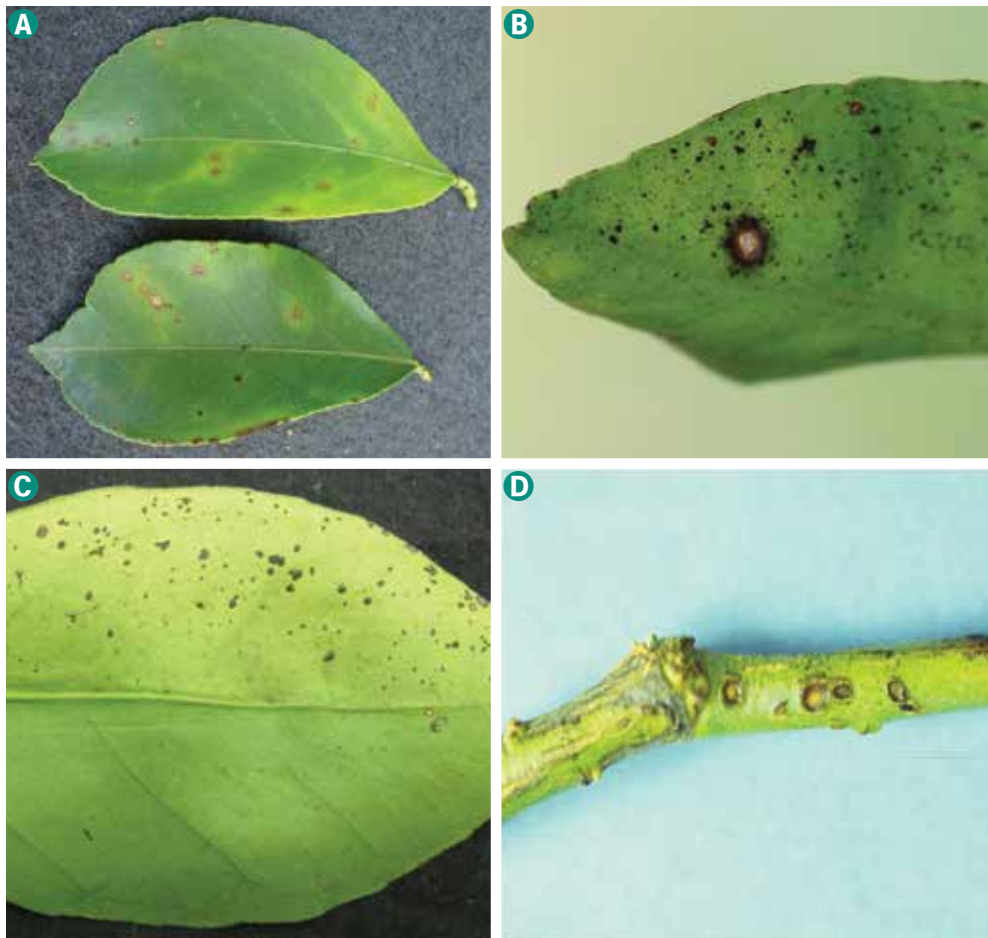
1. Mancha dura: é o sintoma típico da doença, que, em geral, aparece quando os frutos iniciam a fase de mudança de cor da casca. As lesões são bem definidas, apresentam o centro deprimido, de cor marrom-clara ou cinza-escuro, e as bordas salientes, de coloração marrom-escuro ou preta (Figura 5.2). Em frutos verdes, um halo amarelado pode aparecer circundando as lesões, ao passo que em frutos maduros esse halo é esverdeado. No centro das lesões, em geral, aparecem pequenas pontuações negras, que se constituem nos picnídios (sinais), estruturas reprodutivas onde os esporos assexuais, denominados picnidiósporos ou conídios, são produzidos. Os frutos com essas lesões são considerados fontes de inóculo. Essas lesões são restritas ao flavedo na casca dos frutos (Figura 5.2).



Fotos: Eduardo Feichtenberger (A), Gerardo J. Silva Jr. (B-C) e Rosana C. Pereira (D-F)

Figura 5.2 Lesões do tipo mancha dura causadas por *Phyllosticta citricarpa* em frutos de laranja doce: (A) fruto em fase de mudança de cor verde para amarelo com lesões típicas contendo picnídios do fungo; (B) fruto maduro com lesões típicas; (C) fruto em plena maturação com sintomas; (D) detalhe de lesão em fruto contendo picnídios (seta amarela); (E-F) cortes transversais de lesões restritas ao flavedo dos frutos, não atingindo o albedo.

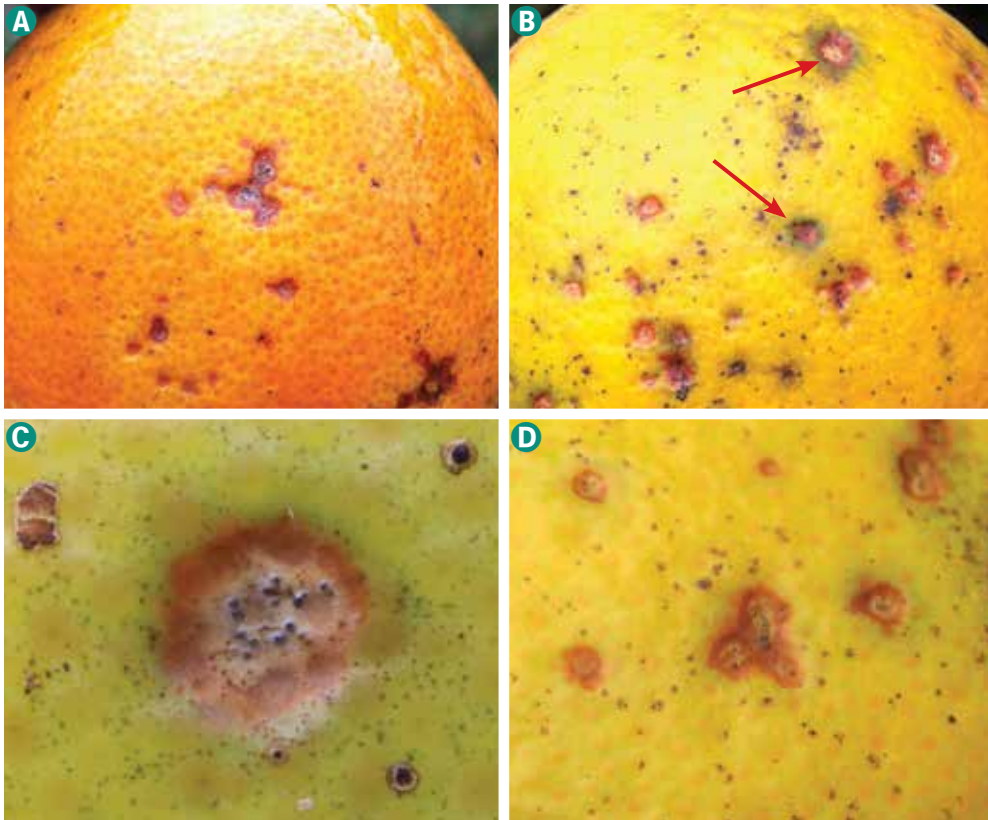
Os sintomas de mancha dura em folhas e em ramos de laranjeira doce são muito raros em pomares bem conduzidos, ocorrendo em plantas muito debilitadas. No entanto, são mais frequentes em folhas de limoeiros verdadeiros (Figura 5.3A), limoeiros 'Cravo' e algumas tangerineiras e mexeriqueiras. Em plantas afetadas de laranjeiras doces, a maioria das folhas apresenta infecções assintomáticas. Quando presentes, os sintomas são, em geral, semelhantes às lesões do tipo mancha dura de frutos (Figura 5.3B), embora sintomas de falsa melanose também sejam observados (Figura 5.3C). No centro das lesões de mancha dura em folhas e ramos também são formados os picnídios (Figuras 5.3A,B,D).



Fotos: Eduardo Feichtenberger (A e D); Gerardo J. Silva Jr. (B e C)

Figura 5.3 Lesões dos tipos mancha dura e falsa melanose causadas por *Phyllosticta citricarpa* em folhas e ramo de laranjeira doce ou limoeiro: (A) folha de limoeiro com sintomas de mancha dura; (B) folha de laranjeira doce com sintomas de mancha dura; (C) folha de laranjeira doce com sintomas de falsa melanose; (D) ramo com sintomas de mancha dura.

2. Mancha sardenta: lesão levemente deprimida, avermelhada, que pode ou não conter picnídios no seu interior (Figura 5.4). São indicativas de que a doença é severa na área. As lesões podem permanecer individualizadas, com diâmetro inferior a 5 mm, ou coalescer, ocupando extensões superiores a 20 mm, quando recebem a denominação de manchas virulentas (Figura 5.4). Eventualmente, pode haver formação de halos verdes circundando as lesões (Figura 5.4B). Podem ocorrer na pré-colheita, mas são mais frequentes no período pós-colheita, durante o armazenamento e o transporte. Em frutos infectados armazenados em câmara fria (7 °C), em geral, não ocorre a expressão dos sintomas, mas eles são frequentes em temperaturas elevadas, sendo sua maior expressão observada em temperaturas acima de 30 °C, sob luz contínua. Os frutos com essas lesões são considerados fontes de inóculo.



Fotos: Geraldo J. Silva Jr. (A-C) e Eduardo Feichtenberger (D)

Figura 5.4 Lesões do tipo mancha sardenta causadas por *Phyllosticta citricarpa* em frutos: (A) fruto maduro com lesões do tipo mancha sardenta coalescendo; (B) presença de halo esverdeado circundando as lesões (setas); (C) detalhe de lesões contendo picnídios (pontos negros); (D) lesões de mancha sardenta evoluindo para mancha virulenta.

3. Mancha virulenta: em geral se desenvolve no final da safra, quando os frutos já estão maduros e as temperaturas são elevadas. Resultam do crescimento ou da coalescência de lesões dos tipos mancha dura e mancha sardenta, dando origem a grandes lesões deprimidas, necróticas, de centro acinzentado e bordas salientes, marrom-escuro ou vermelho-escuro (Figura 5.5). No centro dessas lesões aparecem pontuações escuras, representadas pelos picnídios do fungo. Nesse tipo de sintoma a presença dos picnídios mostra-se significativamente evidente. Os frutos com essas lesões constituem-se em fontes de inóculo.



Fotos: Geraldo J. Silva Jr. (A,C,E), Arquivo Fundecitrus (D)

Figura 5.5 Lesões do tipo mancha virulenta causadas por *Phyllosticta citricarpa* em frutos maduros de laranja doce retirados da planta ou caídos no solo: (A-D) lesões ocupando grande parte da superfície de frutos, formadas a partir de coalescência de lesões de mancha sardenta ou mancha dura; (E) detalhes da lesão contendo os picnídios (pontos negros) em seu interior.

4. Falsa melanose: esse sintoma é formado por lesões muito pequenas (cerca de 1 mm), negras e muitas vezes numerosas (Figura 5.6A), que em geral aparecem quando os frutos estão ainda verdes (Figura 5.6B), embora sejam observadas também em frutos maduros (Figura 5.6C). Em áreas com maior quantidade de inóculo, halos amarelos podem ser formados em torno das lesões nos frutos verdes (Figura 5.6B). Muitas vezes observa-se a presença de diminutos pontos escuros, numerosos, circundando as lesões, que nesse caso são denominados de lesões satélites (Figura 5.6D). Não há presença de picnídios associados a esse sintoma. Portanto, os frutos com essas lesões não se constituem em fontes de inóculo. O nome falsa melanose resulta da sua semelhança com as lesões de melanose, induzidas pelo fungo *Diaporthe citri* F. A. Wolf (*Phomopsis citri* H. Fawc.). Contudo, a falsa melanose é caracterizada por lesões lisas e negras, ao contrário das lesões típicas de melanose, que são ásperas ao tato, de centro trincado, e coloração marrom. Quando há ocorrência em níveis elevados de falsa melanose, em frutos infectados com menos de 20 mm de diâmetro, eles podem amarelecer e cair prematuramente. No Brasil, observou-se pela primeira vez, em 2012, sintomas em folhas de laranjeiras doces semelhantes aos da falsa melanose de frutos, caracterizados por lesões negras, pequenas e lisas, sem a presença de picnídios do fungo (Figura 5.6E). As lesões em frutos ou folhas são superficiais e restritas às primeiras camadas de células dos órgãos doentes (Figura 5.6F).

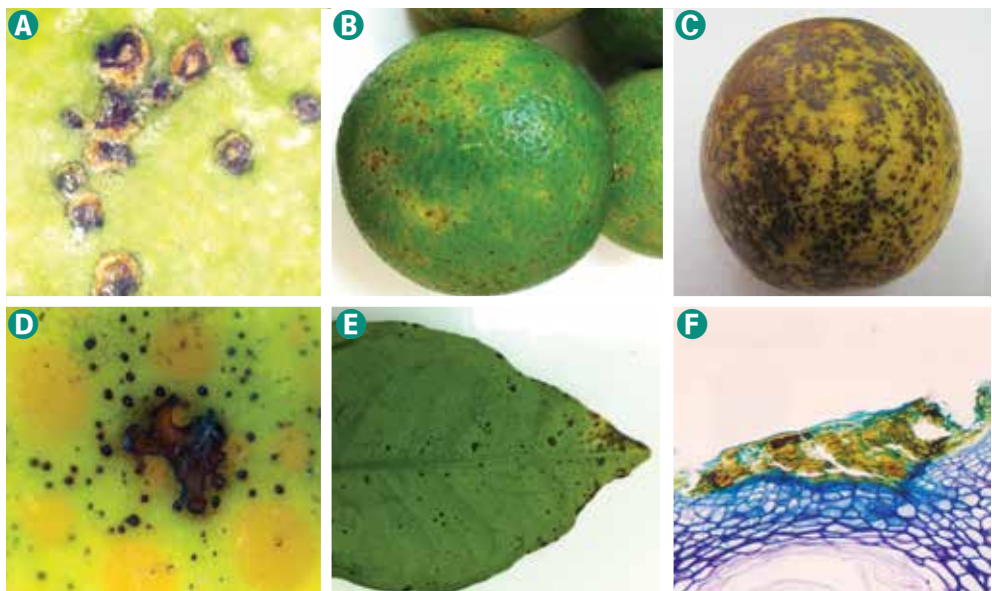
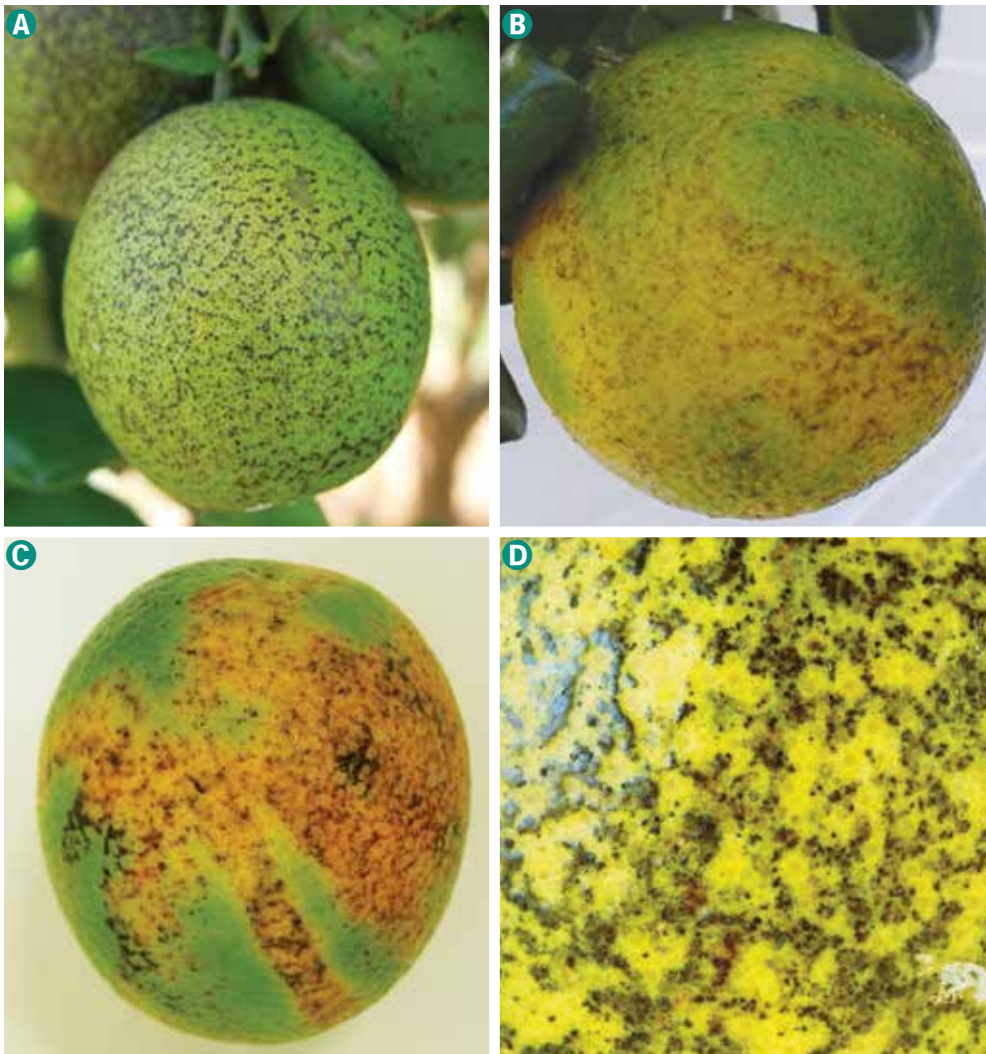


Figura 5.6 Lesões do tipo falsa melanose causadas por *Phyllosticta citricarpa* em frutos e folhas de laranjeira doce: (A) detalhe das lesões no fruto; (B) fruto verde com lesões em sua fase inicial de expressão, com halos amarelos em torno das lesões; (C) fruto maduro com lesões; (D) lesões satélites circundando a lesão principal; (E) folha com sintomas na face abaxial provenientes de plantas velhas severamente afetadas; (F) corte transversal de pericarpo de fruto com lesão de falsa melanose restrita ao flavedo.

5. Mancha rendilhada: é considerada uma variação da falsa melanose, embora apresente características diferentes desta. É formada por lesões pequenas, lisas, superficiais, de bordas mal definidas, coloração negra, que em função do escorrimento de água com esporos na superfície do fruto podem tomar grandes áreas dele, formando em alguns os sintomas com aspecto de lágrimas (Figura 5.7). Como na falsa melanose, as lesões não apresentam corpos de frutificação do fungo, sendo mais frequentes em frutos verdes, e em frutos infectados com menos de 20 mm de diâmetro, podem causar o amarelecimento precoce e a queda prematura dos frutos.



Fotos: Marcel B. Spósito (A-B); Arquivo Fundectrus (C) e Eduardo Feichtenberger (D)

Figura 5.7 Lesões do tipo mancha rendilhada causadas por *Phyllosticta citricarpa* em frutos de laranja doce: (A) fruto verde com lesões escuras ocupando grande parte da superfície do fruto; (B) fruto verde com lesões de coloração alaranjada ou marrons envoltas por halos amarelos; (C) fruto maduro com lesões negras com aspecto de lágrimas; (D) detalhe das lesões de mancha rendilhada em fruto.

6. Mancha trincada: é formada por lesões superficiais, escuras, de diferentes tamanhos e bordas mal definidas, que aparecem quando os frutos ainda estão verdes. Subsequentemente, com o crescimento e o amadurecimento do fruto, ocorrem trincas nos tecidos, já que as áreas afetadas não acompanham o desenvolvimento normal dos frutos (Figura 5.8). Essas lesões aparecem sempre em associação ao ácaro da falsa ferrugem dos citros, *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead, 1879). Essas lesões não apresentam corpos de frutificação do fungo, e os frutos não são fontes de inóculo.



Fotos: Henrique Santos (A) e Geraldo J. Silva Jr. (B-D)

Figura 5.8 Lesões do tipo mancha trincada causadas por *Phyllosticta citricarpa* em frutos de laranja doce associadas com o ácaro da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora*: (A) fruto verde com lesões em sua fase inicial; (B) fruto maduro com lesões ocupando grande parte da superfície, com trincas; (C) fruto com toda a superfície lesionada; (D) detalhe das lesões contendo trincas.

5.2 Período de expressão dos sintomas

Em frutos de laranja 'Valência', inoculados artificialmente em condições controladas de casa-de-vegetação, em diferentes estádios fenológicos, o período de incubação variou de acordo com o diâmetro dos frutos no momento da inoculação, sendo obtida uma relação negativa entre o período de incubação e o diâmetro. Os frutos inoculados com até 3 cm de diâmetro expressaram sintomas entre 150 e 270 dias após as inoculações, ao passo que em frutos inoculados com diâmetros iguais ou superiores a 5,0 cm, o período para expressão de sintomas foi inferior, variando de 26 a 109 dias. Frutos inoculados com concentrações de inóculo mais baixas, 1.000 ou 10.000 conídios/fruto, apresentaram sintomas mais tardiamente quando comparados a frutos inoculados com concentrações acima de 100.000 conídios/fruto (Tabela 5.1).

Definição do período de incubação

Denomina-se período de incubação o intervalo de tempo compreendido entre a inoculação e a expressão dos sintomas. As doenças dos citros causadas por fungos, em geral, apresentam um período de incubação curto, de até 7 dias, como é o caso da verrugose (*Elsinoë fawcettii* Bitanc. & Jenkins e *E. australis* Bitanc. & Jenkins), da melanose (*D. citri*) e da podridão floral (*Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds e *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.). A pinta preta, por outro lado, apresenta período de incubação mais longo, variável em função do estágio fenológico do fruto quando da sua infecção e das condições ambientais pós-infecção.

Tabela 5.1 Tempo médio (dias) para a expressão dos sintomas da pinta preta dos citros em frutos de laranja 'Valência' de diferentes diâmetros, quando inoculados com diferentes concentrações de conídios de *Phyllosticta citricarpa* por fruto.

Conídios/fruto	Diâmetro dos frutos (cm)			
	1,5	3,0	5,0	7,0
1.000	Sem sintomas	200	83	109
10.000	228	167	83	26
100.000	266	156	26	26
1.000.000	200	167	26	26

Fonte: Aguiar (2011).

Nos frutos de laranjeiras 'Hamlin', 'Pera' e 'Valência', independentemente da variedade, o período de incubação pode variar em função do estágio fenológico do fruto na época da inoculação, da concentração de inóculo (conídios/fruto) e do tipo de sintoma desenvolvido. Os sintomas de falsa melanose são os primeiros a serem expressos nos frutos ainda verdes. O período de incubação da falsa melanose é afetado pela concentração de inóculo e pelo diâmetro dos frutos. Frutos de 1,5 cm e 3 cm de diâmetro inoculados com suspensão de conídios de *P. citricarpa*, na concentração de 500 conídios/fruto, apresentaram um período de incubação entre 70 e 116 dias, respectivamente. Os menores períodos de incubação foram observados em frutos inoculados com 50.000 conídios/fruto. Nessa concentração, os frutos de 1,5 cm de diâmetro inoculados tiveram os sintomas de

falsa melanose expressos, em média, 40 dias após a inoculação. Já frutos com 3 e 5 cm apresentaram sintomas, em média, 65 e 156 dias após a inoculação, respectivamente. Os frutos inoculados com 7 cm de diâmetro não apresentaram sintomas de falsa melanose (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 Tempo médio (dias) para a expressão dos sintomas de falsa melanose em frutos de laranjeiras 'Hamlin', 'Pera' e 'Valência', de diferentes diâmetros, quando inoculados com suspensões padronizadas de 500 e 50.000 conídios de *Phyllosticta citricarpa* por fruto.

Diâmetro do fruto (cm)	Concentração de inóculo (conídios/fruto)	
	500	50.000
1,5	70 a ^a	40 a ^a
3,0	116 b	65 b
5,0	Sem sintomas	156 c
7,0	Sem sintomas	Sem sintomas

^aValores representam as médias das três variedades. Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente (Teste de Log-rank; $p > 0,05$). Fonte: Frare (2015).

O período de incubação da mancha dura ou sardenta foi afetado somente pelo diâmetro dos frutos, sendo os menores períodos médios, 176 e 197 dias, observados em frutos inoculados com 5 cm e 7 cm, respectivamente. Nos frutos inoculados com 1,5 cm e 3 cm de diâmetro, o período de incubação médio foi de 240 e 217 dias. De maneira geral, em frutos de todas as variedades e diâmetros avaliados, o tempo requerido para a expressão dos sintomas de mancha dura ou sardenta foi variável, de 100 a 341 dias após a inoculação (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 Tempo médio (dias) para a expressão dos sintomas de mancha dura em frutos de laranjeiras 'Hamlin', 'Pera' e 'Valência', de diferentes diâmetros, quando inoculados com suspensões de 500 e 50.000 conídios de *Phyllosticta citricarpa*/fruto.

Diâmetro do fruto (cm)	Tempo médio (dias)
1,5	240 a ^a (123-341) ^b
3	217 ab (100-330)
5	176 c (100-267)
7	197 bc (119-300)

^aValores representam as médias das três variedades e das duas concentrações de inóculo. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si (Teste de Log-rank; $p > 0,05$). ^bPeríodos de incubação mínimo e máximo para o aparecimento da mancha dura nos frutos inoculados. Fonte: Frare (2015).

A concentração de esporos de 500 conídios/fruto propiciou o aparecimento de mais lesões de mancha dura ou sardenta que as de falsa melanose. Já nos frutos inoculados com a concentração de 50.000 conídios/fruto, as lesões produzidas foram quase sempre

as do tipo falsa melanose, sintoma que parece estar mais associado à reação da planta em defesa às infecções de *P. citricarpa*. Portanto, o período de incubação da pinta preta nos frutos é variável, e o estágio fenológico dos frutos quando da infecção, mensurado pelo diâmetro, não é suficiente para explicar as variações observadas no período de expressão de sintomas.

No local da inoculação em frutos de laranjeiras ‘Valência’ ou ‘Pera’ com 1,5 ou 3 cm de diâmetro, apareceram primeiro as lesões de falsa melanose, seguidas de mancha dura ou sardenta. A maioria das lesões de falsa melanose não evoluiu para mancha dura ou sardenta (Figura 5.9A-H). Nos frutos de 5 cm de diâmetro inoculados, lesões de falsa melanose ou de mancha dura ou sardenta apareceram nas áreas inoculadas, mas nunca os dois tipos de lesão em um mesmo fruto e sim em frutos diferentes (Figura 5.9I-L). Nos frutos de 7 cm de diâmetro inoculados, somente lesões de mancha dura ou sardenta foram observadas após o período de incubação (Figura 5.9M-P).

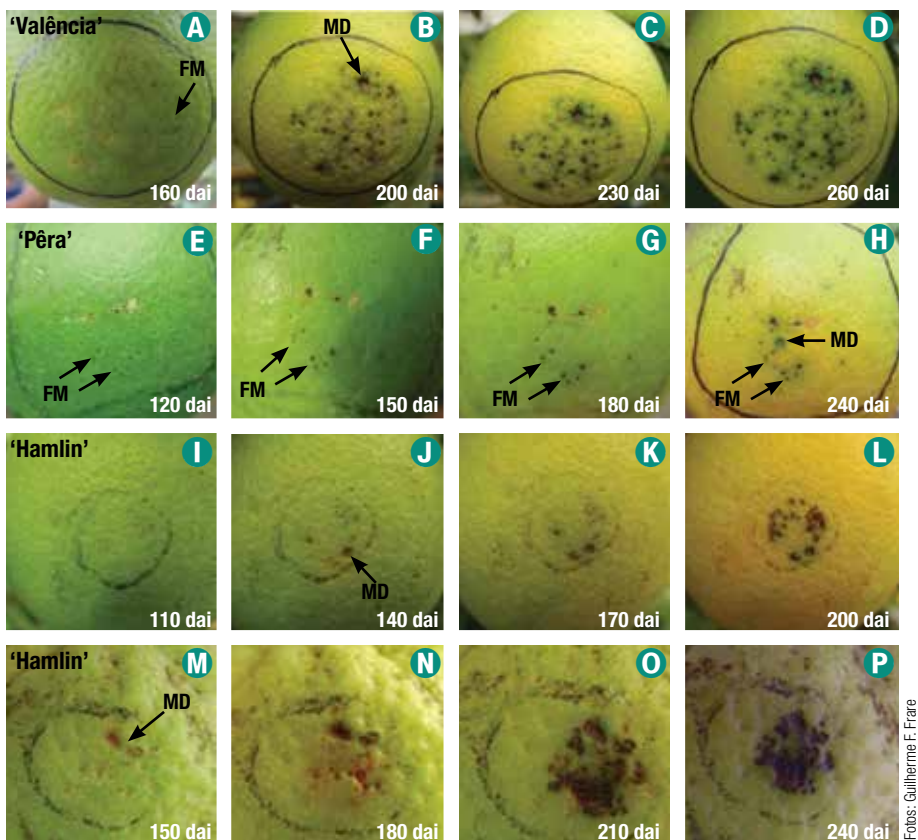


Figura 5.9 Evolução dos sintomas de pinta preta em dias após a inoculação (dai) de *Phyllosticta citricarpa* em frutos de laranjeira ‘Valência’ de 1,5 cm de diâmetro (A-D), de ‘Pera’ de 3 cm (E-H) e de ‘Hamlin’ de 5 cm (I-L) ou 7 cm (M-P). Os sintomas de falsa melanose (FM) e mancha dura ou sardenta (MD) são formados em posições distintas (B e H). Fonte: Frare (2015).

Nos pomares do estado de São Paulo, as infecções por *P. citricarpa* ocorrem a partir de setembro/outubro, com o início do período chuvoso da safra, quando os frutos estão no estágio inicial de formação. Entretanto, a expressão dos sintomas de pinta preta, com o aparecimento de lesões de falsa melanose, em geral, começa somente a partir dos meses de fevereiro/março do ano seguinte. Em laranjeiras doces, desde o início da expressão dos sintomas até a colheita, a incidência e a severidade da doença aumentam consideravelmente, independentemente da maturação precoce ou tardia dos frutos. Nas variedades de maturação meia-estação e tardia, a severidade da doença na pré-colheita, em frutos que ainda estão retidos na planta, pode ser menor do que a severidade observada em avaliações anteriores, pois os frutos com severidades mais altas caem prematuramente, e não são incluídos na avaliação final da doença (Figura 5.10).

Os primeiros sintomas da doença, em geral, são observados em frutos com 5 a 6 meses de idade. Portanto, independentemente de as infecções ocorrerem em períodos variáveis, pois os frutos permanecem suscetíveis por longos períodos, a época do ano de expressão dos primeiros sintomas da doença em frutos não é muito variável. Vale ressaltar que microlesões ou poucas lesões podem ser formadas nos frutos antes de fevereiro/março, embora elas não sejam facilmente visualizadas. Provavelmente, a partir de março, há um acúmulo ou aumento da expressão dessas lesões, tornando os sintomas mais evidentes.

O período de incubação variável pode estar relacionado à resistência de frutos verdes à colonização pelo patógeno, que seria baseada na presença de compostos químicos nos frutos imaturos, na existência de substâncias complexas inadequadas para a nutrição do patógeno, na incapacidade do patógeno em produzir quantidade suficiente de enzimas capazes de degradar as substâncias pécticas da parede celular do fruto, e na produção de compostos fenólicos e fitoalexinas nos frutos pós-infecção, dentre outros. Com a maturação, os componentes químicos da casca são alterados, e de alguma maneira, favoreceriam a expressão de sintomas em maior quantidade.

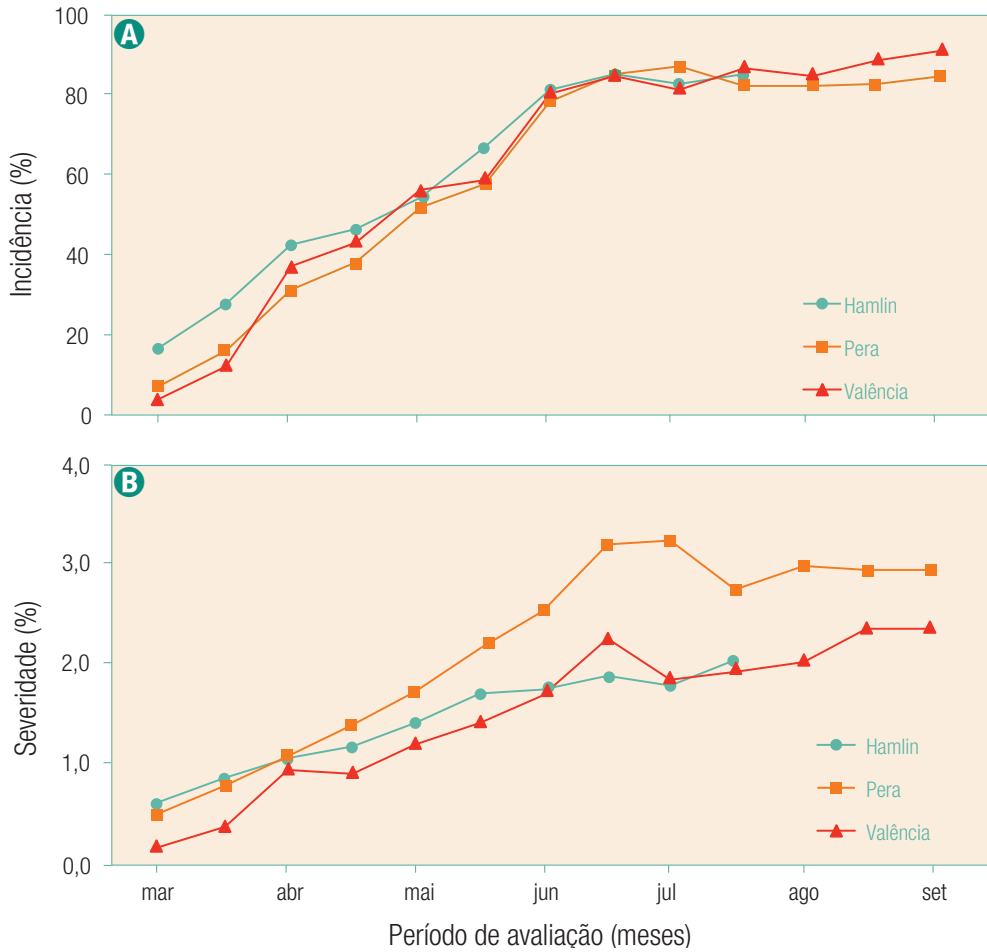


Figura 5.10 Curvas de progresso da incidência, em porcentagem de frutos doentes por planta (A), e da severidade, em porcentagem de área lesionada dos frutos (B) por pinta preta, de março a setembro, em pomares de laranjeiras 'Hamlin', 'Pera' e 'Valência' sem o controle da doença. Fonte: Spósito *et al.* (2004b).

6 Fitopatometria

A quantificação de doenças pode ser realizada por métodos diretos ou indiretos. Dentre os métodos diretos estão as avaliações visuais dos sintomas e sinais, feitas por meio da incidência e severidade. Os indiretos incluem a avaliação da população do patógeno e dos efeitos deste sobre a fisiologia da planta.

A avaliação da **incidência** é o método quantitativo direto mais comum de medição de doença por ser objetivo (presença ou ausência de doença), de fácil e rápida utilização, sendo obtido pela relação entre o número de plantas ou órgãos da planta e o número total de plantas ou órgãos avaliados, sem levar em consideração a quantidade de doença.

A avaliação da **severidade** é um método quantitativo direto relacionado à porcentagem doente da área da planta ou dos órgãos, por meio da avaliação real ou estimada da área afetada. A avaliação real é realizada pela contagem de lesões e medição de seu tamanho em área; já a severidade estimada normalmente é realizada com auxílio de escalas diagramáticas ou descritivas. A avaliação da severidade é mais trabalhosa e demorada, pode ser subjetiva por estimar a área lesionada e depender do avaliador e da escala adotada.

Entre os dois métodos de avaliação para a pinta preta a incidência é particularmente útil quando utilizada no início da epidemia ou na avaliação em pomares cuja produção é destinada para o comércio de frutas frescas. Entretanto, quando a incidência atinge 100% das plantas ou 100% dos frutos de uma planta, o incremento da doença é mais bem representado pela severidade, pois essa tende a aumentar durante a fase de maturação dos

Definição de Fitopatometria

A fitopatometria (do grego *fito* = planta, *pato* = doença e *metria* = medição) visa quantificar os sintomas causados pelos agentes patogênicos nas plantas. A quantificação de doenças pode ser utilizada para vários estudos, como:

- determinar danos ou perdas provocados por uma determinada doença;
- estudar o desenvolvimento de uma doença no tempo ou espaço;
- comparar a eficiência de defensivos agrícolas e outros produtos;
- verificar o efeito de diferentes estratégias de manejo;
- avaliar a resistência de espécies ou variedades de plantas aos patógenos;
- elaborar modelos ou sistemas de previsão de doenças.



frutos, uma vez que representa a área das lesões nos frutos e não somente presença ou ausência da doença nos mesmos.

Uma das ferramentas para a quantificação da severidade da pinta preta é o uso de escalas diagramáticas, que são representações ilustradas dos frutos (padrões de comparação), com a área lesionada ou coberta pelos sintomas e sinais do patógeno, em diferentes níveis de severidade comumente encontrados no campo (Figura 6.1). A escala é utilizada para orientar o avaliador, de modo que a proporção de área lesionada, mensurada pela análise visual, seja mais precisa e acurada. A **precisão** é a medida de confiabilidade e/ou repetibilidade nas avaliações, e a **acurácia** é o grau de proximidade entre a estimativa média e os dados reais. A baixa precisão e/ou acurácia podem causar erro na quantificação da doença e interferir na análise epidemiológica ou de manejo, gerando conclusões equivocadas em relação ao patossistema. Quando uma avaliação visual é realizada sem o auxílio de uma escala, o avaliador pode atribuir qualquer valor de 0 a 100% para a área lesionada de determinado fruto, e o uso da escala permite ao avaliador inserir em sua estimativa um intervalo menor, compreendido entre dois dos níveis representados na escala.

A escala deve representar os níveis de severidade dos sintomas da maneira mais próxima possível da realidade, respeitando sempre as limitações da acuidade da visão humana. Além da boa qualidade de uma escala diagramática, as estimativas de severidade dependem da percepção visual e da experiência de cada indivíduo na avaliação de doenças.

A severidade tem sido a variável mais utilizada para avaliação de frutos que são destinados à produção de suco concentrado, uma vez que um pomar pode apresentar 100% de incidência, ou seja, todos os frutos com pelo menos uma lesão, mas a proporção de sintomas na casca pode não ser suficiente para causar a queda prematura dos frutos. Quanto maior a severidade da doença nos frutos, maior será a probabilidade de as lesões estarem mais próximas do pedúnculo e maiores as chances de os frutos caírem.

Para a pinta preta, a primeira escala utilizada na década de 1980 e início da década seguinte apresentava apenas notas de 0 a 2, sendo 0 = ausência de sintomas, 1 = frutos com 1-3 lesões e 2 = frutos com 4 ou mais lesões, uma vez que a doença ainda estava restrita ao Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e à região leste do estado de São Paulo e ocorria em baixos níveis. Ainda na década de 1990, com o incremento da doença no estado de São Paulo, a escala foi sofrendo alterações e passou a ter mais notas, variando de 0 (frutos sem lesão) a 6 (20% ou mais de área lesionada). No início da década de 2000, a escala diagramática passou a variar de 0 a 25% de severidade. Com o progresso da doença, essa escala passou a não atender às necessidades de quantificação para estudos epidemiológicos, sendo sugerida, em 2004, uma escala para sintomas de mancha dura que continha seis níveis de severidade 0,5; 1,7; 5; 11,5; 22,5 e 49%, e outra para os sintomas do tipo falsa melanose 1,2; 4,5; 15; 31; 53 e 68% de severidade. Na década de 2010, em função da dificuldade para separar os sintomas de falsa melanose e mancha dura durante as avaliações em campo, a escala com níveis de severidade de 1,2 a 68% passou a ser a mais utilizada para a avaliação de ambos os tipos de sintomas (Figura 6.1).

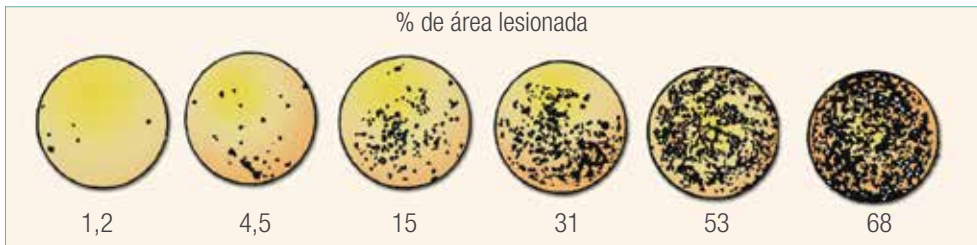


Figura 6.1 Escala diagramática para avaliação de sintomas da pinta preta em frutos cítricos, com níveis de severidade (% de área do fruto lesionada) variando de 1,2 a 68%. Fonte: Spósito *et al.* (2004a).

Em experimentos com a pinta preta, são avaliados, ao acaso, pelo menos 25 frutos de cada lado das plantas da parcela útil, ou seja, 50 frutos por planta em pelo menos quatro plantas por parcela, totalizando 200 frutos por parcela. A avaliação é realizada dando-se a nota para a face da casca do fruto mais exposta à radiação solar, pois é nesta face que ocorre a maior expressão dos sintomas. As plantas podem ser divididas em setores e estes podem ser avaliados separadamente quando o objetivo é comparar a severidade nas diferentes partes da planta (Figura 6.2).

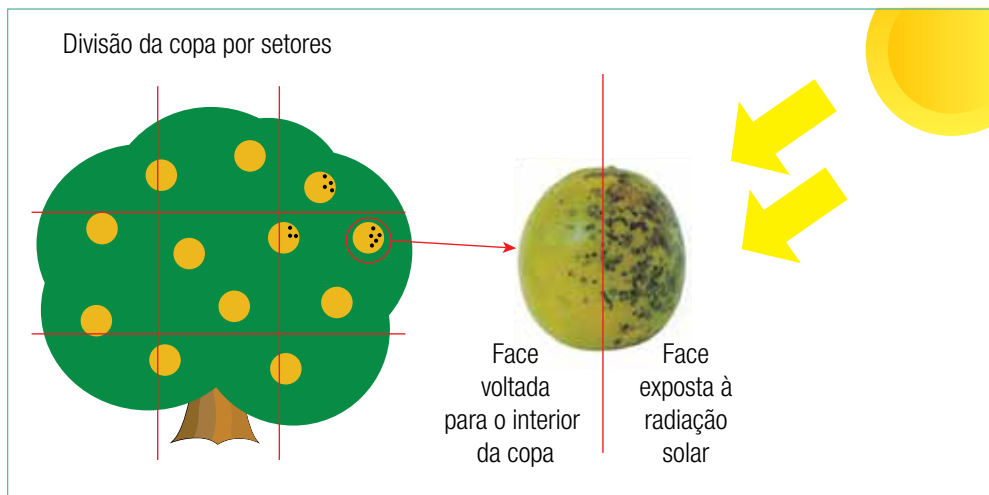


Figura 6.2 Demonstração da divisão da copa em nove quadrantes de cada lado da planta para a avaliação da pinta preta, bem como a divisão da área da casca do fruto em: face voltada para o interior da copa e face exposta à radiação solar.

As avaliações de sintomas da pinta preta em frutos nas regiões onde o florescimento ocorre de setembro a outubro se iniciam normalmente em março/abril do ano seguinte, uma vez que o período de incubação é variável e longo. Os primeiros sintomas observados nos frutos nessa época, quando eles ainda estão verdes, são os de falsa melanose. A quantidade e os tipos de lesão aumentam até a colheita.

Para a elaboração de curvas de progresso da doença, é recomendável que os intervalos entre as avaliações dos sintomas sejam de 15 a 60 dias, dependendo da época de maturação dos frutos, para que seja possível realizar pelo menos cinco avaliações até a colheita. Para estimar o progresso temporal da doença, normalmente são utilizadas análises de regressão não linear, principalmente com os modelos monomolecular ou logístico, verificando qual deles apresenta o melhor ajuste aos dados. Quando os modelos não se ajustam aos dados, recomenda-se calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (ver item 7.2.1 “Progresso temporal da doença” do capítulo seguinte).

Os dados de incidência e severidade da pinta preta apresentam forte relação quando a incidência de frutos doentes é inferior a 95% (Figura 6.3). Em pomares de laranjeiras tardias muito afetados pela pinta preta (sem controle químico e com alta intensidade da doença), a incidência de frutos doentes na planta atinge 100% e a severidade média de pinta preta nos frutos aumenta até atingir valores máximos em torno de 5 a 15% na época da colheita. Devido à queda prematura dos frutos muito afetados, a severidade média dos frutos na planta pode apresentar uma redução na época da colheita. Frutos com altos níveis de severidade, em geral, começam a cair a partir de agosto, o que normalmente não permite a observação de severidades muito acima desses valores nos frutos mantidos na planta.

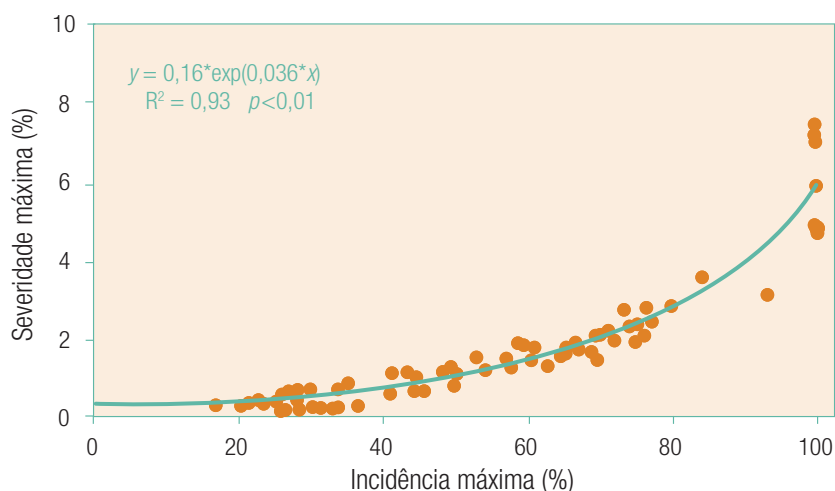


Figura 6.3 Relação entre incidência máxima e severidade máxima de pinta preta dos citros. Pontos representam os dados de cada parcela experimental em diferentes pomares de laranjeiras ‘Valência’. Linha contínua representa a estimativa do modelo exponencial aos dados. Fonte: Catapani (2015).

Além da avaliação de sintomas em frutos, podem ser realizadas avaliações de queda prematura de frutos, nas quais são contados os caídos durante todo o período de avaliações de sintomas, usualmente em intervalos quinzenais. Em plantas com altas severidades há queda acentuada de frutos, de tal maneira que os remanescentes na planta tendem a apresentar diâmetro e peso maiores. Portanto, é possível obter o número total de frutos

caídos, porém, a perda de produção (em kg/planta) tende a ser superestimada pelo fato de usar como referência o peso médio dos frutos remanescentes na planta.

A produtividade das plantas também pode ser avaliada para estimar mais precisamente o dano causado pela doença. Na colheita, além de se obter o peso total de frutos da planta, recomenda-se fazer a contagem e pesagem de 100 frutos e estimar o número total de frutos por planta.

A relação entre incidência ou severidade de pinta preta e a produção das plantas normalmente é fraca ou apresenta valores intermediários de coeficiente de determinação (Figura 6.4), uma vez que a produção das plantas é muito variável e a queda prematura pode ser influenciada por outros fatores, além da doença, como estresse hídrico, nutrição e sanidade do pomar.

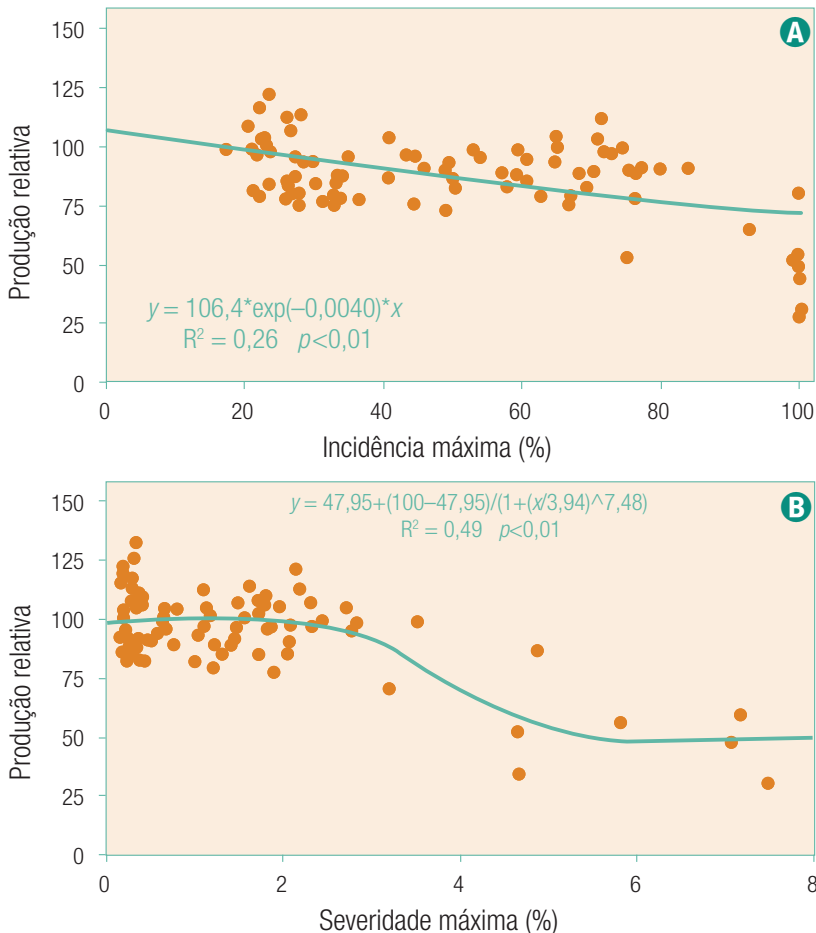


Figura 6.4 Relação entre incidência (A) ou severidade (B) de pinta preta nos frutos e produção relativa das plantas (valor de 100 considerado para a produção das plantas na ausência da doença nos diferentes pomares). Pontos representam os dados de cada parcela experimental em diferentes pomares de laranjeiras 'Valência'. Linha contínua representa a estimativa do modelo exponencial (A) e logístico negativo (B) aos dados. Catapani (2015).

A avaliação da pinta preta em experimentos deve estar sempre associada à escolha de um bom delineamento experimental. Como exemplo, para a avaliação de estratégias de manejo, os ensaios de campo têm sido delineados em blocos casualizados com quatro a cinco repetições. Cada bloco deve ser composto por pelo menos três linhas de plantio, as quais devem compreender todas as parcelas dos diferentes tratamentos. Cada parcela experimental deve ser composta por pelo menos seis plantas por linha de plantio, totalizando o mínimo de 18 plantas por parcela (6 plantas × 3 linhas). Um número maior de plantas por linha é recomendável, pois em citros há uma grande variação de produtividade entre plantas vizinhas submetidas aos mesmos tratamentos. A parcela útil mínima deve ser composta pelas quatro plantas centrais da linha central. Entre os blocos sugere-se manter uma linha de bordadura pulverizada. No início e fim de cada linha deve-se manter pelo menos três plantas de bordadura (Figura 6.5).

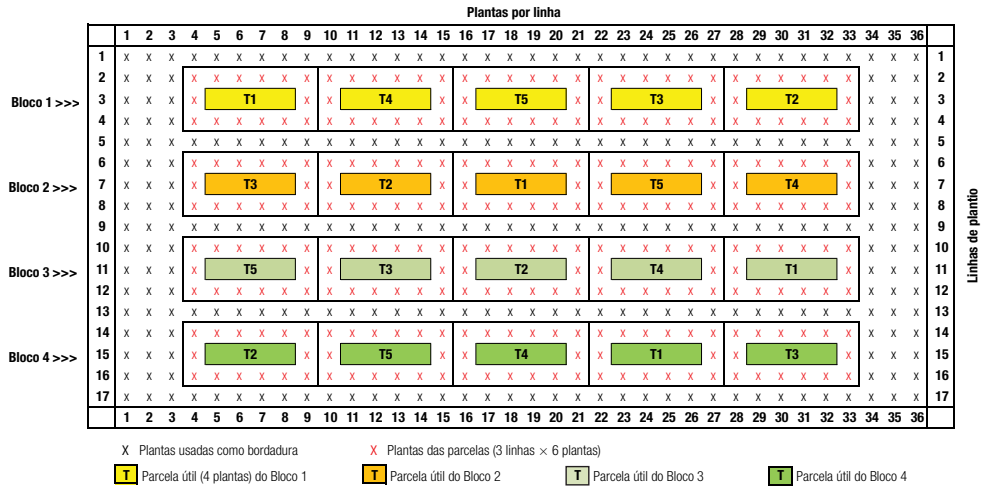


Figura 6.5 Delineamento experimental para ensaios de avaliação de estratégias de manejo da pinta preta dos citros em pomares. Esquema com cinco tratamentos avaliados em quatro blocos. Em cada bloco, as parcelas são compostas por 18 plantas (3 linhas de plantio com 6 plantas) e as parcelas úteis são representadas por quatro plantas centrais da linha central de cada bloco.

7

Epidemiologia

No Brasil, os dois tipos de esporos produzidos pelo fungo são responsáveis pelas infecções, ao contrário do que se observa em outros países, como África do Sul, onde apenas os ascósporos parecem ter papel relevante no progresso da doença. No Brasil, os ascósporos estão associados ao estabelecimento da doença em áreas indenidas. Nas áreas onde a doença já ocorre, os ascósporos podem disseminá-la entre plantas dentro de um pomar, ou entre pomares dentro de uma mesma propriedade. Os conídios, por sua vez, estão associados ao incremento da doença nas plantas em que o fungo já está presente. A disseminação por conídios ocorre sempre do topo para a base da copa da planta, pois esses esporos são transportados pelo escorrimento da água sobre as lesões com picnídios. Os ramos (fontes de conídios) são também responsáveis pela manutenção do patógeno na árvore e incremento da doença na planta.

Os ascósporos constituem-se no inóculo primário da pinta preta, introduzindo-a em áreas onde ela não ocorre (aloinfecção), mas também funcionam como inóculo secundário, alimentando a epidemia durante uma safra (autoinfecção). Na primeira ocorrência da doença em uma área livre, são os ascósporos, produzidos externamente à planta, em folhas de citros em decomposição, que, após dispersão pelo vento, infectam frutos, ramos e folhas. Esses esporos nunca foram encontrados em frutos e ramos na copa da planta. Porém, como a queda de folhas ocorre várias vezes durante o ciclo da cultura, os ascósporos, havendo condições favoráveis, são continuamente ali produzidos. Em São Paulo, picos de liberação de ascósporos ocorrem entre novembro e março, mas a presença de ascósporos no ar pode ser observada fora desse período. Normalmente, a liberação se inicia no início da estação chuvosa, caindo drasticamente na estação seca do ano. Os frutos e ramos, fixados à planta, infectados por ascósporos, expressam sintomas e se tornam fontes de inóculo exclusivas do ciclo secundário da doença. Nesses tecidos são formados os conídios, esporos assexuais que, dispersos por água a curtas distâncias, são responsáveis pelas autoinfecções que ocorrem em plantas de citros, podendo infectar frutos, ramos e folhas. As folhas de citros fixadas às plantas e infectadas tanto por ascósporos quanto por conídios, quando caem no solo, tornam-se fontes de inóculo. É possível que, no Brasil, os dois esporos (ascósporos e conídios) sejam igualmente importantes na epidemiologia da doença (Figura 7.1).

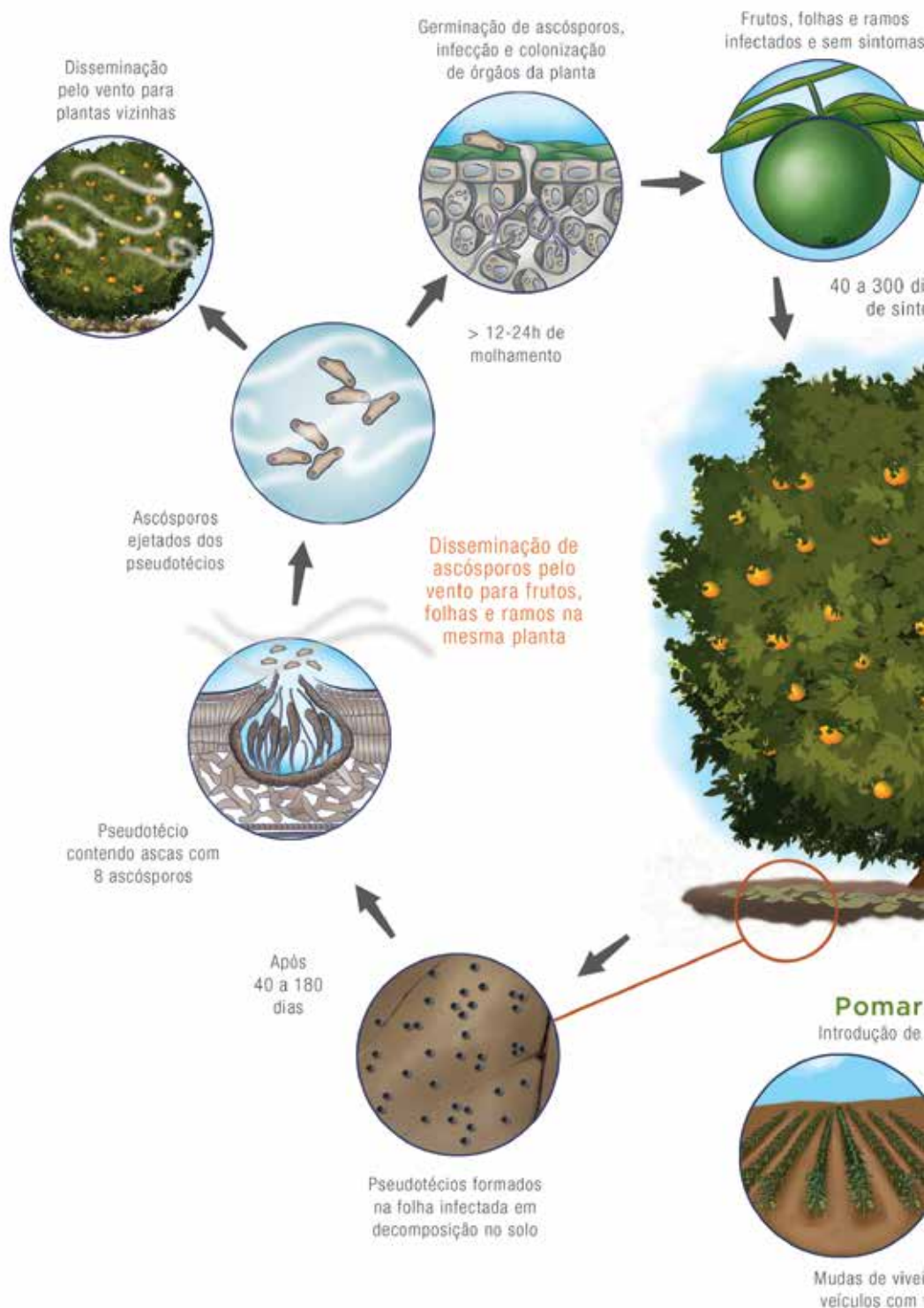
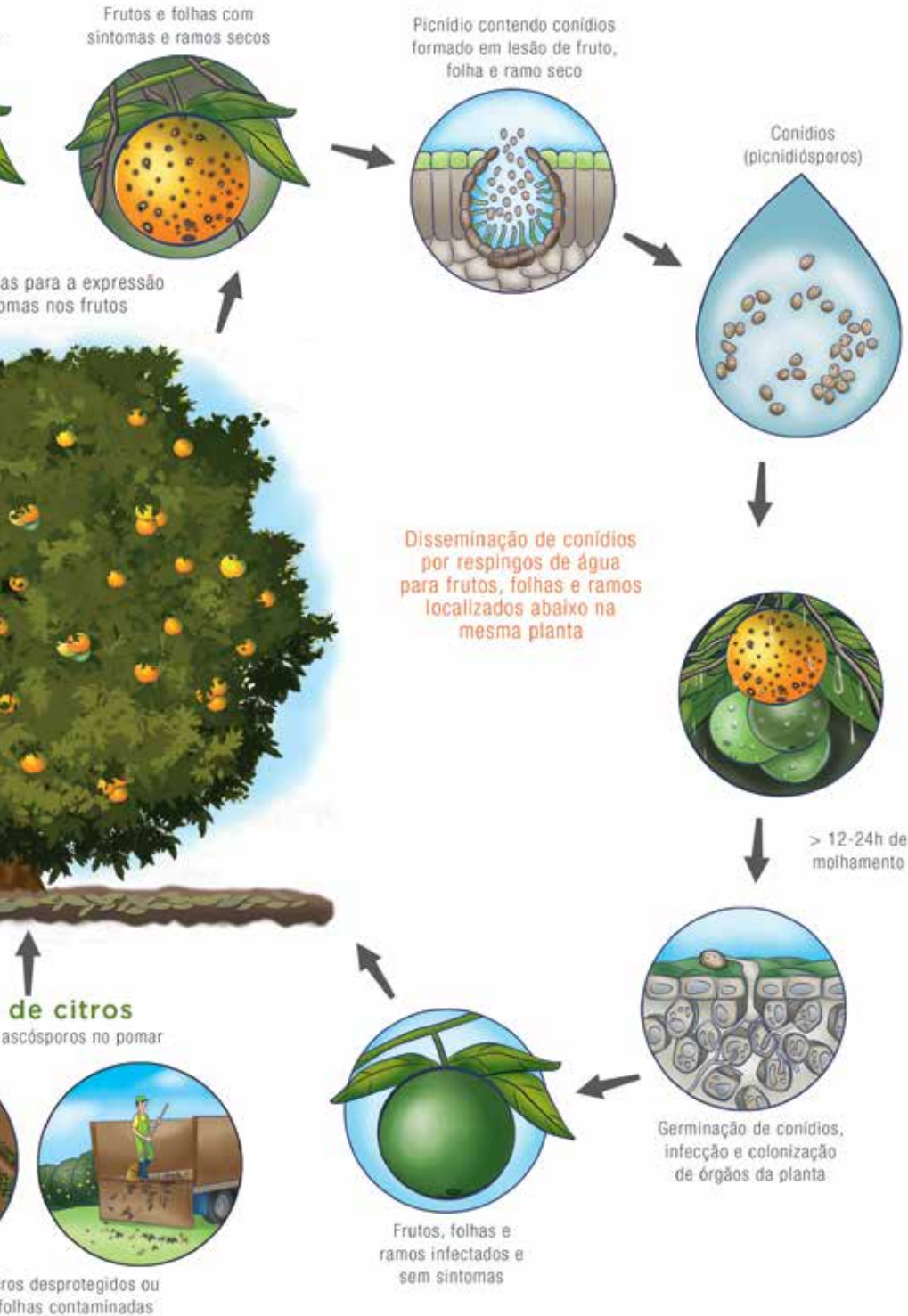


Figura 7.1 Ciclo da pinta preta dos citros.



7.1 Relações entre o fungo, a planta e o ambiente

7.1.1 Sobrevivência do inóculo

No ciclo de relações *P. citricarpa* – Citros, a fase de sobrevivência é responsável pela manutenção da viabilidade do inóculo na ausência de tecidos suscetíveis do hospedeiro. Tanto as folhas em decomposição, nas quais são produzidos pseudotécios com ascósporos, e picnídios com conídios, quanto os ramos secos, onde apenas picnídios são produzidos, funcionam como reservatórios do inóculo, garantindo a sobrevivência do patógeno. Os ascósporos são formados nas folhas em decomposição, em um processo que demora de 40 a 180 dias após a queda das folhas, dependendo das condições ambientais. Sua produção é favorecida pela alternância entre os períodos úmidos e secos, com ciclos de molhamento e secagem das folhas. Quando os pseudotécios estão maduros, com ascos e ascósporos formados, ocorre, na presença de água, a liberação ativa dos ascósporos que são ejetados de maneira forçada dos ascos a uma altura de, aproximadamente, 1 cm da folha. Os conídios são formados em picnídios, presentes em ramos secos e em folhas em decomposição, e são liberados passivamente pela água da chuva ou da irrigação.

O inóculo de *P. citricarpa* depende, portanto, de tecido cítrico infectado, ainda que morto, para garantir sua sobrevivência em uma determinada área. O patógeno não consegue sobreviver livremente no solo, nem em qualquer outro hospedeiro. Assim, no caso de plantio em área nunca antes ocupada por citros ou em área em que a cultura tenha sido erradicada (sem restos culturais), o inóculo virá necessariamente de plantas infectadas nas proximidades do talhão, ou de mudas já infectadas, ainda que assintomáticas. É comum que a detecção da doença em áreas indenidas ocorra próxima a replantes do talhão. Supostamente, o inóculo de origem dessas plantas são as folhas caídas das mudas infectadas e assintomáticas utilizadas no replante. Além das plantas infectadas nas proximidades do talhão ou de mudas infectadas, o patógeno pode ser introduzido na área por meio de veículos e equipamentos contendo folhas infectadas.

7.1.2 Disseminação do inóculo

O processo de disseminação pode ser dividido em três subprocessos: liberação, dispersão e deposição. A exemplo de outros ascomicetos, é provável também que os ascos maduros do fungo, quando em contato com a água, distendam-se, de modo que sua extremidade superior se alinhe ao ostíolo do pseudotécio por onde os ascósporos serão ejetados. O mecanismo ativo de ejeção parece ser promovido por diferenças de pressão osmótica entre o protoplasma do asco e o conteúdo do vacúolo onde se encontram os ascósporos. Com esse mecanismo, os ascósporos atingem distâncias pequenas, em torno de 1 cm da superfície da folha, mas suficientes para vencer as camadas estacionária e laminar da atmosfera, que exercem forças adesivas sobre a superfície. Já na camada

de turbulência, os ascósporos podem ser carregados a distâncias maiores, tanto vertical quanto horizontalmente, a partir da fonte, e serem depositados por impacto na superfície das plantas. Nos pomares em produção, com plantas de 3 m de altura, observa-se agregação de plantas sintomáticas em um raio de 25-35 m, aproximadamente. Essa distância de disseminação pode ser maior em pomares novos, devido ao menor tamanho das plantas que possibilita maior circulação do vento. Trabalhos desenvolvidos com a sarna da macieira, cujo patossistema assemelha-se ao da pinta preta, mostraram que a dispersão da maioria dos ascósporos de *Ventura inaequalis*, dentro do pomar, ocorreu em um raio de 20 m e que a quantidade de ascósporos disseminados foi reduzida em 99% a 6 m de distância da fonte. Em citros, a dispersão dos ascósporos de *P. citricarpa*, provavelmente está relacionada à arquitetura das plantas e ao arranjo destas no campo.

Os conídios, no interior dos picnídios, encontram-se envolvidos por uma substância mucilaginosa hidrossolúvel que os protege contra o ressecamento. Em função da mucilagem, os conídios dependem da presença da água para que sejam liberados dos picnídios. A água da chuva ou de irrigação por aspersão, responsável pela liberação dos conídios, também é o agente de dispersão e de deposição desses esporos em outras partes da planta ou em plantas vizinhas. Os conídios são disseminados no sentido descendente para outras partes da planta. Ramos secos e frutos com picnídios contribuem com a dispersão do inóculo a até 77 cm da fonte, quando colocados na copa das árvores. No entanto, quando esses ramos secos e frutos são depositados sobre o solo, sob a copa de plantas saudáveis, não são observados, posteriormente, sintomas da doença na copa das plantas.

7.1.3 Infecção e colonização

Os ascósporos aderem à superfície do tecido vegetal devido à presença de mucilagem nas suas extremidades. Na presença de água livre, por períodos superiores a 12-24 horas, os ascósporos germinam formando sequencialmente o tubo germinativo e o apressório. A penetração no tecido do hospedeiro é direta. Após a penetração, forma-se uma massa micelial na região subcuticular. O fungo permanece nesse estado quiescente, com período de incubação que varia de um mês a mais de um ano, dependendo da idade do fruto, da concentração de inóculo e das condições ambientais. Assim como os ascósporos, os conídios germinam na superfície de órgãos suscetíveis formando apressórios. O processo infeccioso de conídios ainda não foi esclarecido. Em frutos verdes, o fungo parece penetrar através de estômatos, sendo comum o aparecimento de sintomas de falsa melanose algumas semanas após a infecção. Esses sintomas resultam de reação da planta à infecção via estômato, havendo acúmulo de fenóis nas células-guarda e nas células que circundam a câmara subestomática. Não há registro de massa de micélio subcuticular após infecção conidial. Durante a colonização, o fungo desenvolve-se no epicarpo e no mesocarpo, causando lise de células que circundam as glândulas de óleo, hiperplasia celular e desarranjo do mesocarpo.

7.1.4 Reprodução do inóculo

Nos frutos, a reprodução do inóculo ocorre exclusivamente pela fase assexuada do patógeno formada em associação aos sintomas de mancha dura, mancha sardenta e mancha virulenta. A mancha dura e a mancha virulenta, em geral, ocorrem após o amadurecimento dos frutos, ainda na árvore, ao passo que a mancha sardenta ocorre usualmente após a colheita. A mancha sardenta também pode ocorrer nos frutos aderidos à planta, porém, normalmente esses frutos caem pouco tempo após a formação dos sintomas. O número de picnídios produzidos em cada lesão é variável, podendo haver lesões sem picnídios até lesões com várias dezenas de picnídios. Os conídios são formados logo após a maturação dos picnídios. O período de produção de conídios em manchas sardentas varia de 10 a 30 dias.

7.2 Progresso temporal e espacial da pinta preta

7.2.1 Progresso temporal da doença

Uma vez o patógeno introduzido no pomar, a incidência de plantas com sintomas de pinta preta pode evoluir bastante de um ano para outro. Na região central do estado de São Paulo, a incidência da doença passou de 11% das plantas, em 1999, para 23% no ano seguinte, atingindo 85% das plantas em 2001. A incidência de frutos com sintomas de pinta preta, normalmente, apresenta incremento no tempo de um mês para outro, durante a maturação dos frutos, bem como de um ano para outro.

Dentro de um mesmo ano, no estado de São Paulo, os sintomas começam a aparecer normalmente em março, com a expressão de lesões de falsa melanose ainda em frutos verdes, e vai aumentando à medida que o fruto amadurece e atingem o máximo de incidência e severidade na época da colheita. Entretanto, dependendo das condições climáticas e da intensidade de inóculo na região, a velocidade de progresso da incidência e severidade de pinta preta pode variar. Em 2008, a pinta preta se encontrava em diferentes intensidades em cinco regiões do estado de São Paulo, nos municípios de Barretos (Região Norte), Gavião Peixoto (Centro), Taquarituba (Sul), Pedranópolis (Noroeste) e Mogi Guaçu (Leste). No mês de maio, a doença ainda estava no início de expressão dos sintomas em Gavião Peixoto, Barretos, Pedranópolis e Taquarituba, enquanto em Mogi Guaçu, município localizado na região onde a pinta preta foi observada pela primeira vez no estado em 1992, a incidência da doença nos frutos já estava acima de 60%. Os valores mais elevados de incidência e severidade foram observados nos pomares de Mogi Guaçu e os menores em Pedranópolis e Taquarituba (Figura 7.2). Essa menor intensidade de doença pode estar associada à localização dos municípios de Pedranópolis e Taquarituba, distantes do principal foco da pinta preta no estado, na região de Mogi Guaçu. Contudo, apesar das diferenças constatadas na intensidade da doença, todas as regiões do estado de São Paulo avaliadas apresentaram condições para o estabelecimento e incremento da pinta preta.

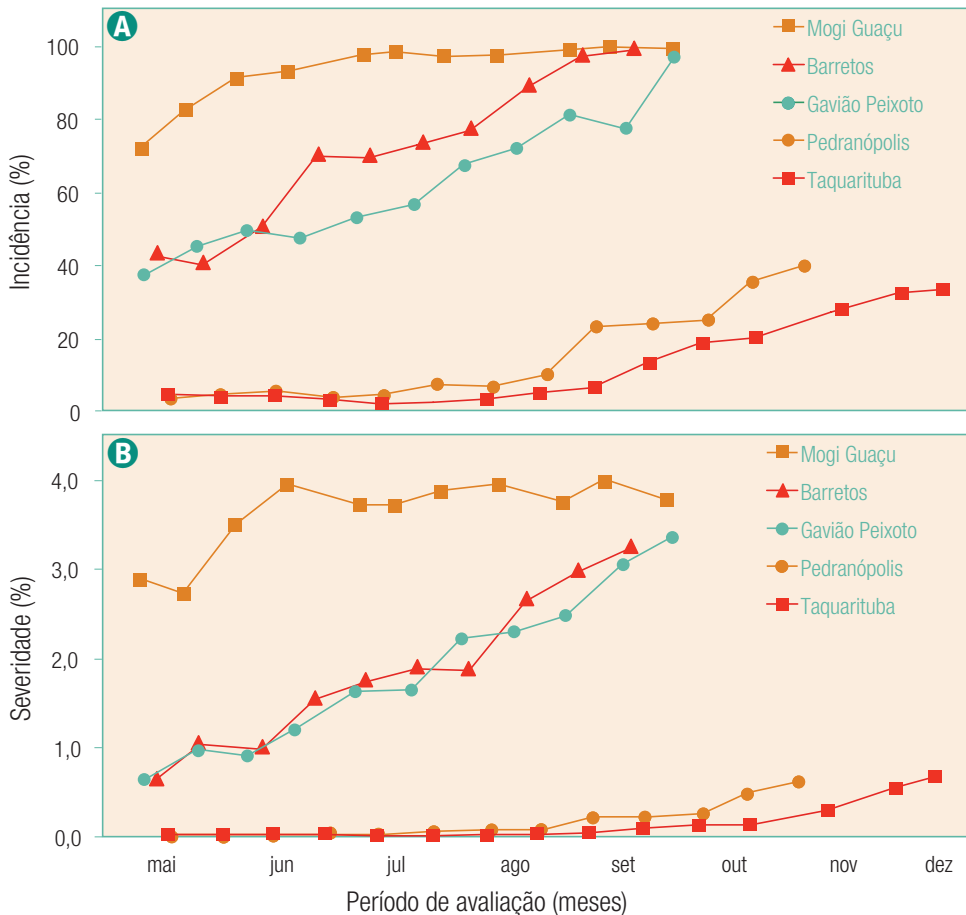


Figura 7.2 Progresso da incidência (A) e da severidade (B) da pinta preta em frutos de laranjeiras 'Valência', entre maio e dezembro de 2008, em pomares comerciais nos municípios de Mogi Guaçu, Barretos, Gavião Peixoto, Pedranópolis e Taquarituba, no estado de São Paulo. Fonte: Spósito *et al.* (dados não publicados).

Nas variedades de maturação tardia, as plantas já podem apresentar 90% dos frutos com pelo menos uma lesão no mês de junho e, até a colheita dessas variedades, a severidade continua aumentando. A severidade da doença na planta pode apresentar leve redução em setembro/outubro por causa da queda acentuada dos frutos severamente atacados, que não são incluídos na avaliação da doença nos frutos que ainda estão na copa da planta.

O progresso da incidência e da severidade da doença durante o período de maturação dos frutos pode ser estimado com o ajuste de modelos epidemiológicos tradicionalmente usados para esse fim, como os modelos monomolecular e logístico (Figura 7.3).

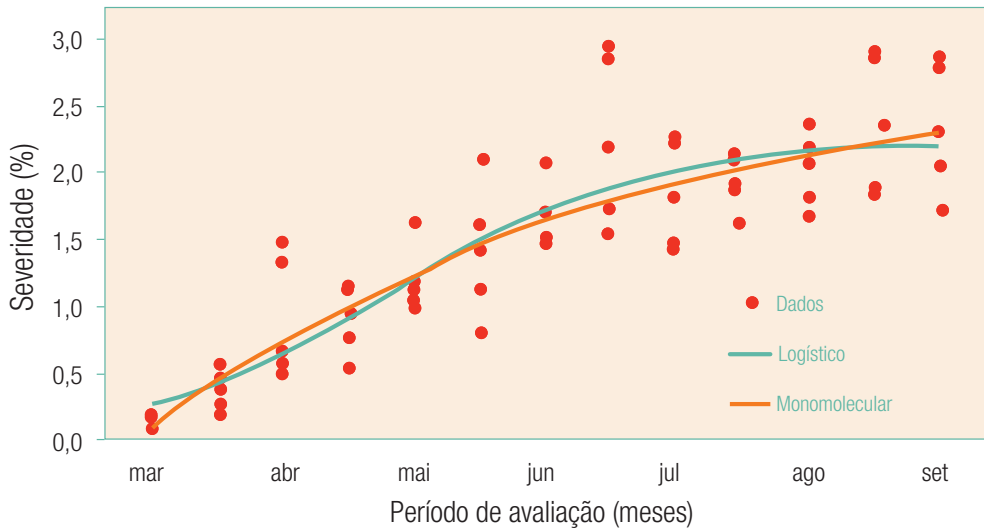


Figura 7.3 Curvas de progresso da severidade (% de área lesionada) da pinta preta em frutos de laranjeiras 'Valência', avaliadas de março até a colheita. Pontos representam os dados médios de 5 repetições de 4 plantas. Linha verde representa o ajuste ao modelo logístico [$y = 2,26 / (1 + ((2,26 - 0,30) / 0,30) * \exp(-0,04 * x))$], com R^2 de 0,77] e linha laranja o ajuste ao modelo monomolecular [$y = 2,88 - (2,88 - 0,04) * \exp(-0,01 * x)$], com R^2 de 0,77]. Spósito *et al.* (2004b).

Estimativas do progresso da pinta preta

a) Por meio do ajuste de modelos epidemiológicos:

Modelo monomolecular

$$[y = y_{\max} - (y_{\max} - y_0) * \exp(-r * x)]$$

Modelo logístico

$$[y = y_{\max} / (1 + ((y_{\max} - y_0) / y_0) * \exp(-r * x))],$$

onde y representa a incidência ou a severidade de pinta preta, y_{\max} representa a assíntota da curva, y_0 corresponde à intensidade da doença no tempo zero, e r à taxa de progresso da doença.

b) Por meio da área abaixo da curva de progresso da doença:

Quando não há ajuste dos modelos aos dados, a estimativa do progresso da incidência ou severidade da doença pode ser realizada por meio do cálculo da área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) ou da severidade (AACPS) da doença expressas pela equação:

$$\sum_i^{n-1} \left[\frac{(y_{i+1} + y_i)}{2} \right] * [t_{i+1} - t_i]$$

em que y_i = média de incidência ou severidade por unidade de tempo na i -ésima avaliação; t_i = tempo em (dias) na i -ésima avaliação e n = número total de avaliações.

Os valores de AACPI ou AACPS podem ser divididos pelo período total de avaliações (em dias) da primeira à última avaliação, para obtenção das áreas normalizadas.

7.2.2 Padrão espacial da doença em pomares

O padrão espacial de distribuição de plantas doentes pode ser correlacionado à dispersão de *P. citricarpa* e auxiliar na determinação da importância relativa de cada tipo de inóculo (ascósporos e conídios) para o incremento da doença no pomar. Os ascósporos são dispersos pelo vento e os conídios pela água. Dessa forma, caso as plantas que contenham frutos com sintomas estejam distribuídas ao acaso no pomar, os ascósporos teriam um papel fundamental na disseminação da doença, mas se as plantas sintomáticas estiverem agregadas, tanto ascósporos quanto conídios podem ser responsáveis pela infecção.

O padrão espacial de plantas com frutos sintomáticos de pinta preta em pomar adulto de laranjeira de maturação tardia é predominantemente agregado. O padrão de agregação vai aumentando com o passar dos anos, independentemente da incidência de plantas doentes. Portanto, a doença no campo apresenta focos, mais ou menos agregados, formados por plantas sintomáticas.

As plantas de 3 m de altura com a presença de pinta preta nos frutos mostram agregação em raios de até 35 m. Essa agregação pode estar relacionada a fatores que limitam a dispersão dos ascósporos, como a arquitetura e espaçamento das plantas, fatores esses que dificultam a circulação do vento. Com a observação de um padrão agregado de plantas doentes não se pode descartar a importância de conídios, que são disseminados exclusivamente por respingos de água e que podem contribuir para o progresso da doença (Figura 7.4).

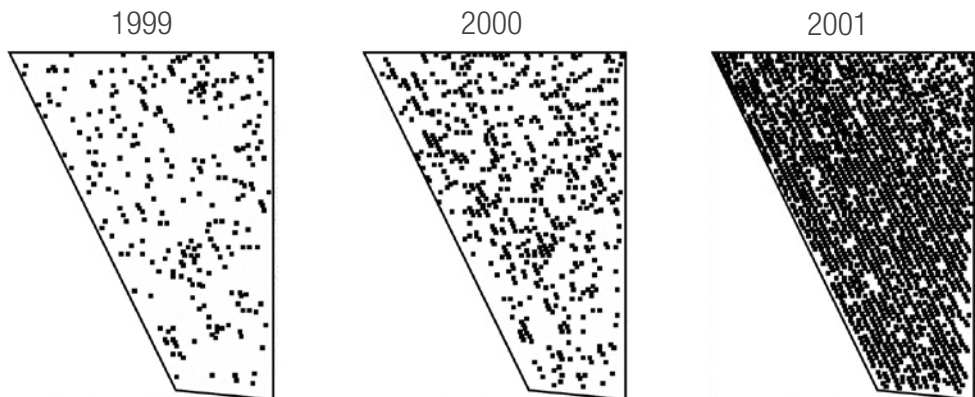


Figura 7.4 Distribuição espacial de laranjeiras 'Natal' apresentando frutos com pinta preta (pontos escuros), avaliadas em três anos consecutivos: 1999 (esquerda), 2000 (centro) e 2001 (direita), em Luis Antônio-SP. Os pontos em cinza referem-se às plantas saudias no pomar. Fonte: Spósito *et al.* (2007).

7.2.3 Padrão espacial da doença na planta

O padrão espacial da distribuição de plantas com frutos sintomáticos dentro de um pomar não mostra, de maneira conclusiva, a importância de ascósporos e conídios no incremento da doença. O papel de cada tipo de inóculo no progresso da pinta preta pode ser inferido por meio do padrão de distribuição dos frutos doentes na copa das árvores. Para a obtenção

desse padrão, é recomendável dividir a copa das árvores em 18 setores, sendo 9 em cada lado da planta, 6 setores no terço superior, 6 no terço mediano e 6 no inferior (Figura 7.5).

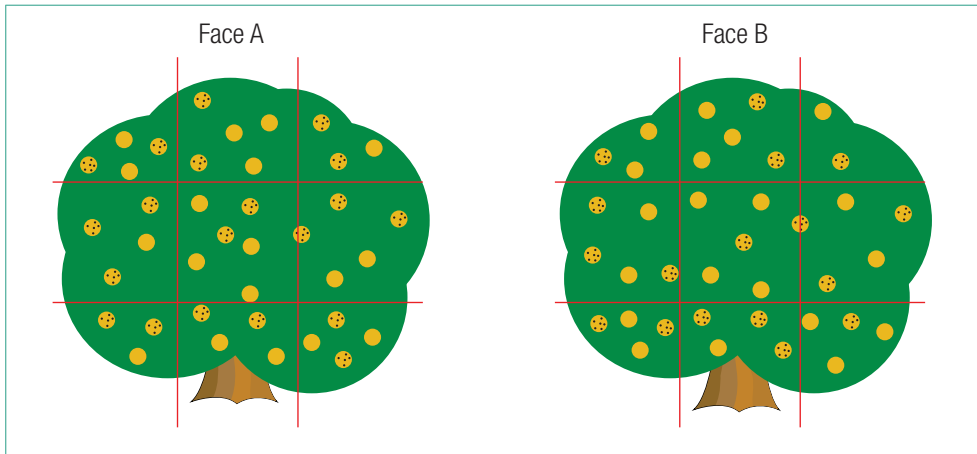


Figura 7.5 Esquema de avaliação, com 18 setores por planta (9 setores em cada face), para estudo de distribuição espacial de frutos com sintomas de pinta preta dos citros. Em cada setor pelo menos 5 frutos devem ser avaliados. Frutos sadios são indicados por círculos na cor laranja e frutos doentes por círculos na cor laranja com pontos pretos.

Em pomares comerciais de laranjeiras doces, a agregação de frutos doentes é constatada, em média, em 84% das plantas, em diferentes níveis de incidência da doença. A agregação de frutos doentes é superior a 75%. Isso indica que, na maioria das plantas, os frutos com pinta preta estão reunidos em uma determinada parte da copa. A presença de vários frutos doentes em um único ramo, rodeados por ramos com frutos sadios, é observada. Mesmo quando a incidência é muito baixa, por exemplo, 2,2% (dois frutos sintomáticos em uma planta), o padrão de distribuição dos frutos na copa pode ser agregado. O padrão de aleatoriedade pode ser observado em algumas plantas, porém essas normalmente apresentam esse comportamento em função de possuírem poucos frutos doentes, o que impossibilita qualquer medida de agregação. O nível de agregação bastante elevado encontrado para a pinta preta é comparável ao obtido para o crestamento foliar do morangueiro, causado por *Phomopsis obscurans*, que produz conídios tipicamente dispersos por gotas de água. A agregação dos frutos doentes na copa é indicativo de dispersão em curta distância, típica de esporos veiculados por água. Desse modo, a observação de frutos com pinta preta agrupados na copa da planta sugere que o inóculo responsável pelas infecções tenha sido disperso por água.

A localização dos frutos doentes dentro da planta também pode estar relacionada ao tipo de dispersão e ao tipo de inóculo. Ao analisar a pinta preta nos três terços da árvore (superior, mediano e inferior), uma menor incidência de frutos sintomáticos é observada no terço superior, comparada aos terços mediano e inferior (Tabela 7.1).

Tabela 7.1 Porcentagem de frutos com sintomas de pinta preta dos citros em diferentes setores de altura da copa das plantas, em seis pomares no estado de São Paulo.

Setor da planta	Incidência nos frutos (%) ^a					
	Pomar 1	Pomar 2	Pomar 3	Pomar 4	Pomar 5	Pomar 6
Terço superior	0,67 a	0,18 a	0,99 a	28,54 a	27,33 a	1,16 a
Terço mediano	4,53 b	6,85 b	7,42 b	60,04 b	52,25 b	14,16 b
Terço inferior	8,39 c	11,84 b	26,00 c	65,45 b	64,04 c	25,50 c

^aMédias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fonte: Spósito *et al.* (2008).

Em laranjeiras ‘Pera’ cultivadas no estado de São Paulo sem o controle químico da pinta preta, uma maior proporção de frutos doentes também é observada no terço inferior da planta, e em menor proporção no terço superior (Figura 7.6).

O inverso, isto é, a maior intensidade de sintomas de pinta preta no terço superior da copa, pode ocorrer em pomares mais velhos, com histórico da doença como severa nos anos anteriores, e cujas pulverizações para o controle da doença não tenham sido realizadas corretamente, não permitindo uma distribuição homogênea da calda em toda a copa da planta. Nesses pomares, o padrão de distribuição de frutos doentes na copa em geral é o oposto, pois a cobertura e deposição da calda no terço superior são insuficientes para o controle eficaz da pinta preta (Figura 7.7).

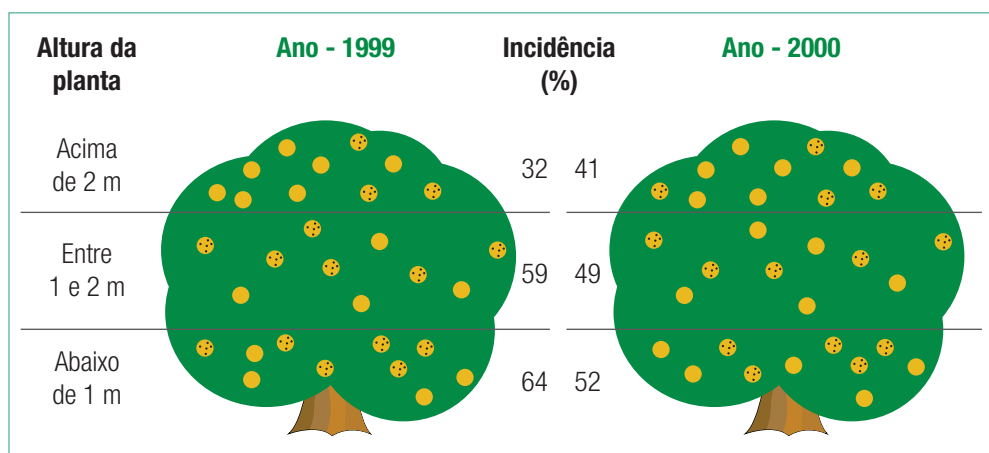


Figura 7.6 Incidência (%) de frutos com sintomas de pinta preta dos citros em diferentes setores de altura da copa das plantas (<1 m, entre 1 e 2 m e >2 m), em laranjeiras ‘Pera’, avaliadas por dois anos, em Cordeirópolis-SP. Fonte: Schinor *et al.* (2002b).

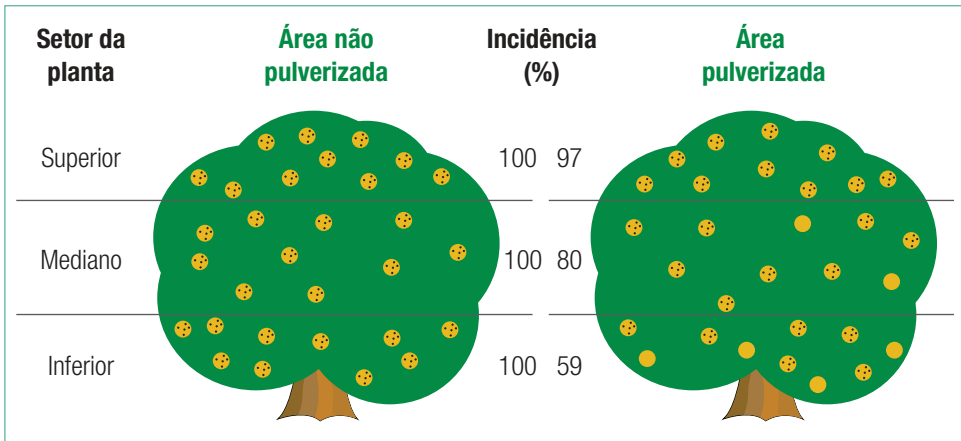


Figura 7.7 Incidência (%) de frutos com sintomas de pinta preta durante a colheita, nos setores inferior, mediano e superior, em plantas de laranjeiras 'Valência' velhas e severamente afetadas, não pulverizadas ou pulverizadas com alto volume de calda fungicida, em Mogi Guaçu-SP, em 2007. Fonte: Araújo *et al.* (2013).

O padrão de agregação de frutos com pinta preta não segue o mesmo de patógenos disseminados exclusivamente pelo vento. Isso mostra que o papel dos ascósporos pode ser menos importante que aquele dos conídios no incremento da doença dentro da planta. Essa desuniformidade na incidência da doença no plano vertical também sugere uma participação de esporos disseminados por água no progresso da doença. Conídios de *P. citricarpa* são produzidos em picnídios e envoltos por mucilagem. Em contato com a água, a mucilagem se dissolve e a suspensão conidial é dispersa juntamente com as gotas de chuva ou com o filme de água que escorre pelo fruto. Fungos que apresentam esporos envoltos por mucilagem são dispersos a curtas distâncias pela ação da água. Em condições naturais de disseminação, são raras as chances de os esporos atingirem mais de 1 m de distância da fonte de inóculo, sendo que a maioria é dispersa no sentido descendente da copa devido ao escorrimento do inóculo pela ação da gravidade. Como consequência, os órgãos doentes estão geralmente próximos uns aos outros e abaixo dos órgãos fontes de inóculo.

7.2.4 Importância das fontes de inóculo na introdução da doença em áreas livres

Há controvérsias sobre as formas de introdução da pinta preta em áreas livres. Em locais onde a doença ainda não foi relatada, e principalmente em vários países da União Europeia, alega-se que os frutos com sintomas importados pelos países-membros são potenciais fontes de inóculo. Por outro lado, observações de pomares onde a doença foi introduzida levam a crer que o inóculo foi disseminado via mudas ou folhas em decomposição, com posterior dispersão via ascósporos, e nunca por frutos com sintomas.

Em pomar de laranja doce sem ocorrência da pinta preta, o patógeno pode ser introduzido quando frutos maduros (com 10 ou mais lesões de mancha dura) ou ramos secos (com 30 cm de comprimento oriundos de plantas com pinta preta) são fixados às árvores saudáveis, durante a estação chuvosa, e servem como fontes de conídios (Figura 7.8).



Figura 7.8 Fontes de inóculo constituídas por conídios de *Phyllosticta citricarpa*, introduzidos em pomar de laranja 'Natal' e frutos doentes contaminados por essas fontes de inóculo: (A) fruto com lesões de mancha dura, fixado na planta sadia; (B) ramo seco, retirado de pomar com pinta preta, fixado na copa da planta sadia; (C-D) frutos doentes localizados abaixo do fruto e do ramo seco usados como fontes de inóculo, nove meses após a fixação dos frutos e ramos. Fonte: Spósito *et al.* (2011).

As incidências e as severidades da pinta preta são similares nas plantas inoculadas com fruto doente ou ramo seco contaminado (Figura 7.9). Entretanto, a deposição de frutos maduros com sintomas de mancha dura ao solo (sob a copa de plantas saudias) não resulta em introdução da doença no pomar.

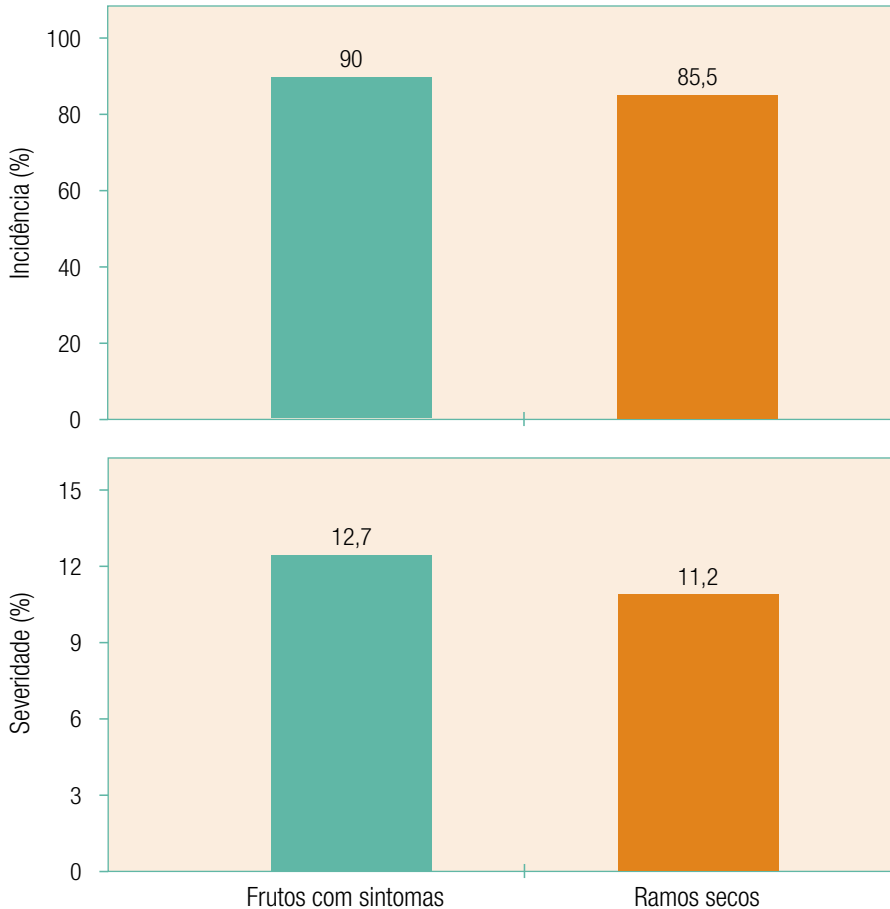


Figura 7.9 Incidência e severidade (%) da pinta preta em frutos de laranja 'Natal' em julho de 2006, após 9 meses da fixação na copa das plantas de frutos com sintomas de mancha dura ou ramos secos oriundos de áreas com a doença. As médias para a mesma variável não diferiram entre si (Tukey; $p > 0,01$). Fonte: Spósito *et al.* (2011).

Quando os frutos com sintomas de mancha dura são fixados na copa de plantas saudias, a doença é observada até 54 cm de distância do fruto doente, ao passo que para ramos fixados contaminados, os sintomas podem ser observados até 77 cm de distância da fonte de inóculo. Os sintomas não são observados acima dos frutos ou ramos fonte de inóculo fixados na copa das plantas (Figura 7.10).

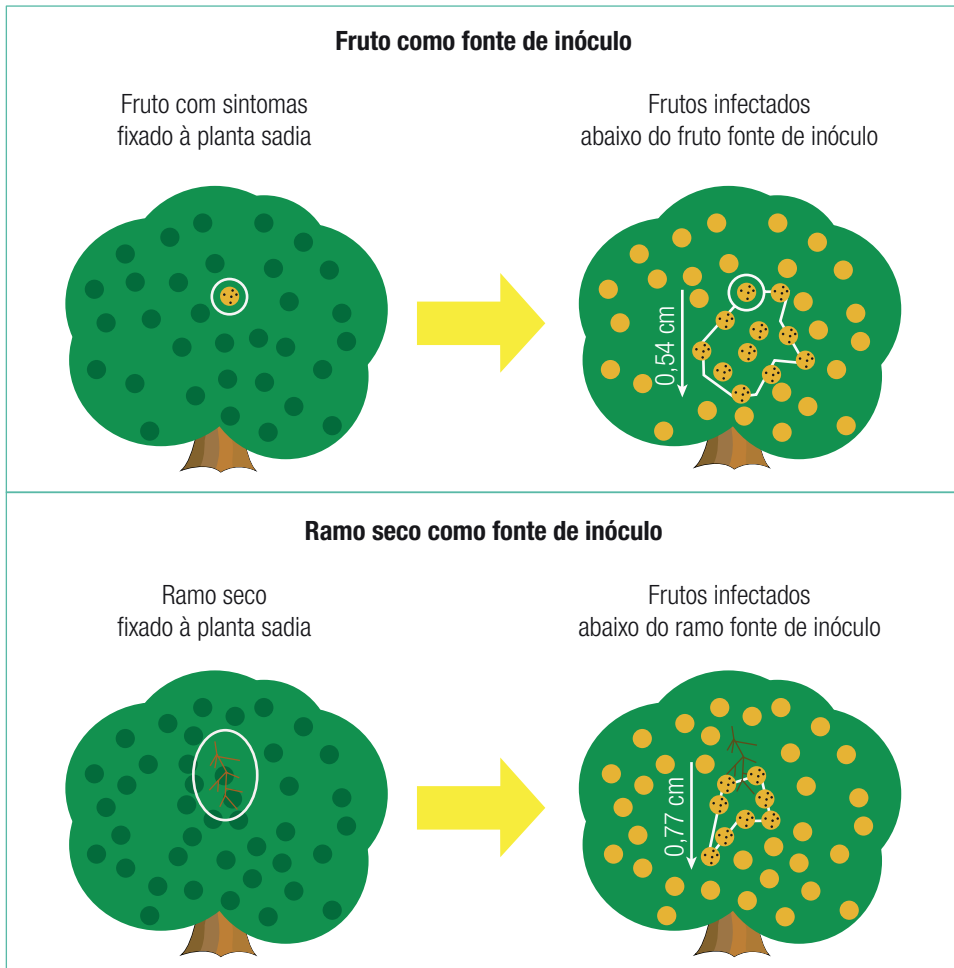


Figura 7.10 Distribuição de frutos com pinta preta na copa de laranjeiras 'Natal' em relação ao fruto com sintomas ou ramo seco fixado à planta sadia como fonte de inóculo. Polígonos indicam a distribuição de frutos doentes na copa a partir da fonte de inóculo, nove meses após a fixação dos frutos e ramos. Setas indicam o sentido e a distância máxima de ocorrência da doença na copa a partir da fonte de inóculo. Fonte: Spósito *et al.* (2011).

Os sintomas da pinta preta, em sua maioria, são formados nos frutos localizados até 30 cm de distância do fruto doente usado como fonte de inóculo fixado à copa. Para ramos secos contaminados, a maior concentração de frutos doentes também ocorre nos primeiros 30 cm de distância da fonte de inóculo (Figura 7.11). Frutos assintomáticos podem ser observados em distâncias superiores a 1 m da fonte de inóculo, tanto em plantas inoculadas com ramos contaminados ou com frutos sintomáticos fixados à copa.

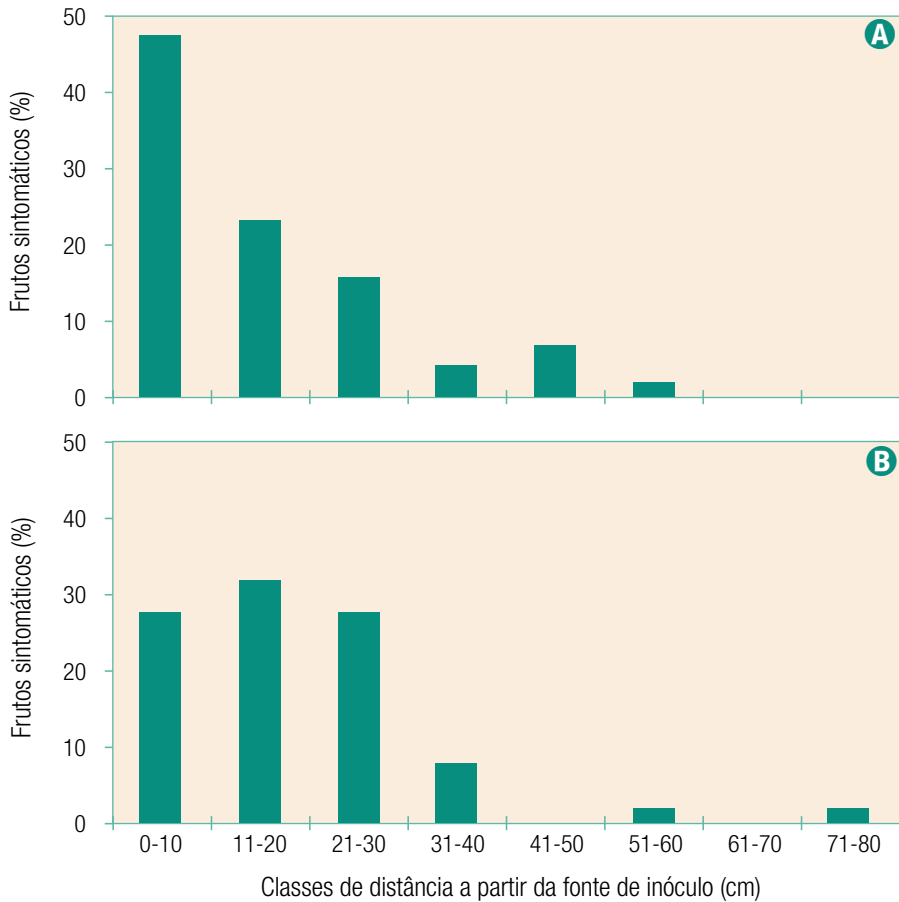


Figura 7.11 Gradiente de dispersão de frutos com pinta preta dos citros nas plantas que tiveram como fontes de inóculo fruto sintomático (A) ou ramo seco (B) fixados à copa há nove meses. As barras representam a frequência de frutos sintomáticos para cada distância (em cm) em relação à fonte de inóculo. Fonte: Spósito *et al.* (2011).

Em pomar de laranja doce sem a presença de pinta preta, normalmente não são observados sintomas em frutos após dois anos da adição de folhas de citros contaminadas sob a copa das plantas. Isso provavelmente está relacionado ao tipo de dispersão dos ascósporos e à quantidade de inóculo formado nas folhas. Em pomares sem a doença onde são replantadas mudas contaminadas, observa-se que a pinta preta começa a aparecer nas plantas vizinhas aos replantios somente após quatro anos. Entretanto, até o momento não se conhece o

Fontes de inóculo de pinta preta

Frutos sintomáticos e ramos secos doentes são fontes de inóculo importantes para o incremento da doença na planta, causando autoinfecção por conídios (esporos assexuais). Entretanto, a introdução da doença em áreas idêneas é feita por mudas infectadas ou por ascósporos (esporos sexuais) produzidos em folhas de citros em decomposição, nesse caso responsáveis pela aloinfecção.

tempo mínimo para o aparecimento de sintomas em pomares a partir da introdução de fonte de ascósporos. Diferentemente do que ocorreu com a introdução da fonte de ascósporos, fontes de conídios fixadas às plantas causaram infecções e sintomas de pinta preta nas próprias plantas inoculadas, e sempre em frutos localizados abaixo da fonte de inóculo, logo no primeiro ano.

7.2.5 Importância relativa dos inóculos no progresso da doença

A agregação de plantas doentes no pomar e de frutos doentes na planta é uma evidência de que os conídios são importantes para o incremento da severidade dos sintomas de pinta preta em pomares com condições climáticas similares às do estado de São Paulo.

Em pomar de laranja 'Valência', com 8 anos de idade, sem controle químico da pinta preta, a remoção e a queima de todas as folhas caídas no solo a cada 30 dias, juntamente com a colheita dos frutos doentes antes da formação dos novos frutos da safra seguinte, contribuiu para a redução da incidência inicial e progresso da doença nos frutos. Se as folhas em decomposição são mantidas no pomar, o início do aparecimento dos sintomas em frutos ocorre em época similar, independentemente da sobreposição ou não de frutos entre as safras. Entretanto, se as folhas em decomposição são removidas do pomar, os sintomas de pinta preta são observados mais tardiamente nas plantas em que os frutos são colhidos antes da próxima florada (Tabela 7.2).

Tabela 7.2 Incidência inicial de frutos com sintomas (y_0) e taxa de progresso da incidência (r) estimados para a pinta preta em laranja 'Valência' com ou sem remoção das folhas de citros em decomposição e com ou sem sobreposição de frutos de duas safras.

Tratamentos		Parâmetros estimados ^a	
Folhas caídas	Sobreposição de frutos	y_0	r
+	+	0,67 a	0,042 ab
	-	0,71 a	0,033 b
-	+	0,61 b	0,054 a
	-	0,53 c	0,032 b

^aParâmetros das equações de regressão não-linear estimados pelo modelo monomolecular [$y = y_{\max} - (y_{\max} - y_0) \exp(-r \cdot x)$]. Na coluna, valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si (Teste t; $p > 0,01$). Fonte: Spósito *et al.* (2011).

Importância da remoção de fontes de inóculo

Nos pomares paulistas, os frutos doentes mantidos na planta se constituem em importantes fontes de conídios, e as folhas caídas no solo em importantes fontes de ascósporos. Em áreas experimentais, verificou-se que a retirada por dois anos de folhas caídas e de frutos doentes não suprimiu a doença, mas promoveu reduções significativas na incidência inicial de frutos sintomáticos e na taxa de progresso da pinta preta. A maior redução da intensidade da doença foi obtida com a manutenção da retirada de folhas caídas e de frutos doentes nos anos seguintes. A não supressão da pinta preta no pomar pode estar relacionada com a presença de ramos secos nas plantas funcionando como fontes adicionais de produção de conídios. Portanto, a retirada de fontes de inóculo do patógeno, apesar de não eliminar a pinta preta do pomar, interrompe fases importantes do ciclo da doença, minimizando os prejuízos por ela causados.



8

Manejo da pinta preta

Medidas de manejo devem ser utilizadas antes e durante a formação dos pomares com o objetivo de evitar a introdução do patógeno em áreas livres e reduzir seu impacto em pomares onde ele já está presente. Entre as principais medidas de prevenção da entrada do patógeno (medidas de exclusão) estão: a regulamentação da produção, transporte e comercialização de mudas e frutos de citros, a utilização de mudas sadias em plantios e replantios, a eliminação de restos vegetais de veículos e equipamentos que entram nas áreas livres, bem como o controle do tráfego desses veículos e equipamentos na propriedade. Quando a doença já se encontra presente no pomar, recomenda-se o uso racional do controle químico com fungicidas, a remoção das folhas caídas ao solo ou a adoção de práticas que acelerem a sua decomposição, a poda dos ramos secos das plantas, a colheita antecipada dos frutos doentes, e o uso de irrigação por gotejamento.

8.1 Medidas de exclusão

As medidas de exclusão devem ser adotadas para prevenir a introdução do patógeno em áreas onde a doença ainda não está presente.

8.1.1 Medidas quarentenárias

Medidas estabelecidas por legislações fitossanitárias promulgadas por órgãos governamentais nacionais ou internacionais. A legislação fitossanitária brasileira estipula que a importação de vegetais ou partes de vegetais somente é permitida em portos de desembarque ou em estações de fronteira dotadas de serviço de defesa fitossanitária, mediante documentação de trânsito atestando que os materiais introduzidos são isentos de doenças e pragas prejudiciais às plantas e produtos vegetais.

A legislação federal pode ser ampliada ou complementada com medidas legais de âmbito estadual, como a legislação do estado de São Paulo, que proíbe a produção de mudas de citros em viveiros desprotegidos. As medidas quarentenárias são importantes, uma vez que *P. citricarpa* é considerada praga quarentenária A2 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil, pois está presente no país, mas ainda não está amplamente distribuída. A Instrução Normativa nº 1 de 05/01/2009 do MAPA permite o transporte e o comércio interno no país de frutos com lesões de pinta preta, inclusive para Unidades da Federação que ainda não tenham a doença, desde que os frutos sejam transportados e comercializados isentos de folhas e ramos e que a unidade de produção (UP) dos frutos esteja cadastrada em programa oficial de manejo de risco da doença. Na Comunidade Europeia, esse patógeno é considerado praga quarentenária A1, por não estar presente nas áreas de cultivo de citros dos países-membros. Detalhes sobre a legislação quarentenária encontram-se no capítulo 9 “Procedimentos para exportação”.

8.1.2 Plantio de mudas sadias

A aquisição de mudas para plantio ou replantio deve ser feita de viveiros protegidos e certificados ou de locais onde a doença não esteja presente (Figura 8.1). Essa medida é importante, uma vez que os sintomas da doença, em geral, não são observados em folhas infectadas de mudas de citros, principalmente de laranjeiras doces e tangerineiras, o que impossibilita o produtor saber se a muda está ou não infectada pelo patógeno, pela simples análise visual das plantas. Depois de plantadas, mudas com folhas contaminadas e assintomáticas crescem e perdem periodicamente suas folhas, as quais, ao se decompor, produzem os ascósporos do fungo que vão disseminar a doença dentro da propriedade (para mais detalhes, veja a Figura 7.1 “Ciclo da doença”). No estado de São Paulo, a principal via de disseminação e introdução da doença nos pomares foi o transporte e o plantio de mudas de citros contaminadas produzidas em viveiros desprotegidos. De 1993, ano do primeiro relato da doença nos pomares paulistas, até 2000, as mudas comercializadas, em sua maioria, eram produzidas em viveiros desprotegidos localizados em regiões com a presença do fungo. Entre 2000 e 2003, houve a transição no processo de produção que culminou na obrigatoriedade da produção de “cavalinhos” (porta-enxertos) e mudas em sementeiras e viveiros protegidos no estado de São Paulo, o que provavelmente contribuiu muito para a redução da possibilidade de a doença ser dispersa via muda para diferentes áreas citrícolas do Brasil, incluindo municípios do estado de São Paulo. Portanto, conhecer a procedência e a sanidade da muda é primordial para evitar a introdução da doença na propriedade.



Fotos: Geraldo J. Silva Jr.

Figura 8.1 Produção de mudas em viveiros protegidos e certificados no estado de São Paulo. A cobertura com filme plástico e a irrigação por gotejo das mudas evitam a presença de água livre nas folhas necessária para a germinação dos esporos de *Phyllosticta citricarpa*.

8.1.3 Controle do tráfego de veículos e equipamentos

Uma boa alternativa para se evitar a entrada de veículos externos nas áreas de produção, durante a época da colheita, é a construção de *bins* próximos à saída da propriedade, onde os frutos colhidos são armazenados para posterior transporte ao seu destino (Figura 8.2A-B). Além dos caminhões de colheita, outros equipamentos e materiais utilizados dentro da propriedade também podem transportar folhas de um talhão com a presença da doença, disseminando-a para outros mais distantes que ainda estão livres da pinta preta.

8.1.4 Remoção de material vegetal de veículos que entram na propriedade

Caminhões usados na colheita e no transporte de frutos cítricos frequentemente trafegam entre diferentes propriedades, podendo levar em sua carroceria folhas e fragmentos de pedúnculos. Esses restos vegetais, caso infectados, podem introduzir a pinta preta. Portanto, recomenda-se retirar e queimar todos os restos vegetais das carrocerias e de qualquer veículo que adentrar a propriedade (Figura 8.2C-D).



Fotos: William A. Ferreira (A, C, D) e Henrique Santos (B)

Figura 8.2 Bins construídos fora ou na saída da propriedade para reduzir o trânsito de caminhões nas áreas de produção (A-B). Folhas e restos vegetais transportados juntamente com frutos e depositadas no bin (C). Remoção de folhas ou restos vegetais de citros da carroceria de caminhão antes de sua entrada na propriedade (D).

8.2 Controle cultural

O controle cultural, quando associado ao controle químico, auxilia no manejo da pinta preta em áreas onde há histórico de ocorrência da doença. Algumas práticas culturais têm sido utilizadas, principalmente, para evitar ou minimizar a sobrevivência e a disseminação dos dois tipos de inóculo do patógeno, os esporos sexuais (ascósporos) e os esporos assexuais (conídios). As principais medidas culturais adotadas são: cobertura ou remoção das folhas de citros caídas no solo, colheita antecipada e remoção de frutos temporãos, poda de ramos secos, manejo da irrigação e uso de quebra-ventos.

8.2.1 Cobertura ou remoção das folhas de citros caídas

Um dos equipamentos mais utilizados em pomares de citros tem sido a roçadeira ecológica. A finalidade desse equipamento é realizar o manejo da vegetação da entrelinha das plantas, também conhecido como “manejo do mato”, de modo a cortar a vegetação existente na entrelinha e direcioná-la para debaixo da copa das plantas de

citros (Figura 8.3). Com a adoção dessa estratégia de manejo, há redução da liberação dos ascósporos do fungo produzidos nas folhas infectadas em decomposição, devido à barreira física formada sobre essas folhas pelo mato cortado (cobertura morta), evitando que os ascósporos ejetados dos pseudotécios ganhem a atmosfera e sejam depois carregados pelo vento. Além disso, a decomposição das folhas de citros é acelerada e, conseqüentemente, a produção de esporos é reduzida.



Figura 8.3 Roçadeira ecológica utilizada para cortar a vegetação existente na entrelinha e direcioná-la para debaixo da copa das plantas de citros (A-B). Vegetação logo após a roçada (C) e em decomposição sob a copa das plantas (D).

A redução do inóculo pode ser obtida com a vegetação natural da entrelinha dos pomares ou com o plantio de culturas intercalares. Esse plantio, nas condições do estado de São Paulo, que tem o período chuvoso concentrado entre os meses de setembro a abril, deve ser realizado entre fevereiro e abril e as roçadas realizadas desde julho até março/abril. Entretanto, no caso do uso de vegetação natural, a quantidade de massa produzida pela vegetação na primeira roçada (julho) pode não ser suficiente para cobrir uniformemente as folhas de citros caídas. Conseqüentemente, a eficiência na redução da produção e dispersão dos ascósporos nas folhas caídas será menor. Para obtenção de volume de massa adequado em julho, recomenda-se o plantio de culturas intercalares, tais como aveia preta ou nabo forrageiro, entre fevereiro e abril (Tabela 8.1).

Tabela 8.1 Massas verde e seca de diferentes vegetações intercalares coletadas sob as copas de laranjeiras 'Pera' antes e após a roçada, realizada em julho de 2007, em pomar localizado no município de Mogi Mirim-SP.

Vegetação intercalar	Antes da roçada		Após a roçada	
	Massa verde (g/m ²) ^a	Massa seca (g/m ²) ^a	Massa verde (g/m ²) ^a	Massa seca (g/m ²) ^a
Aveia preta	1.269 a	243 a	2.741 a	791 a
Nabo forrageiro	1.261 a	194 a	1.700 a	327 b
Vegetação natural	563 b	102 b	259 b	112 b

^aMédias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fonte: Rossêto (2009).

O capim *coast-cross* e o amendoim forrageiro plantados nas entrelinhas, em fevereiro, em comparação com a vegetação natural na entrelinha, contribuíram para a redução na liberação de ascósporos de *P. citricarpa*. O maior número de ascósporos foi encontrado na área de vegetação natural, e o menor, na área com o capim *coast-cross* (Tabela 8.2). A maior quantidade de ascósporos detectada na área com o amendoim forrageiro em comparação com a área com o capim *coast-cross* pode estar associada ao crescimento inicial mais lento do amendoim forrageiro, resultando na menor produção de estolões, galhos e folhas, bem como na menor produção de massa verde (10 toneladas/ha) quando comparado ao *coast-cross* (20 toneladas/ha). A redução na produção dos ascósporos pelos cultivos intercalares está associada à menor intensidade da pinta preta nos frutos, pois mais frutos comercializáveis (com até três lesões por fruto) são obtidos nos tratamentos com os cultivos intercalares em comparação com o tratamento com a vegetação natural (Tabela 8.2).

Tabela 8.2 Média semanal de ascósporos de *Phyllosticta citricarpa* coletados nas armadilhas caça esporos de setembro a abril e porcentagem de frutos comercializáveis em pomar de laranjeiras 'Natal', em Rio Claro-SP.

Vegetação intercalar	Nº de ascósporos por semana ^a	Frutos comercializáveis (%) ^{a, b}
Capim <i>coast-cross</i>	3,2 a	91,1 a
Amendoim forrageiro	8,6 ab	91,0 a
Vegetação natural	14,4 b	77,3 b

^aMédias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey; $p>0,05$). ^bFrutos comercializáveis referem-se a frutos com até 3 lesões de pinta preta. Fonte: Bellotte *et al.* (2013).

A roçadeira ecológica, comparada à convencional, é mais eficiente na redução da incidência da pinta preta, independentemente da vegetação intercalar (Figura 8.4). Essa vegetação intercalar pode ser o nabo forrageiro (15 kg/ha) ou a aveia preta (70 kg/ha) plantados em abril, e roçados em julho e dezembro do mesmo ano e fevereiro do ano seguinte. A utilização dessa estratégia de controle cultural com as roçadas ecológicas apresenta melhores resultados quando associada com aplicações de fungicidas.

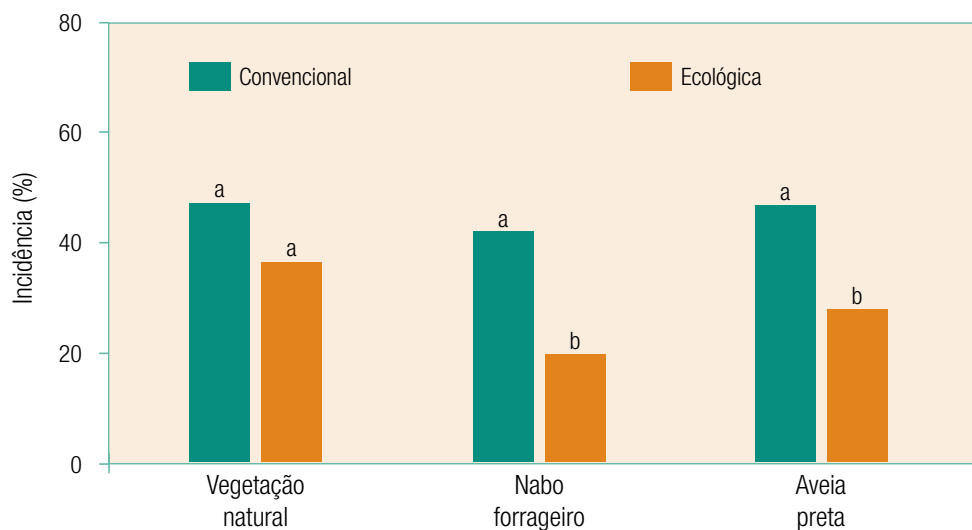


Figura 8.4 Incidência (%) da pinta preta dos citros em frutos de laranjeiras 'Pera' em áreas com vegetação natural ou plantio de nabo forrageiro ou aveia preta nas entrelinhas, submetidas a tratamentos com roçadeira ecológica ou convencional, em conjunto com quatro aplicações de fungicidas, em Mogi Mirim-SP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey; $p>0,05$). Fonte: Rossêto (2009).

Nas áreas com vegetação natural na entrelinha, a redução da produção e liberação de ascósporos também pode ser realizada com o uso de rastelo mecânico conjugado a uma trincha. É possível acoplar na parte frontal do trator um rastelo composto por hastes de borracha, cuja finalidade é remover as folhas de citros em decomposição sob a copa das plantas e direcioná-las para a entrelinha de plantio. Na traseira do trator é acoplada uma trincha com triturador rotativo de eixo horizontal (Figura 8.5A), que visa triturar essas folhas de citros direcionadas para a entrelinha, reduzindo a produção e liberação dos ascósporos. Além desse equipamento, existe o sugador (Figura 8.5B) e o rastelador (Figura 8.5C-E).



Figura 8.5 Rastelo mecânico na parte frontal do trator para remover as folhas de citros caídas e trincha na parte traseira para triturar as folhas e acelerar sua decomposição (A), sugador (B) e rastelador mecânico de folhas (C-E).

A utilização do rastelo com a trincha apresenta eficácia superior ou similar à roçadeira ecológica na redução do progresso da incidência e da severidade da pinta preta (Figura 8.6). Assim como a roçadeira ecológica, ele normalmente é utilizado em conjunto com o controle químico. A eficiência desse equipamento pode ser superior à da roçadeira ecológica quando usadas no mês de julho, época em que a maioria dos pomares paulistas ainda não apresenta quantidade ideal de vegetação intercalar natural a ser cortada e direcionada para debaixo da copa das plantas de citros com o uso da roçadeira ecológica. Entre os equipamentos utilizados para remover ou cobrir folhas caídas, a roçadeira ecológica tem sido a mais utilizada em pomares paulistas devido a sua praticidade.

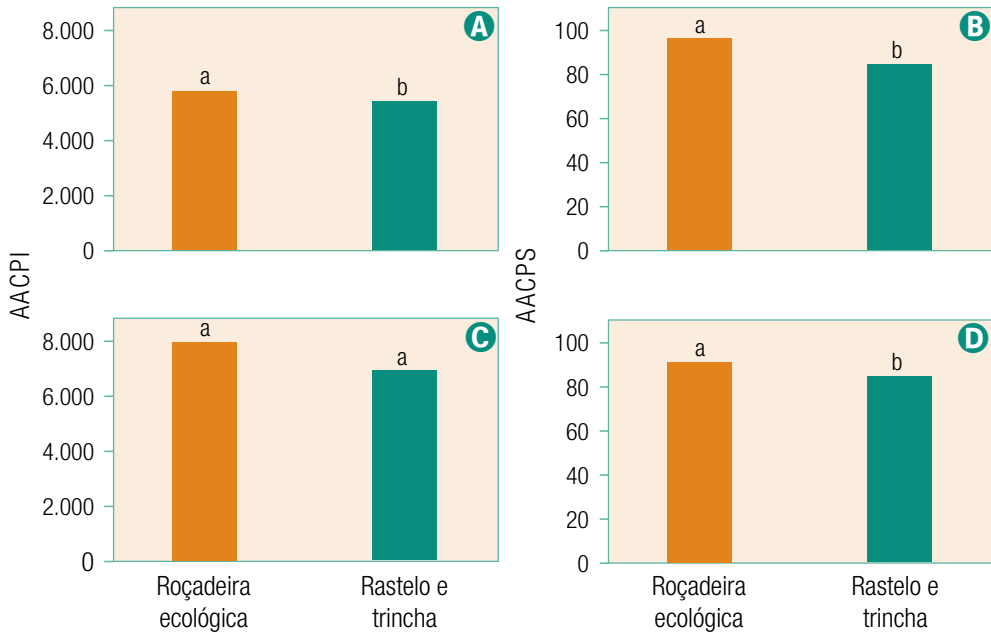


Figura 8.6 Áreas abaixo das curvas de progresso de incidência (AACPI) e de severidade (AACPS) da pinta preta nos frutos de laranjeiras 'Natal' em Matão-SP (A e B) e Mogi Guaçu-SP (C e D), em pomares submetidos a tratamentos com roçadeira ecológica ou rastelo e trincha, associadas com seis aplicações de fungicidas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fonte: Scaloppi *et al.* (2012).

A eficiência da roçadeira ecológica no manejo da pinta preta depende da quantidade de vegetação na entrelinha do pomar, da frequência de roçadas e da relação entre a área de entrelinha e área sob a copa das plantas. Apenas uma ou duas roçadas, com início tardio (dezembro/janeiro), não são eficientes na redução da intensidade da doença nos frutos de laranjeiras doces e limoeiros verdadeiros. Em pomares adultos de limoeiro verdadeiro, nos quais a área sob a copa das plantas é maior que a área com vegetação na entrelinha, e onde há queda acentuada de folhas, a roçada em época com pouca vegetação pode ser insuficiente para cobrir as folhas caídas, bem como reduzir eficientemente a liberação e dispersão dos ascósporos.

Importância da roçada ecológica

Em pomares velhos e com acúmulo de inóculo na copa, o efeito da roçada ecológica no manejo da pinta preta pode se tornar menos evidente, uma vez que os conídios formados em ramos secos e frutos sintomáticos passam a ser os principais responsáveis pelo incremento da pinta preta na copa dessas plantas. No entanto, a cobertura das folhas caídas pela vegetação cortada da entrelinha das plantas (cobertura morta), mesmo em pomares velhos, contribui para reduzir a dispersão dos ascósporos desses pomares para áreas vizinhas que podem ainda estar livres da doença. Em contrapartida, em pomares novos onde a pinta preta ainda não está presente na maioria das plantas, a roçadeira ecológica, quando utilizada em épocas com elevada quantidade de massa verde, é uma boa estratégia para reduzir a disseminação da doença na área.

8.2.2 Antecipação da colheita e remoção de frutos temporãos

Os frutos com lesões de mancha dura, sardenta ou virulenta podem servir de fonte de inóculo, pois nessas lesões são formados os picnídios contendo os esporos do fungo (conídios) que são disseminados por respingos de água para outros tecidos da planta. Portanto, a antecipação da colheita (Figura 8.7A-C) e a remoção de frutos temporãos reduzem a possibilidade da ocorrência desse tipo de disseminação, pois eliminam a coexistência de frutos maduros com sintomas e sinais (picnídios e conídios) e frutos jovens sadios na mesma planta, que pode apresentar mais de um florescimento por safra (Figura 8.7D).



Fotos: Eduardo Fachinmerger (A), Geraldo J. Silva Jr. (B-C) e Mario F. Moraes (D)

Figura 8.7 Frutos de laranjeiras doces com sintomas de pinta preta colhidos antecipadamente em pomares onde o controle da doença não foi realizado com sucesso (A-C). Frutos em fase final de crescimento, frutos em fase inicial e flores em uma mesma planta (D).

Em pomares de laranjeiras doces de maturação tardia, a antecipação da colheita para outubro reduziu a queda de frutos quando comparada à colheita nos meses de novembro e janeiro, independentemente do tratamento químico com fungicidas (Figura 8.8).

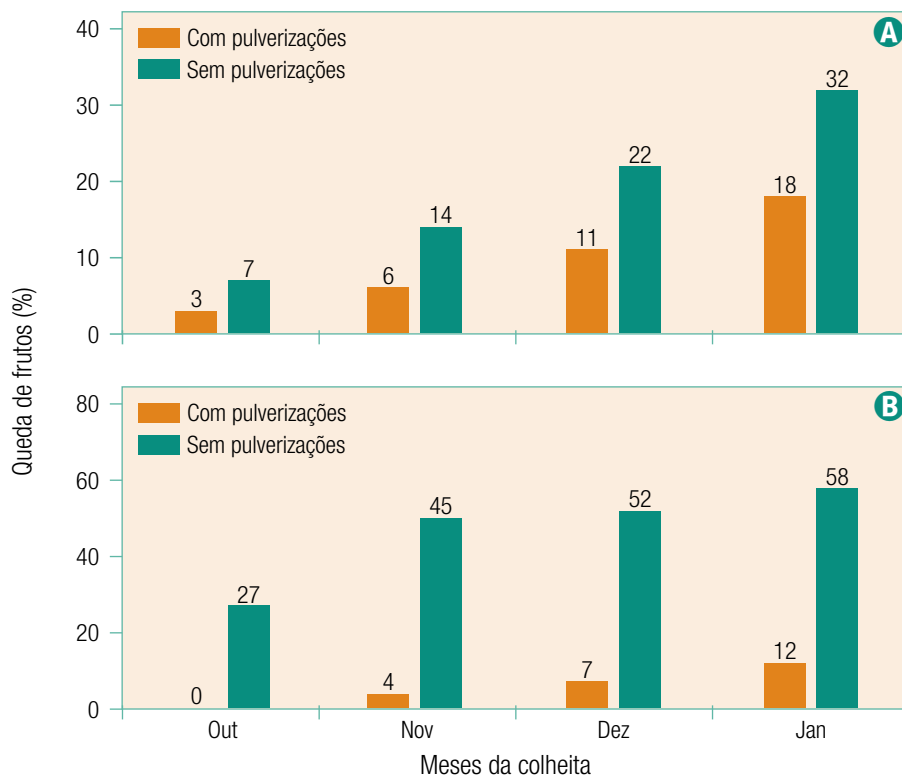


Figura 8.8 Queda prematura de frutos (%) em diferentes épocas de colheita, em laranjeiras 'Valência' tratadas ou não com fungicidas para o controle de pinta preta, em Tambaú-SP (A) e Mogi Guaçu-SP (B). Fonte: Silva (2013a,b).

A eficiência da colheita antecipada em geral é maior em pomares que apresentam alta intensidade da doença, principalmente em variedades de maturação tardia. Além da redução de inóculo, a colheita antecipada pode também contribuir para a diminuição da queda prematura dos frutos. Essa prática auxilia a reduzir a doença no pomar, entretanto, deve-se levar em consideração que os frutos colhidos antecipadamente tendem a ter uma quantidade de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) menor do que de frutos colhidos em pleno estágio de maturação da variedade.

8.2.3 Poda de ramos secos

Na cultura dos citros existem diferentes tipos de poda, tais como: poda de limpeza, de redução de copa e de condução e formação. A poda mais importante no manejo da pinta preta é a de limpeza, que visa a retirada de ramos secos (Figura 8.9), ramos atacados por doenças e pragas, e também ramos verdes internos na copa que não tenham condição de produzir frutos (“ramo ladrão”). Essa poda de limpeza melhora a aeração interna da planta, reduz o período de molhamento dos tecidos, dificulta novas infecções pelo patógeno, e facilita os tratamentos fitossanitários, principalmente por favorecer a penetração de fungicidas na parte interna da copa. A poda de limpeza está relacionada com dois dos princípios gerais de controle de doenças de plantas: a erradicação (eliminando os ramos que são fontes de inóculo) e a regulação (alterando o microclima da planta), que estão associados não só ao controle da pinta preta, mas também de outras doenças dos citros, tais como a melanose (*Diaporthe citri*), a rubelose (*Erythricium salmonicolor*) e a mancha marrom de alternaria (*Alternaria alternata*).

Custo da poda de ramos secos

A poda de ramos secos apresenta alto custo, uma vez que seu rendimento é baixo e dependente da capacidade do podador. Para a realização dessa operação são necessárias de 70 a 110 horas/homem/ha, dependendo da quantidade de ramos secos e da altura das árvores, com um custo estimado de US\$ 2,80 a hora/homem e custo total de US\$ 200,00 a 300,00/ha (taxa de conversão de US\$ 1,00 = R\$ 2,30). Esse custo é similar ao custo do controle químico e, portanto, a operação deve ser realizada no momento correto para que a doença seja reduzida de maneira eficiente. Em pomares cuja produção será destinada ao comércio de frutas frescas, no qual o valor da fruta é depreciado pela doença, a poda pode ser uma estratégia com bom custo-benefício.



Figura 8.9 Frutos severamente afetados pela pinta preta abaixo de ramos secos (A) e poda de ramos secos em laranjeiras doces (B-D).

Os ramos secos, assim como os frutos com lesões dos tipos mancha dura, sardenta e virulenta, são importantes fontes de produção de conídios nas condições de clima do Brasil, e particularmente do estado de São Paulo. Entretanto, diferentemente dos frutos que são colhidos em cada safra, reduzindo a fonte de inóculo, nos ramos a produção de conídios parece não ser interrompida. Não há relatos de produção de conídios em ramos verdes da planta.

Diferentes trabalhos já foram realizados no Brasil com o objetivo de comprovar o efeito da poda de limpeza no controle da pinta preta. Contudo, os resultados dessa estratégia, em geral, não são observados logo no primeiro ano, pois ao realizá-la, alguns frutos já podem ter sido infectados, os quais terão a expressão de sintomas acelerada pelo fato de a poda permitir maior entrada da radiação solar na copa das plantas. Portanto, se a remoção dos ramos for realizada em uma safra, o seu efeito poderá ser mais bem visualizado apenas nos frutos a serem colhidos na safra seguinte. É recomendável que a poda seja feita no período que antecede o florescimento ou no início da frutificação, que normalmente coincide com o início do período chuvoso nas condições do sudeste do Brasil.

A poda de ramos secos reduz principalmente as lesões de falsa melanose nos frutos, sugerindo que esses sintomas estejam associados às infecções provocadas por conídios do fungo. As plantas com ramos secos podados em junho apresentaram, em novembro do ano seguinte, incidência de 44% de frutos com falsa melanose. Por outro lado, as não podadas apresentaram, na mesma época, 100% dos frutos com esse sintoma (Figura 8.10A). Onde houve poda mais da metade dos frutos doentes apresentaram severidade de até 15%, enquanto que nas plantas não podadas a severidade de todos os frutos doentes foi igual ou superior a 15% de área lesionada da casca. A queda de frutos de agosto a novembro nas plantas podadas foi de 8,4%, inferior aos 18,6% de queda de frutos em plantas não podadas (Figura 8.10B).

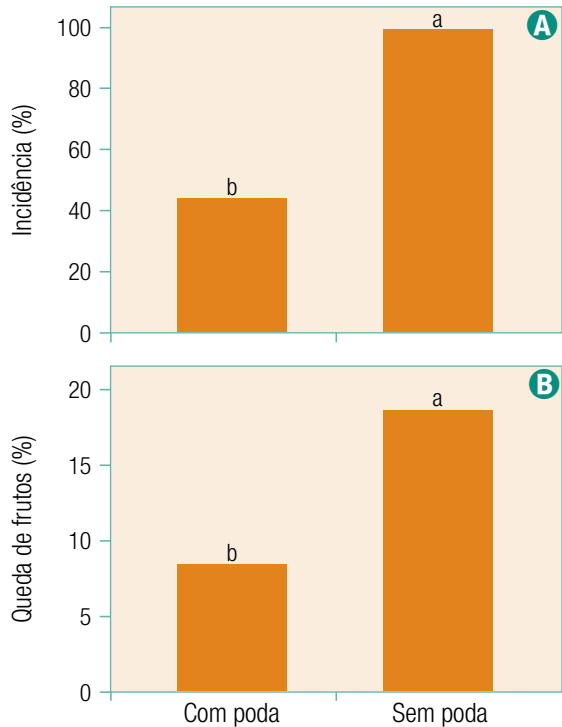


Figura 8.10 Incidência (%) de frutos com sintomas de falsa melanose (A) e queda prematura de frutos (%) de agosto a novembro (B) em laranjeiras 'Natal' com ou sem poda de ramos secos em Tambaú-SP. Médias significativamente diferentes (Teste t , $p < 0,05$). Fonte: Nozaki, 2007.

Em diferentes pomares, a poda de ramos secos associada à remoção das folhas caídas no solo e ao controle químico reduzem a incidência e severidade da pinta preta nos

frutos em uma intensidade maior do que os tratamentos sem a poda. Entretanto, a época de realização dessa estratégia é essencial para o controle eficiente da doença, devendo ser executada antes ou durante o início de frutificação das plantas.

8.2.4 Irrigação

O uso da irrigação no manejo da pinta preta apresenta três finalidades: diminuir a queda acentuada de folhas no período seco que precede a florada, reduzindo assim a produção de ascósporos nas folhas caídas no solo; uniformizar a florada, possibilitando a adoção de um cronograma de pulverização concentrado em apenas um período e diminuindo as chances de sobreposição de frutos oriundos de floradas diferentes; e reduzir a queda prematura de frutos. No estado de São Paulo, em variedades de maturação tardia, quedas acentuadas de frutos, em geral, ocorrem a partir do mês de agosto após períodos de estiagem. A irrigação poderia reduzir o estresse hídrico durante esse período, e conseqüentemente, a queda de frutos.

O método de irrigação mais apropriado para manejo da pinta preta é o por gotejamento, uma vez que, por esse método, apenas o solo é umedecido, ao contrário da microaspersão ou aspersão via canhão autopropelido em que as folhas caídas são também molhadas durante a irrigação. As alternâncias entre o molhamento e a secagem das folhas infectadas caídas favorecem a formação de pseudotécios e de ascósporos do fungo. Como a irrigação por aspersão ou microaspersão favorece essas alternâncias, ela também vai contribuir para o aumento dessa fonte de inóculo na área (Tabela 8.3). A irrigação por aspersão via canhão autopropelido é pouco utilizada em pomares paulistas e não há estudos de sua influência sobre a disseminação da doença. Porém, acredita-se que ela pode aumentar o período de molhamento nas folhas, ramos e frutos, favorecendo a produção de ascósporos do fungo nas folhas em decomposição no solo, e aumentando a germinação de esporos e a infecção de tecidos de órgãos suscetíveis da planta, além de promover a dispersão dos conídios dos ramos secos e frutos com picnídios.

Tabela 8.3 Número de folhas com pseudotécios de *Phyllosticta citricarpa* na superfície do solo em áreas com dois métodos de irrigação entre 1995 e 1997, em pomar de pomelo (*Citrus paradisi*), em Colônia Santa Rosa, Salta – Argentina.

Ano	Número de folhas caídas com pseudotécios de <i>Phyllosticta citricarpa</i> ^a	
	Microaspersão	Gotejo
1995	20,8	2,75
1996	16,5	0
1997	13,0	0,25

^a Avaliação em outubro de cada ano, em um círculo de 0,25 m², sob a copa de quatro plantas. Fonte: Alcoba *et al.* (2000).

8.2.5 Uso de quebra-ventos

A finalidade do quebra-vento é reduzir a ação do vento. Ele não deve ser confundido com a cerca viva, que é uma barreira homogênea mais densa, constituída de plantas que,

em geral, apresentam menor altura que as do quebra-vento, e que é instalada no perímetro da propriedade, com o objetivo de evitar ou dificultar o acesso de pessoas e animais no local.

Os quebra-ventos são barreiras permeáveis (não muito densas), formados por árvores resistentes ao vento e mais altas que as de citros, instalados externa e internamente nos pomares, em faixas de direção perpendicular ao vento predominante. Eles não devem ser compactos, uma vez que a turbulência provocada no lado oposto à incidência do vento diminui seu efeito protetor.

A utilização de quebra-ventos pode trazer vários benefícios para o cultivo de citros, dos quais podemos citar:

- Redução na queda de plantas, na quebra de galhos, e na queda de frutos;
- Incremento na fixação e no tamanho dos frutos e no crescimento da copa, refletindo em aumento de produtividade das plantas;
- Redução da disseminação de esporos sexuais (ascósporos) de *P. citricarpa* presentes nas folhas caídas em decomposição, principalmente em pomares mais novos, onde há maior circulação de vento;
- Redução nas derivas de defensivos agrícolas utilizados nas pulverizações, melhorando a cobertura de órgãos das plantas com esses produtos, e consequentemente, o controle de diferentes pragas e doenças, entre elas, a pinta preta, que é manejada principalmente por meio de pulverizações com fungicidas;
- Melhoria na qualidade visual dos frutos e efeito adicional no controle de outras doenças cujo inóculo possa ser disseminado pelo vento, como no caso do cancro cítrico, causado por *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.

Por outro lado, os quebra-ventos podem apresentar alguns inconvenientes, tais como:

- Aumento dos custos de produção e redução da área útil de plantio em até 10%;
- Interferência no tráfego de máquinas terrestres ou aéreas nas propriedades;
- Sombreamento das plantas cítricas se eles forem muito altos e densos, mantendo-as úmidas por um período de tempo maior, principalmente em áreas de baixada. Em pomares mais velhos, acredita-se que esse molhamento pode contribuir para aumentar as infecções causadas por *P. citricarpa*.

A localização geográfica do plantio de citros e a quantidade de inóculo na área são determinantes na escolha da espécie vegetal e do tipo de quebra-vento a ser adotado. Se houver alta favorabilidade para a pinta preta, os quebra-ventos devem ser instalados ao redor de todo o plantio. Já em áreas menos favoráveis, onde a quantidade de doença é, em geral, baixa, eles podem ser implantados visando somente à proteção contra os ventos predominantes.

Dentre as espécies recomendadas como quebra-ventos estão as casuarinas (*Casuarina cunninghamiana* e *C. equisetifolia*) e a *Corymbia torelliana*, que pertence à mesma família do eucalipto (Myrtaceae) (Figura 8.11). Essas espécies apresentam diversas ca-

racterísticas desejáveis, entre elas, a copa da planta é densa, porém, permeável, o crescimento é rápido formando uma barreira homogênea da base ao topo das plantas, e não são hospedeiras de doenças dos citros. A espécie *C. torelliana* tem sido mais utilizada nas citriculturas da Flórida (EUA) e da Argentina, e apresenta potencial para ser usada na citricultura brasileira.



Figura 8.11 Espécies arbóreas utilizadas como quebra-vento na cultura dos citros: *Corymbia torelliana* no estado da Flórida, Estados Unidos (A) e *Casuarina cunninghamiana* no estado do Paraná, Brasil (B).

O uso de quebra-ventos visando o manejo da pinta preta pode trazer vantagens e desvantagens. Portanto, antes da tomada de decisão para sua implantação, todos esses fatores devem ser levados em consideração, incluindo os benefícios que eles promovem para o manejo de outras importantes doenças e pragas da cultura. A suscetibilidade a pragas e doenças da espécie a ser usada como quebra-ventos deve ser considerada. No Rio Grande do Sul e no Paraná, plantas de *Casuarina* têm sido severamente atacadas por brocas, que causam a morte repentina das árvores.

8.3 Controle químico

O controle químico da pinta preta é o método de manejo mais eficiente e economicamente viável para garantir alta produtividade e qualidade de produção. Esse método baseia-se no uso de fungicidas, que são compostos químicos, de origem sintética ou natural, com ação direta ou indireta sobre os fungos, inibindo sua germinação, penetração, crescimento micelial ou reprodução. Os fungicidas podem ser classificados quanto a sua mobilidade na planta, sendo os **sistêmicos** aqueles que podem ser translocados via feixes vasculares, os **mesostêmicos/translaminares**, aqueles que se movem no limbo foliar e os **tópicos/imóveis/não sistêmicos**, aqueles que não penetram nos tecidos das plantas. A classificação também pode levar em conta o princípio geral de controle, sendo os protetores aqueles que inibem a pene-

tração, os curativos os que inibem a colonização (pós-penetração) e os erradicantes aqueles que podem eliminar o inóculo antes mesmo de ocorrer germinação. Além disso, a classificação pode ser por modo de ação, conforme metodologia e códigos do FRAC (Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas), pela classe toxicológica de I a IV ou também pelo ingrediente ativo ou grupo químico.

Os fungicidas protetores e não sistêmicos formam uma camada de proteção sobre os órgãos atingidos, dificultando o contato do patógeno com os tecidos do hospedeiro, ou suprimindo as etapas pré-penetração. Nessa categoria incluem-se os fungicidas cúpricos e os ditiocarbamatos, que devem ser aplicados preventivamente à chegada dos esporos sobre os tecidos da planta, já que o patógeno após algumas horas de molhamento pode germinar e infectar tecidos desprotegidos.

Os fungicidas do grupo das estrobilurinas apresentam formulações nas quais o produto pode ser não sistêmico, translaminar/mesostêmico ou sistêmico, com atividade protetora, erradicante ou curativa restrita às folhas. Os benzimidazóis são sistêmicos e apresentam atividade curativa nas folhas, bem como protetora e erradicante. Esses fungicidas mesostêmicos ou sistêmicos, pela afinidade com os compostos celulares dos tecidos vegetais, conseguem penetrar nas células foliares, controlando infecções recém-estabelecidas. A sistemicidade desses produtos é irrelevante no controle da pinta preta em frutos, pois os fungicidas sistêmicos, em geral, são incapazes de se translocar para órgãos que não transpiram ou transpiram pouco. Assim, nos frutos, os produtos sistêmicos provavelmente agem como protetores.

As pulverizações de fungicidas para o controle da pinta preta em pomares do estado de São Paulo são realizadas, em geral, com turbo pulverizadores com capacidade para 2.000 ou 4.000 L de calda (Figura 8.12), uma vez que as pulverizações aéreas são realizadas com volumes muito baixos e não são recomendadas para o controle dessa doença.



Fotos: Geraldo J. Silva, Jr. (à esquerda) e Marcelo S. Scapin (à direita)

Figura 8.12 Pulverizações de fungicidas para o controle da pinta preta em pomares de citros do estado de São Paulo.

8.3.1 Histórico do controle químico no mundo e no Brasil

A aplicação de fungicidas, apesar do alto custo, tem sido a estratégia mais utilizada e que tem propiciado os melhores resultados no manejo da pinta preta. O número de pulverizações pode ser alto, dependendo do destino da produção, intensidade da doença na área e da variedade ou espécie de citros.

O controle químico da pinta preta tem sido adotado desde a década de 1950 na Austrália e na África do Sul. Os fungicidas cúpricos foram os primeiros a apresentar bons resultados no controle da doença, especialmente o oxiclreto de cobre e a calda bordalesa. O controle era iniciado com os frutos na fase jovem, e em torno de três pulverizações com esses fungicidas eram realizadas, em intervalos entre aplicações de aproximadamente seis semanas.

Nesses países, na década de 1960, mesmo com seis aplicações de calda bordalesa, em intervalos de 20 a 27 dias, a incidência de frutos infectados e sintomáticos era superior a 15%, ao passo que em plantas não tratadas a incidência era próxima de 70%. Nos anos subsequentes, verificou-se que óxido cuproso e oxiclreto de cobre proporcionavam controle mais eficiente que a calda bordalesa. Naquela época, as pulverizações eram realizadas com doses de cobre metálico (Cu) em torno de 90 g /100 L de calda acrescidos de óleo na dose de 0,5%. Em muitas situações o controle químico não era necessário em pomares com idades entre 8 e 10 anos. Nos pomares com plantas mais velhas e alta intensidade da doença, um maior número de pulverizações poderia ser requerido. Porém, o uso sequencial de cúpricos causava sintomas severos de fitotoxicidade, com danos significativos na casca dos frutos, resultando na depreciação destes. Um problema relevante naqueles países por se tratar de frutos destinados quase que exclusivamente à exportação.

Ainda na década de 1960, foram introduzidos os ditiocarbamatos (mancozebe, ziram, zinebe), outro importante grupo de fungicidas, no controle da pinta preta naqueles países. Após a introdução desse grupo, a aparência visual dos frutos foi melhorada e o controle da doença foi superior quando comparado ao controle somente com os cúpricos. Fungicidas desse grupo químico juntamente com os cúpricos eram aplicados de duas a três vezes em pomares novos e quatro ou mais em pomares mais velhos, utilizando-se o óleo em mistura, prática esta que, na época, tornou-se comum no controle da doença.

Na África do Sul, no início da década de 1970, o fungicida sistêmico benomil (benzimidazol) começou a ser utilizado em mistura com óleo para o controle da doença. Nos primeiros testes já se verificou que a incidência de frutos doentes em plantas tratadas foi muito baixa, com resultados de controle superiores àqueles obtidos com o uso dos ditiocarbamatos e dos cúpricos, e próximos do controle total. A maior eficácia do benomil, associada à determinação das épocas do ano naquele país em que ocorre a maior liberação dos ascósporos do fungo, e à determinação do período crítico de suscetibilidade dos frutos, permitiu a redução do número de aplicações feitas no controle da doença, que passou de quatro ou cinco por ano de ditiocarbamatos, em pomares velhos, para apenas uma pulverização de benomil em calda contendo óleo.

Nos anos posteriores, em caráter experimental, foram obtidos excelentes resultados de controle da doença mediante aplicações de benomil logo após a queda de pétalas das

flores, acompanhadas de duas pulverizações envolvendo sua combinação com mancozebe, em intervalos de 25 dias. Com tais procedimentos foram obtidos cerca de 95% de frutos assintomáticos, ao passo que mediante três pulverizações sequenciais de mancozebe, a eficiência do tratamento foi inferior a 80%. O sucesso alcançado pelo emprego de benomil e outros benzimidazóis fez dessa prática de controle de pinta preta quase uma unanimidade entre os citricultores sul-africanos. Entretanto, o uso excessivo desses ingredientes ativos resultou, a partir da década de 1980, nos primeiros registros de resistência de *P. citricarpa* aos benzimidazóis. Diante disso, os ditiocarbamatos voltaram a ter seu uso incrementado em combinação com os benzimidazóis e óleo mineral.

No Brasil, o benomil foi utilizado até o ano de 2002, quando teve seu uso proibido. A partir de então, outros benzimidazóis (carbendazim e tiofanato-metilico) passaram a ser aplicados nos pomares. Bons resultados no controle da pinta preta foram obtidos com uma ou duas aplicações destes benzimidazóis, puros ou em mistura com fungicidas não sistêmicos. A maioria das caldas fungicidas era acrescida de óleo mineral ou vegetal. Entretanto, o controle da doença no Brasil com o uso desses benzimidazóis não alcançava, na maioria dos casos, o mesmo nível de controle obtido na África do Sul e Austrália, com o mesmo número de aplicações. A menor eficiência de controle deve-se à existência, no Brasil, de duas importantes fontes de inóculo do fungo (ascósporos e conídios) e de distribuição de chuvas mais frequentes por períodos mais longos do ano. Para alcançar a mesma eficiência de controle da África do Sul, um maior número de pulverizações era requerido.

Com o uso dos benzimidazóis intensificado no Brasil na década de 2000, isolados de *P. citricarpa* resistentes aos fungicidas desse grupo foram encontrados em 2007. Carbendazim e tiofanato-metilico foram utilizados até 2012, quando eles foram retirados da Lista de Defensivos da Produção Integrada de Citros (Lista PIC). Essa lista é elaborada por um comitê formado por institutos de pesquisa, consultores e indústrias produtoras de suco. Nela constam os inseticidas, acaricidas, fungicidas e herbicidas com limite máximo de resíduo (LMR) e/ou tolerância de importação estabelecidos para os países importadores de suco de laranja brasileiro, e autorizados para uso dentro do Programa de Produção Integrada dos Citros (PIC), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A retirada desses produtos da Lista PIC só inviabiliza seu uso em pomares destinados à produção de suco para exportação. Os registros desses produtos permanecem no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit) do MAPA para uso em pomares cuja produção será destinada exclusivamente ao mercado interno de frutas frescas.

O emprego dos fungicidas do grupo das estrobilurinas ocorreu no Brasil de forma simultânea à verificada na África do Sul, sendo os primeiros estudos realizados com o cresoxim-metilico na década de 1990, em que foram obtidos excelentes resultados com duas a quatro aplicações em mistura com mancozebe e óleo. A azoxistrobina também apresentou bons resultados. No Brasil, as estrobilurinas (piraclostrobina, trifloxistrobina e azoxistrobina), juntamente com os cúpricos, têm sido os fungicidas mais utilizados no controle da doença. Com a descoberta de isolados resistentes aos benzimidazóis, e a

retirada deste grupo químico da Lista PIC, as estrobilurinas e os cúpricos tornaram-se praticamente unanimidade no controle da pinta preta nos pomares paulistas.

No fim dos anos 90, o controle eficiente da pinta preta no estado de São Paulo era obtido com apenas duas aplicações de fungicidas, mas alguns anos depois, quatro aplicações já eram requeridas em algumas áreas. Na década de 2010, o controle da doença em pomares mais velhos e com alta quantidade de inóculo passou a ser realizado com seis aplicações, sendo as duas primeiras com cúpricos e as demais com estrobilurinas ou benzimidazóis associados ou não com fungicidas não sistêmicos, sendo todos os produtos aplicados em mistura com óleo. Essa estratégia de manejo permanece até os dias atuais, porém, sem o uso de benzimidazóis em pomares cuja fruta será destinada à produção de suco para exportação.

Resíduos de carbendazim no suco de laranja brasileiro exportado para os EUA

Em dezembro de 2011, uma empresa engarrafadora de sucos dos Estados Unidos realizou testes de rotina para resíduos de agrotóxicos em carregamentos de suco de laranja provenientes do Brasil, nos quais foi detectada a presença do fungicida carbendazim. Em janeiro de 2012, o órgão governamental dos EUA responsável pelo controle de alimentos (FDA, *Food and Drug Administration*) proibiu o desembarque no país de vários navios contendo suco concentrado e congelado (FCOJ, *sigla em inglês*) produzido no Brasil. O FDA alegou que o suco apresentava resíduo de carbendazim acima do limite máximo de resíduo (LMR) permitido no país que era de 10 ppb (partes por bilhão).

O carbendazim está registrado no MAPA para citros e tem permissão para uso no Brasil com LMR de 5.000 ppb. Além disso, apresenta LMR ou *Import tolerance* estabelecido no Japão de 3.000 ppb, no Canadá de 1.000 ppb e na União Europeia de 200 ppb. Nos EUA, até 2009, eram aceitos 500 ppb. Isso demonstrava que o suco brasileiro era 100% seguro para o consumo no mundo. A permissão de uso do carbendazim em citros nos EUA não foi renovada em 2008, e com isso resíduos desse fungicida em produtos cítricos importados passaram a não ser permitidos no país.

De janeiro a março de 2012, 26 carregamentos de suco de laranja concentrado e congelado produzido no Brasil foram interceptados e rechaçados em portos de desembarque americanos pelo mesmo motivo. A indústria brasileira de suco decidiu então, suspender a exportação para o mercado americano de FCOJ, mas manter as exportações de suco fresco não congelado (NFC, *sigla em inglês*), pois nesse não houve detecção do fungicida. Em março daquele mesmo ano, os benzimidazóis foram retirados da Lista de Defensivos da Produção Integrada de Citros (Lista PIC), interrompendo seu uso em pomares que destinavam frutos para a produção de suco para exportação. Além do carbendazim, o tiofanato-metilico, o folpete e o mancozebe foram também excluídos da Lista PIC por não apresentarem LMR ou *Import tolerance* estabelecidos em países importadores do suco brasileiro.

8.3.2 Fungicidas utilizados no controle da doença

Em 2012, com a exclusão dos benzimidazóis e ditiocarbamatos da Lista de Defensivos PIC, apenas dois grupos de fungicidas passaram a ser indicados para o controle da pinta preta em pomares cuja fruta se destina para a produção de suco e exportação: os cúpricos e as estrobilurinas. Entre os cúpricos incluem-se os fungicidas com diferentes fontes de cobre fixo, como hidróxido de cobre, oxicloreto de cobre e óxido cuproso. Entre as estrobilurinas, no Brasil, as moléculas registradas são azoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina. Para pomares cuja produção é destinada exclusivamente para o mercado interno brasileiro, fungicidas do grupo dos ditiocarbamatos, como mancozebe, e do grupo dos benzimidazóis, como carbendazim e tiofanato-metilico, estão registrados no MAPA e podem ser usados para o controle da doença.

Fungicidas cúpricos

Os fungicidas cúpricos são utilizados na citricultura como método de prevenir infecções por diferentes patógenos. Existem três tipos de compostos cúpricos que podem ser utilizados para esse fim: hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre e óxido cuproso. As formulações podem ser pó molhável (WP), granulados dispersíveis em água (WG ou WDG) e suspensão concentrada (SC). As características físicas dos fungicidas, como molhabilidade, suspensibilidade e tamanho médio das partículas podem variar de acordo com o princípio ativo e a marca comercial do produto, características essas que também são importantes no nível de controle dos patógenos obtido com a utilização desses fungicidas. Além desses cobres também conhecidos como cobres fixos, o sulfato de cobre em mistura com a cal hidratada (calda bordalesa) também pode ser utilizado no controle da doença.

No Brasil, os fungicidas cúpricos mais comumente utilizados em citros são oxiclreto de cobre e hidróxido de cobre, aplicados sozinhos ou associados a fungicidas de ação sistêmica, visando evitar o desenvolvimento de resistência do fungo aos fungicidas sistêmicos. Além desses, o óxido cuproso, que teve seu uso reduzido em citros na década de 2000, foi reformulado e voltou a ser mais utilizado na cultura a partir de 2014. No estado de São Paulo, os citricultores, em geral, utilizam uma única dose fixa de produto comercial a base de hidróxido de cobre (5 kg/2000 L de calda), ou de oxiclreto de cobre (3,6 kg/2000 L) ou de óxido cuproso (2 kg/2000 L), baseando-se na premissa de que todos os produtos comerciais a base de oxiclreto de cobre têm 50% de cobre metálico, os a base de hidróxido de cobre têm 35%, e os a base de óxido cuproso têm 75%. Entretanto, para cada tipo de fungicida cúprico de mesmo ingrediente ativo existem diferentes produtos comerciais com concentrações de cobre metálico, que variam entre 35 e 75% (Tabela 8.4). Dessa forma, as doses a serem aplicadas nos pomares devem ser ajustadas considerando-se as concentrações de cobre metálico de cada produto comercial. Na Tabela 8.4, é possível observar que as concentrações de cobre metálico dos produtos comerciais a base de hidróxido de cobre variam de 35 a 45%, e, conseqüentemente, no caso da recomendação de 90 g de Cu/100 L, as doses dos produtos comerciais variam de 4,0 a 5,1 kg/2000 L. Para o oxiclreto de cobre, as concentrações de cobre metálico dos produtos variam de 35 a 52%, e no caso da recomendação de 90 g de Cu/100 L, as doses dos produtos comerciais variam de 3,5 a 5,1 kg/2000 L. O óxido cuproso apresenta duas concentrações de cobre metálico (49 ou 75%) e deve ser usado nas doses de 3,7 ou 2,4 kg/2000 L de produto comercial, na dose de 90 g de Cu/100 L.

Características dos cúpricos

Os fungicidas cúpricos não têm um modo de ação específico, sendo considerados de ação multissítio pertencentes ao Grupo M1 do Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (FRAC) (mais detalhes no tópico 8.3.8 “Resistência a fungicidas e estratégias antirresistência”). Esses fungicidas, na forma de íon cobre (Cu^{2+}), são prontamente assimilados por células de fungos sensíveis, formando complexos com enzimas que possuem radicais sulfidril, hidroxila, amino e carboxila, causando alterações importantes no metabolismo celular, com conseqüente perda da integridade das células do patógeno.

Tabela 8.4 Tipo de cobre, produto comercial, porcentagem de cobre metálico no produto comercial e dose a ser utilizada para 2.000 L de calda em função das diferentes recomendações de doses de cobre metálico (Cu) para 100 L de calda.

Tipo de cobre	Produto comercial	Cu (%)	Produto comercial em kg ou L/2.000 L		
			50 g de Cu/100 L	75 g de Cu/100 L	90 g de Cu/100 L
Hidróxido de cobre	Auge	35	2,9	4,3	5,1
	Contact	45	2,2	3,3	4,0
	Ellect	45	2,2	3,3	4,0
	Garant	45	2,2	3,3	4,0
	Garant BR	45	2,2	3,3	4,0
	Garra 450 WP	45	2,2	3,3	4,0
	Kentan 40WG	40	2,5	3,8	4,5
	Kocide WDG Bioactive	35	2,9	4,3	5,1
	Supera	35	2,9	4,3	5,1
	Tutor	45	2,2	3,3	4,0
Oxicloreto de cobre	Agrinose	35	2,9	4,3	5,1
	Cobox	50	2,0	3,0	3,6
	Cobox DF	52	1,9	2,9	3,5
	Cobre Fersol	50	2,0	3,0	3,6
	Copsuper	35	2,9	4,3	5,1
	Cup001	50	2,0	3,0	3,6
	Cupravit Azul BR	35	2,9	4,3	5,1
	Cupravit Verde	52	1,9	2,9	3,5
	Cuprogarb 350	35	2,9	4,3	5,1
	Cuprogarb 500	50	2,0	3,0	3,6
	Cupuran 500 PM	50	2,0	3,0	3,6
	Difere	35	2,9	4,3	5,1
	Fanavid 85	50	2,0	3,0	3,6
	Fanavid Flowable	40	2,5	3,8	4,5
	Funguran Verde	50	2,0	3,0	3,6
	Fungitol Azul	35	2,9	4,3	5,1
	Fungitol Verde	50	2,0	3,0	3,6
	Neoram 37.5 WG	38	2,6	3,9	4,7
	Ramexane 850 PM	50	2,0	3,0	3,6
	Reconil	35	2,9	4,3	5,1
Recop	50	2,0	3,0	3,6	
Status	35	2,9	4,3	5,1	
Óxido cuproso	Cobre Atar BR	49	2,0	3,1	3,7
	Cobre Atar MZ	49	2,0	3,1	3,7
	Redshield 750	75	1,3	2,0	2,4

Nos primeiros ensaios realizados com fungicidas cúpricos para o controle da pinta preta no estado de São Paulo a dose avaliada era de 90 g de Cu/100 L de calda. Dois ensaios realizados em pomares de laranjeiras ‘Valência’ e ‘Folha Murcha’, verificaram que a calda bordalesa e a calda Viçosa apresentaram eficiência similar à do cobre fixo (oxicloreto de cobre). A calda bordalesa, que consiste na mistura de sulfato de cobre com cal hidratada, apresentou eficiência similar nas doses entre 90 e 120 g de Cu/100 L, não diferindo do controle promovido pelo oxicloreto de cobre na dose de 90 g de Cu/100 L (Figura 8.13). Além da calda bordalesa, no pomar de ‘Folha Murcha’, a calda Viçosa, que consiste na calda bordalesa acrescida de nutrientes, também foi testada nas doses de 90 e 75 g de Cu/100 L e, nas duas doses, apresentou eficiência similar à calda bordalesa e ao oxicloreto de cobre. Em todos os tratamentos, as caldas de cobre foram acrescidas de óleo mineral (pomar de ‘Valência’) ou vegetal (pomar de ‘Folha Murcha’) na dose de 0,25%.

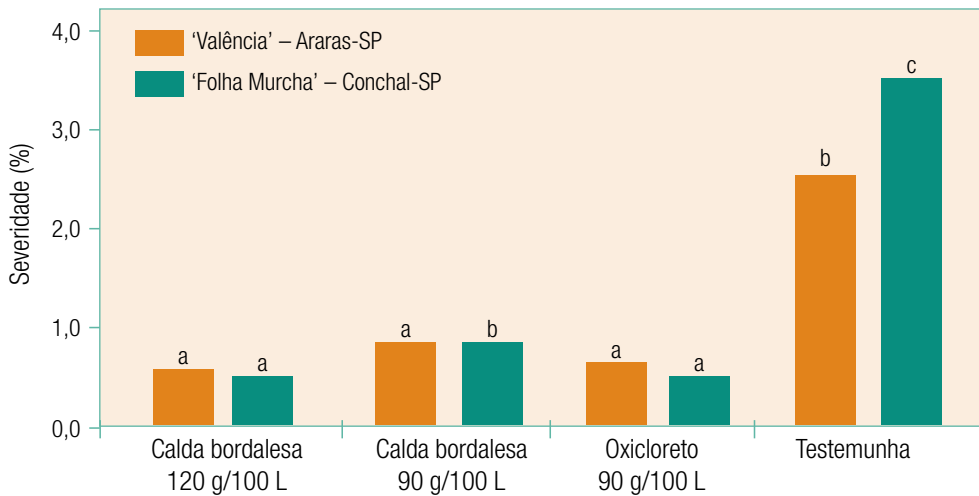


Figura 8.13 Severidade (%) da pinta preta avaliada em frutos de laranjeiras ‘Valência’ e ‘Folha Murcha’ em Araras e Conchal-SP, respectivamente, pulverizados com calda bordalesa ou oxicloreto de cobre, nas doses de 90 ou 120 g de cobre metálico/100 L de calda, em quatro aplicações, na safra 1999/2000. Médias seguidas pela mesma letra em cada campo experimental não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Feichtenberger *et al.* (2001a,b).

O oxiclreto de cobre e o hidróxido de cobre apresentam controle similar quando aplicados na dose de 90 g de Cu/100 L de calda, já o óxido cuproso apresenta efeito similar a estes em uma dose inferior, aproximadamente 75 g de Cu/100 L. Entretanto, dose de 75 g de Cu/100 L para os três tipos de cobre não foi testada ao mesmo tempo em uma mesma área para o controle de pinta preta (Figura 8.14).

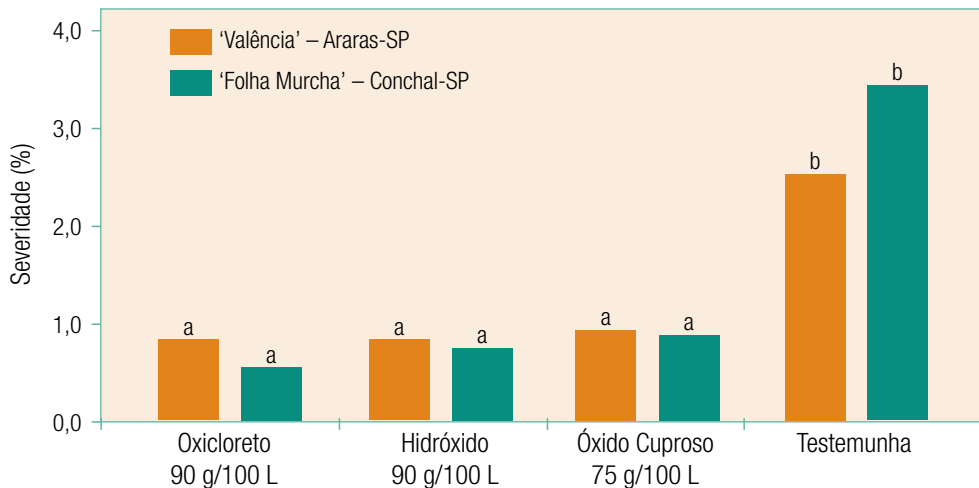


Figura 8.14 Severidade (%) da pinta preta avaliada em frutos de laranjeiras 'Valência' e 'Folha Murcha' em Araras e Conchal-SP, respectivamente, submetidos a diferentes produtos (oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre e óxido cuproso), nas doses de 90 ou 75 g de cobre metálico/100 L de calda, em quatro aplicações, na safra 1999/2000. Médias seguidas pela mesma letra em cada campo experimental não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Feichtenberger *et al.* (2001a,b).

As pulverizações de fungicidas cúpricos normalmente são realizadas no começo da frutificação das plantas, coincidindo, no estado de São Paulo, com o início do período chuvoso da safra. No caso de oxiclreto ou hidróxido de cobre, a dose recomendada no controle de pinta preta é, em geral, de 90 g de Cu/100 L. Contudo, essa dose pode variar dependendo do volume e frequência das chuvas, que se forem baixos, doses inferiores a 90 g de Cu/100 L podem ser eficientes. Outro fator que afeta o controle é a intensidade da doença, pois em áreas com alta severidade, as doses reduzidas podem ter baixa eficiência.

Em pomares de laranjeiras ‘Valência’ e ‘Folha Murcha’, a eficiência de hidróxido de cobre na dose de 53 g de Cu/100 L, em quatro aplicações, na redução da severidade da pinta preta foi inferior quando comparada à dose convencional de 90 g de Cu/100 L (Figura 8.15). Em outro pomar de laranja ‘Valência’, a redução da dose de hidróxido de cobre de 90 para 38 g de Cu/100 L (primeira e segunda aplicações) juntamente com a redução da dose do carbendazim de 25 para 12,5 g de i.a./100 L (terceira e quarta aplicações) resultou em aumento da severidade de pinta preta de 1,1% na dose recomendada para 2,7% na dose reduzida.

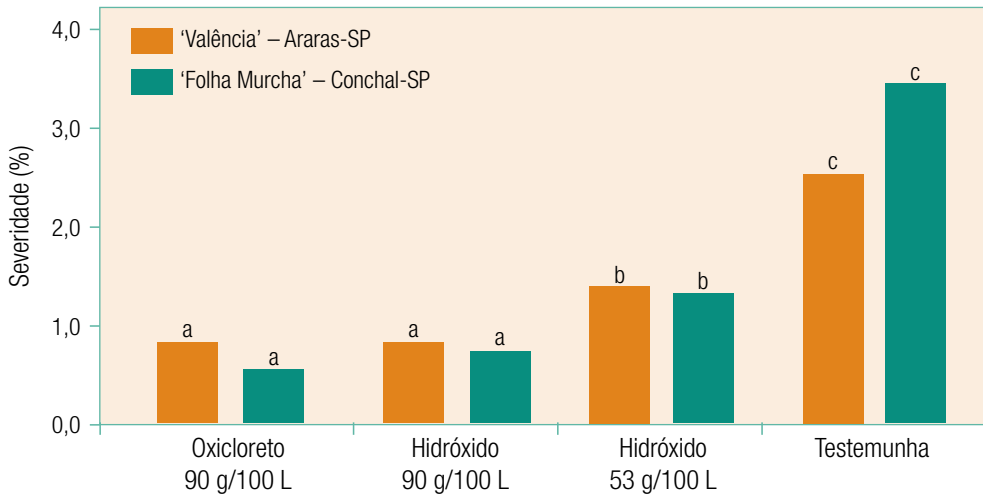


Figura 8.15 Severidade (%) da pinta preta avaliada em frutos de laranja doce ‘Valência’ e ‘Folha Murcha’ em Araras e Conchal-SP, respectivamente, submetidos a diferentes tratamentos com oxicloreto de cobre (90g de cobre metálico/100 L) ou hidróxido de cobre (90 e 53 g de cobre metálico/100 L) associados com óleo mineral (0,25%), em quatro aplicações, na safra 1999/2000. Médias seguidas pela mesma letra em cada experimento não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Feichtenberger *et al.* (2001a,b).

Em contrapartida, em outro pomar de laranja ‘Valência’, o hidróxido de cobre utilizado na primeira, na segunda e na quinta aplicação, nas doses de 35, 45, 55 e 90 g de Cu/100 L apresentou a mesma severidade de pinta preta nos frutos e a mesma produtividade (Figura 8.16).

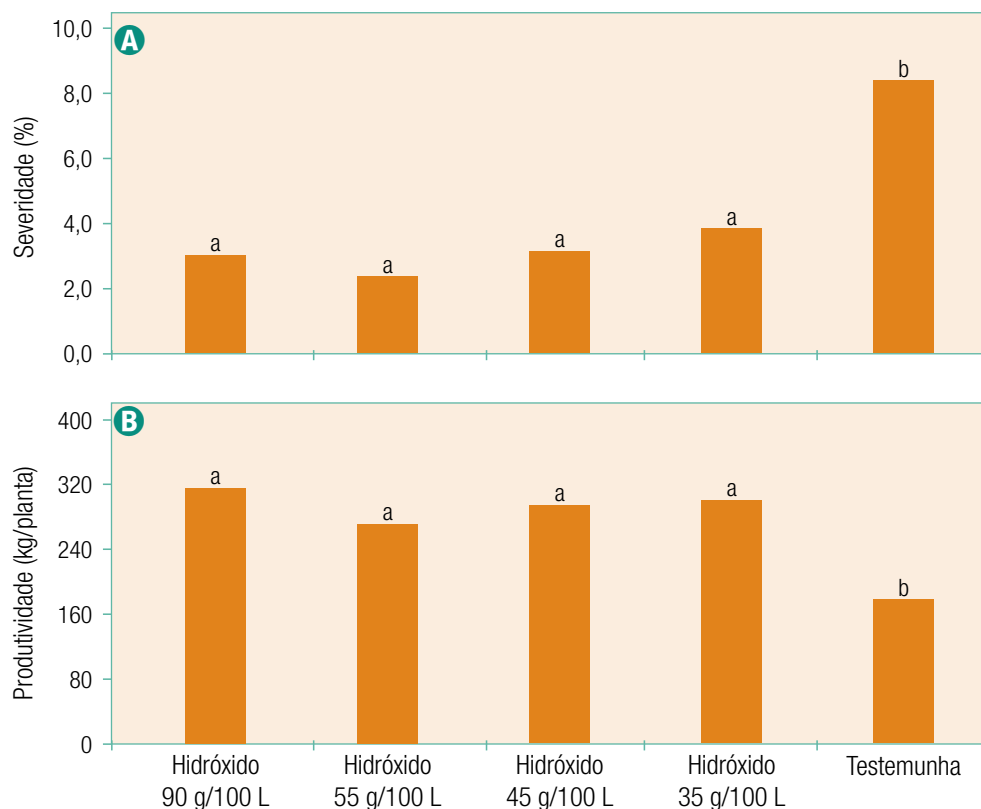


Figura 8.16 Severidade (%) da pinta preta (A) e produtividade (kg/planta) (B) de laranjeiras ‘Valência’ em Américo Brasileiro-SP, submetidas a diferentes tratamentos com doses de hidróxido de cobre (35, 45, 55 e 90 g de cobre metálico/100 L), em três aplicações, sendo outras duas aplicações de piraclostrobina (3,8 g de i.a./ 100 L), na safra 2010/2011. As caldas foram acrescidas de óleo mineral (0,25%). Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fonte: Del Rovere (2013).

A partir de 2010, o Fundecitrus passou a avaliar a eficiência de diferentes doses dos fungicidas cúpricos para o controle da pinta preta sendo as doses dos produtos ajustadas em função do volume de copa das plantas. A metodologia adotada para o cálculo de volume de copa das plantas pode ser vista em detalhes no tópico 8.3.5 “Volumes de calda”.

Dessa forma, as doses de 75 g de Cu/100 L (óxido cuproso) e 90 g de Cu/100 L (oxicloreto ou hidróxido de cobre), até então consideradas as mínimas recomendadas, passaram a equivaler entre 75 e 90 mg de Cu/m³ de copa, se o volume de calda adotado for de 100 mL de calda/m³ de copa. Durante três safras em pomar de laranja ‘Valência’, a dose de 70 mg de Cu/m³ de copa usada em duas aplicações de oxicloreto de cobre foi tão eficiente quanto as doses de 90 e 110 mg de Cu/m³ do mesmo tipo de cobre. Portanto, a dose de 70 mg de Cu/m³ de copa pode ser adotada para o controle

eficiente da pinta preta em pomares onde há alta intensidade da doença, independentemente do tipo de cobre fixo utilizado.

O ajuste da dose de cobre para o controle da pinta preta ainda continua em estudo, uma vez que os resultados apresentados no experimento conduzido em pomar de laranjeiras 'Valência', em Américo Brasiliense-SP sinalizam para uma possibilidade de redução da dose em algumas condições. As doses testadas de 35, 45, 55 e 90 g de Cu/100 L se mostraram eficientes no controle da pinta preta, em três aplicações, com tendência para redução da eficiência de controle da doença apenas nas duas doses inferiores (35 e 45 g de Cu/100 L). Essas duas doses reduzidas representaram nesse pomar 21 e 27 mg de Cu/m³ de copa.

Experimentos estão em andamento para avaliar a eficiência das doses inferiores a 70 mg de Cu/m³ de copa em áreas com alta intensidade da doença, com aplicações de cobre sendo feitas desde a queda das pétalas até o fim do período chuvoso. Vale ressaltar que o ajuste da dose dos cúpricos é possível e desejável. Entretanto, a redução da dose pode requerer também ajuste do intervalo entre as aplicações, uma vez que os cúpricos não são produtos sistêmicos e não se redistribuem pela água de chuva, orvalho ou de outras fontes após a sua deposição na superfície dos órgãos da planta. Os cúpricos são, em geral, usados no controle da pinta preta para a proteção de frutos em estádios iniciais de desenvolvimento, quando eles apresentam taxas de crescimento elevadas. Nesses casos, os novos tecidos produzidos nos frutos durante o período compreendido entre duas pulverizações sequenciais podem ficar desprotegidos se a dose a ser utilizada for muito baixa, contribuindo para uma degradação mais rápida do produto, e o intervalo entre aplicações for muito longo.

Formulações líquidas de oxiclreto de cobre e hidróxido de cobre foram recentemente registradas para uso em citros no Brasil. Suspensões concentradas desses dois ativos, contendo partículas de tamanhos inferiores às das demais formulações foram também disponibilizadas no mercado nacional. Entretanto, utilizando-se esses dois cúpricos nas diferentes formulações existentes, sejam sólidas (WP, WG ou WDG) ou líquida (SC) para o controle da pinta preta, com os produtos aplicados em intervalos de 28 dias, não se observou diferenças significativas entre os principais cúpricos utilizados no parque citrícola paulista, se a dose de cobre metálico deles for equivalente.

Cuidados com os cúpricos

Os fungicidas cúpricos empregados no controle da pinta preta podem causar fitotoxicidade nas plantas, e principalmente nos frutos, depreciando-os quando destinados ao mercado de frutas frescas. Dessa forma, deve-se evitar o excesso de pulverizações com esses produtos e a utilização de doses superiores à recomendada (90 g de Cu/100 L ou 70 mg de Cu/m³). Além disso, a fitotoxicidade pode ser reduzida utilizando-se a calda de cobre com o pH > 6, e realizando pulverizações quando a temperatura da superfície dos frutos e folhas estiver abaixo de 25°C, a umidade do ar estiver alta e os frutos não estiverem molhados. Os cobres com menor tamanho de partículas tendem a aumentar sua eficiência de controle de doenças, mas podem, também, aumentar sua ação fitotóxica.

Fungicidas do grupo das estrobilurinas

Dentre os compostos pertencentes ao grupo das estrobilurinas (QoIs) incluem-se cresoxim-metílico, azoxistrobina, metominostrobrina, trifloxistrobina, picoxistrobina e piraclostrobina. Tal classe de fungicidas conta com amplo espectro de ação, com atividade contra fungos Ascomicetos e Basidiomicetos. Os Oomicetos são também sensíveis aos fungicidas da classe.

Em citros, somente as estrobilurinas azoxistrobina, trifloxistrobina e piraclostrobina têm registro no MAPA para utilização na cultura. Os resultados comparativos entre essas três estrobilurinas são variáveis, sendo possível observar resultados similares entre elas nas mesmas doses, bem como efeito um pouco superior da piraclostrobina em relação às outras duas. Em laboratório, a piraclostrobina apresenta CE_{50} (concentração efetiva para inibição de 50% do crescimento micelial ou germinação de esporos) menor (0,003 a 0,008 mg/L) que a azoxistrobina (0,005 a 0,027 mg/L).

No estado de São Paulo, as três estrobilurinas registradas já foram comparadas em diferentes pomares comerciais. Na maioria deles todas as estrobilurinas controlaram eficientemente a doença, com reduções de até 95% da severidade dos sintomas nos frutos. A dose a ser utilizada para as três estrobilurinas é em torno de 4 g de i.a./100 L de calda, uma vez que doses superiores não incrementam a eficiência do controle. Plantas tratadas com piraclostrobina ou trifloxistrobina em pomar de laranjeiras ‘Valência’, em Tambaú-SP, apresentaram menor severidade de pinta preta nos frutos comparados com plantas tratadas com a mistura de azoxistrobina com difenoconazol. Esse triazol em mistura com a estrobilurina não resultou em aumento da eficiência de controle da pinta preta (Tabela 8.5). Além dessas três estrobilurinas, o cresoxim-metílico (não registrado no MAPA para a cultura dos citros) também apresenta eficiência no controle da pinta preta, que varia de 35 a 78% nas doses entre 10 e 20 g de i.a./100 L de calda. A adição de fluxaproxade (carboxamida) (2,5 g de i.a./100 L) na calda de piraclostrobina (5,0 g de i.a./100 L) não conferiu aumento de eficiência de controle da estrobilurina.

Características das estrobilurinas

As estrobilurinas são fungicidas desenvolvidos de derivados naturais, como a estrobilurina A, oudemansina A e mixotiazol. Esses derivados são produzidos na natureza por fungos basidiomicetos (*Strobilurus tenacellus* e *Oudemansiella mucida*) e ascomicetos (*Bolinea lutea*), e/ou pela bactéria *Myxococcus fulvus*. Seu mecanismo de ação se dá pela inibição da respiração mitocondrial, após ligação do fungicida no sítio Qo (oxidação de quinol) do citocromo b, bloqueando o transporte de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1, levando ao colapso no ciclo de energia do patógeno.

Tabela 8.5 Severidade (%) da pinta preta em frutos de laranjeira doce ou limoeiro pulverizados com diferentes estrobilurinas e respectiva eficiência de controle do tratamento, em diferentes municípios do estado de São Paulo.

Safra	Variedade	Local	Tratamentos	Dose (g i.a./100 L)	Severidade (%) ^a	Eficiência (%) ^b
2001/02	Laranja 'Valência'	Mogi Guaçu ^c	Piraclostrobina + mancozebe	2,5 + 160	1,10 a	84
			Trifloxistrobina + mancozebe	2,5 + 160	1,70 a	76
			Sem pulverizações	-	7,00 b	-
2004/05	Limão 'Siciliano'	Rio Claro ^d	Piraclostrobina	3,8	0,36 a	91
			Trifloxistrobina	3,8	0,39 a	90
			Azoxistrobina	8,0	0,18 a	95
			Sem pulverizações	-	3,85 b	-
2005/06	Laranja 'Natal'	Mogi Guaçu ^e	Piraclostrobina	3,8	1,51 a	72
			Trifloxistrobina	3,8	1,17 a	78
			Azoxistrobina	4,0	1,45 a	73
			Azoxistrobina	8,0	1,43 a	74
			Sem pulverizações	-	5,42 b	-
2011/12	Laranja 'Valência'	Tambaú ^f	Piraclostrobina	3,8	0,98 a	85
			Trifloxistrobina	3,8	1,15 a	83
			Azoxistrobina + difenoconazol	4,0 + 2,5	2,03 b	69
			Sem pulverizações	-	6,65 c	-
2012/13	Laranja 'Valência'	Matão ^g	Piraclostrobina	3,8	0,83 a	86
			Trifloxistrobina	3,8	1,24 a	79
			Azoxistrobina	3,8	1,03 a	82
			Sem pulverizações	-	5,80 b	-

^aMédias seguidas pela mesma letra em cada campo experimental não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). ^bEficiência de controle (%) do tratamento com fungicidas em comparação com plantas sem pulverizações. ^cFeichtenberger & Spósito (2003b); ^dFeichtenberger & Spósito (dados não publicados); ^eSilva (2013a); ^fSilva Junior *et al.* (dados não publicados).

Outros fungicidas avaliados em pomares

Diferentes fungicidas já foram avaliados para o controle da pinta preta desde a década de 1980 no estado do Rio de Janeiro. No estado de São Paulo, a eficácia de fungicidas tem sido estudada desde a safra 1995/96. Os benzimidazóis (benomil e carbendazim), o mancozebe e o oxiclreto de cobre foram os primeiros produtos estudados com ou sem adição de óleo mineral na calda. Em pomar fluminense, os benzimidazóis reduziram de 60 a 80% o número de frutos doentes e o número de lesões por fruto. O oxiclreto de cobre e o mancozebe apresentaram eficiência inferior aos benzimidazóis, com reduções de 35 a 65%. Nos pomares paulistas, o benomil apresentou eficiência de controle de até 91% de redução da severidade da pinta preta nos frutos. Entretanto, esse produto, que apresentava alta eficiência de controle da doença, teve seu uso proibido no início da década de 2000.

Os outros dois benzimidazóis testados em pomares comerciais paulistas são o carbendazim e o tiofanato metílico; ambos se mostram eficientes no controle da pinta preta, aplicados em associação ou não com o mancozebe, reduzindo em até 95% a severidade dos sintomas nos frutos (Tabela 8.6). Essa alta eficiência de controle é similar à observada para as estrobilurinas (principal grupo químico no controle da pinta preta). Esses benzimidazóis foram importantes fungicidas utilizados no manejo da pinta preta na década de 2000 após a proibição do benomil. Porém, os dois produtos foram excluídos da Lista de Defensivos PIC em 2012, tendo o uso proibido em pomares destinados à produção de suco para exportação. Os dois fungicidas permanecem registrados no MAPA para uso em pomares cuja produção se destina exclusivamente ao mercado interno.

Produtos com baixa eficiência no controle da pinta preta

Vários produtos foram avaliados no controle da pinta preta, mas não apresentam eficiência satisfatória para justificar o seu uso. O fungicida folpete (dicarboximida/ftalimida), que até o final da década de 1990 era recomendado para o controle da doença, foi avaliado em quatro áreas experimentais, mas as plantas tratadas com o produto nas doses de 100 a 150 g de i.a./100 L apresentaram severidades da pinta preta em frutos similares às observadas em plantas não tratadas. O fungicida pirimetanil (anilino pirimidina), nas doses de 23 e 45 g/100 L, reduziu a severidade da pinta preta de somente 27 a 44% em comparação com laranjeiras de maturação tardia não pulverizadas. Resultados similares foram observados para a mistura fungicida ciprodinil (anilino pirimidina) + fludioxonil (fenilpirrol), na dose 9,4 + 6,3 g de i.a./100 L, que reduziu a severidade da doença de somente 15 a 45% em comparação com plantas de 'Valência' não tratadas. O ativador de resistência de plantas acibenzolar-S-metílico (benzotiadiazol), aplicado na dose de 40 g de i.a./100 L em calda com óleo vegetal (0,25%), reduziu a severidade da pinta preta em 47% quando comparado com plantas de 'Folha murcha' não pulverizadas. O cloreto de benzalcônio (amônio quaternário), na dose de 10 g de i.a./100 L, apresentou eficiência de 10 a 38% de redução da severidade da pinta preta em laranjeiras 'Pera' e 'Natal'.

Tabela 8.6 Severidade (%) da pinta preta em frutos de laranja doce ou limoeiro pulverizados com carbendazim ou tiofanato-metilico, em diferentes municípios do estado de São Paulo.

Safra	Local	Varietade	Tratamentos	Dose (g i.a./100 L)	Severidade (%) ^a	Eficiência (%) ^b
1997/98	Conchal ^e	Laranja 'Pera'	Carbendazim ^c	50	0,13 a	85
			Sem pulverização	-	0,91 b	-
1997/98	Conchal ^e	Laranja 'Pera'	Carbendazim ^c	50	0,25 a	74
			Sem pulverização	-	0,96 b	-
2001/02	Mogi Guaçu ^f	Laranja 'Valência'	Carbendazim + mancozebe ^d	25 + 160	1,10 a	84
			Sem pulverização	-	7,00 b	-
2003/04	Conchal ^g	Laranja 'Folha Murcha'	Carbendazim + mancozebe ^d	25 + 160	0,56 a	85
			Tiofanato-metilico + mancozebe ^d	38 + 160	0,47 a	88
			Sem pulverização	-	3,80 b	-
2004/05	Rio Claro ^g	Limão 'Siciliano'	Carbendazim + mancozebe ^d	25 + 160	0,27 a	93
			Tiofanato-metilico + mancozebe ^d	38 + 160	0,20 a	95
			Sem pulverização	-	3,85 b	-

^aMédias seguidas pela mesma letra em cada campo experimental não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). ^bEficiência de controle (%) do tratamento com fungicidas em comparação com plantas sem pulverizações. ^cDois aplicações com calda acrescida de óleo mineral (0,5%); ^dPrimeira e segunda aplicações com cobre (90g de cobre metálico/100 L), e terceira e quarta aplicações com os fungicidas em calda acrescida de óleo mineral (0,25%). ^eAguilar-Vildoso *et al.*, 1999; ^fFeichtenberger *et al.*, 2003; ^gFeichtenberger *et al.* (dados não publicados).

O mancozebe, que também foi excluído da Lista de Defensivos PIC em 2012, era o ditiocarbamato mais utilizado em pomares paulistas até então, aplicado normalmente em associação com outros fungicidas de ação sistêmica para o controle da pinta preta. Esse produto, quando usado em calda acrescida de óleo mineral emulsionável, apresentou eficiência de 37 a 49% (Figura 8.17), um pouco inferior à eficiência encontrada para o oxicleto de cobre (90 g de Cu/100 L) em calda acrescida de óleo mineral, que variou de 49 a 66%, porém muito inferior à eficiência obtida com a aplicação de estrobilurina ou benzimidazol acrescidos de óleo mineral, que alcança até 95% de controle.

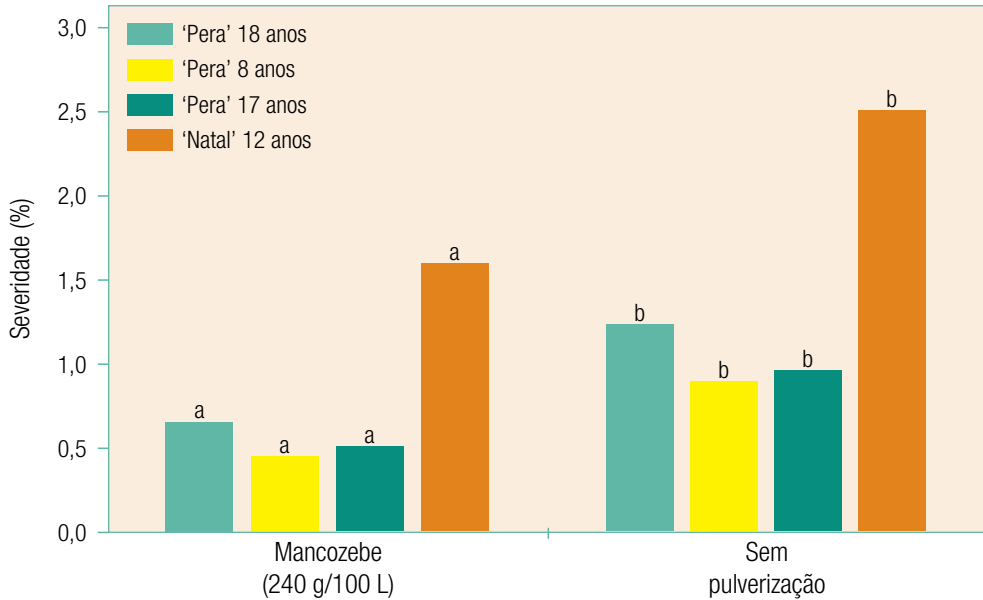


Figura 8.17 Severidade (%) da pinta preta em quatro campos experimentais de laranja doce 'Pera' ou 'Natal', de diferentes idades, em Conchal-SP, pulverizados com calda de mancozebe (240 g de i.a./100 L) e óleo mineral emulsionável (0,5%) ou sem pulverização. Médias seguidas pela mesma letra em cada campo experimental não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fontes: Feichtenberger *et al.* (1997); Aguilar-Vildoso *et al.* (1999); Spósito *et al.* (1999).

O difenoconazol, na dose de 10 g de i.a./100 L, reduziu a severidade da doença entre 21 e 69% (Figura 8.18). O difenoconazol, mesmo usado em doses mais altas, apresentou eficiência de controle baixa ou intermediária. Em pomar de laranja 'Valência', a aplicação do difenoconazol (2,5 g de i.a./100 L) em mistura com azoxistrobina (4,0 g de i.a./100 L) não promoveu aumento de eficácia quando essa mistura foi comparada com a aplicação de piraclostrobina ou trifloxistrobina sem o triazol (Tabela 8.5). Além desses resultados obtidos no Brasil, na Argentina também há relatos de baixa eficiência de outro triazol (tebuconazol) quando comparado ao carbendazim no controle da pinta preta. Enquanto a eficiência de controle do carbendazim foi superior a 90%, a do tebuconazol foi inferior a 50%.

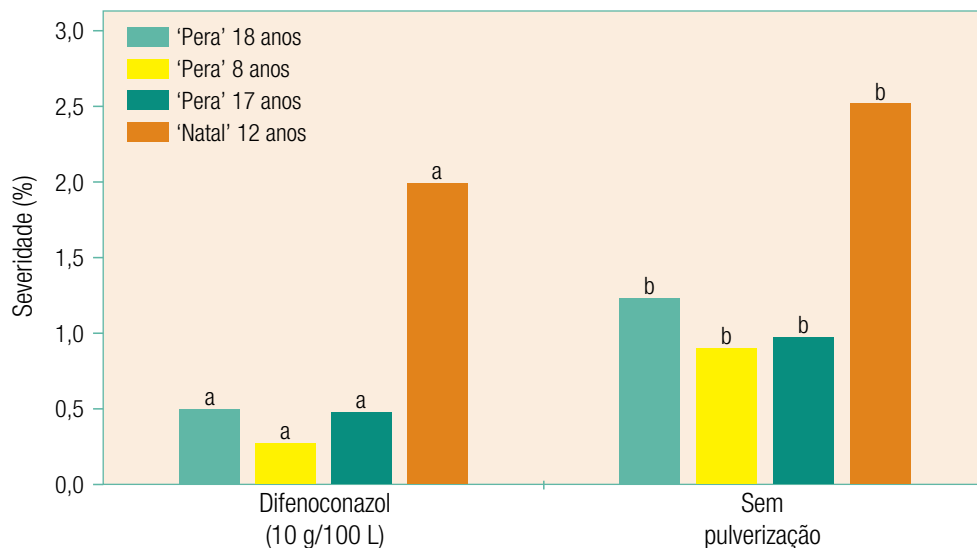


Figura 8.18 Severidade (%) da pinta preta em quatro campos experimentais de laranja 'Pera' ou 'Natal', de diferentes idades, em Conchal-SP, pulverizados com difenoconazol (10 g/100 L) ou sem pulverizações (testemunha). Médias seguidas pela mesma letra em cada campo experimental não diferem significativamente entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fontes: Feichtenberger *et al.* (1997); Aguilar-Vildoso *et al.* (1999); Spósito *et al.* (1999).

8.3.3 Período de proteção dos frutos

Os frutos cítricos estão suscetíveis a infecções durante todas as fases do seu desenvolvimento. Entretanto, para que a doença ocorra, além dos tecidos estarem suscetíveis, o patógeno deve estar presente, e as condições climáticas devem ser favoráveis para a infecção e colonização dos tecidos do hospedeiro. Normalmente, no sudeste do Brasil, as condições ambientais são favoráveis para a infecção dos frutos durante todo o período chuvoso, que pode se estender de setembro a julho, dependendo do ano e das diferentes regiões dentro de cada estado. Entretanto, no estado de São Paulo, as infecções mais associadas com a queda prematura de frutos são as que ocorrem de setembro até abril. O início das pulverizações é realizado na fase de queda de pétalas das flores, que pode ocorrer em agosto/setembro (florescimento normal) ou até novembro/dezembro (florescimento tardio). O período de proteção, isto é, o período no qual os frutos devem estar protegidos pela ação dos fungicidas, estende-se até abril, em pomares cujas frutas serão destinadas à produção de suco, uma vez que pulverizações após esse mês reduzem em baixos níveis a intensidade da doença nos frutos, mas não reduzem a queda deles. Em pomares para a produção de frutas frescas, o início das pulverizações ocorre também na queda de pétalas, porém, o período de proteção pode ser maior, dependendo da frequência de chuvas após abril. Esse período é muito particular de cada safra e região do Brasil, e o citricultor deve estabelecer o período ideal de controle em função do destino da produção, época da queda de pétalas das flores e final do período chuvoso (Tabela 8.7).

Tabela 8.7 Período de proteção de frutos com fungicidas no estado de São Paulo em função do destino final da produção, da época da queda de pétalas das flores e do final do período chuvoso.

Destino da produção	Queda de pétalas ^a	Final do período chuvoso	Início e fim das pulverizações	Período de proteção (dias) ^b
Suco	Setembro	Abril	Set-Abr	180-240
		Junho	Set-Abr	180-240
	Novembro	Abril	Nov-Abr	120-180
		Junho	Nov-Abr	120-180
Fruta fresca	Setembro	Abril	Set-Abr	180-240
		Junho	Set-Jun	270-300
	Novembro	Abril	Nov-Abr	120-180
		Junho	Nov-Jun	210-240

^aAs pulverizações são iniciadas quando há em torno de 75% de queda de pétalas. Em safras com florescimento normal, essa queda ocorre em agosto/setembro, e em safras com florescimento tardio, ela pode ocorrer até novembro/dezembro. ^bPeríodo de tempo no qual deve-se manter os frutos protegidos com fungicidas.

No estado de São Paulo, em pomares mais jovens, normalmente há uma quantidade inferior de inóculo, especialmente em razão da existência de poucos ramos secos nas plantas e menor quantidade de folhas caídas no solo. Nessas áreas, desde que não haja histórico de queda de frutos, o período de proteção pode ser reduzido. Esses pomares normalmente terão problemas se não forem realizadas pulverizações no período com chuvas frequentes e intensas, que em geral ocorrem de novembro a fevereiro. Por outro lado, pomares mais velhos que em geral possuem maior quantidade de ramos secos e queda mais acentuada de folhas, o que resulta em maiores danos com a pinta preta, devem ser protegidos de acordo com os períodos descritos na Tabela 8.7. Florescimentos extemporâneos podem ocorrer e a viabilidade da florada deve ser analisada, pois a ausência de controle em frutos oriundos dessas floradas pode causar sua queda, que muitas vezes representam parte expressiva da produção das plantas.

O período de proteção química dos frutos nas condições do estado de São Paulo é diferente do período adotado na África do Sul, onde as aplicações são iniciadas na queda de pétalas (a partir de setembro) e se estendem até o fim do período chuvoso, normalmente em janeiro. O período de proteção estabelecido para as condições dos pomares paulistas foi feito a partir de dados obtidos de diferentes campos experimentais, nos quais foi possível verificar melhores resultados com a proteção durante todo o período chuvoso, respeitando os intervalos recomendados entre aplicações. Em dois pomares de laranjeiras 'Pera', o período de controle de 168 dias, obtido com seis pulverizações de cobre iniciadas na queda de pétalas, reduziram a severidade da pinta preta em 78 e 68%. Em contrapartida, períodos de controle de apenas 28 dias obtidos com uma aplicação, em diferentes épocas, foram os menos eficientes na redução da severidade da doença (Tabela 8.8).

Tabela 8.8 Severidade da pinta preta em frutos tratados com fungicida cúprico em diferentes épocas para o controle da doença em laranjeiras 'Pera', na safra 1998/99, em Conchal e Araras-SP.

Dias após o início das aplicações ^a						Severidade (%) ^b	
0	28	56	84	112	140	Conchal-SP	Araras-SP
Cu	Cu	Cu	Cu	Cu	Cu	2,01 a	0,34 a
Cu	Cu	Cu				2,08 ab	0,45 a
	Cu	Cu	Cu			2,03 ab	0,36 a
Cu	Cu					2,79 abc	0,83 bc
	Cu	Cu				2,68 abc	0,64 ab
		Cu	Cu			4,13 cde	0,81 bc
			Cu	Cu		3,52 bcd	1,27 d
Cu						5,53 def	0,96 bcd
	Cu					4,13 cde	0,61 ab
		Cu				5,07 de	1,08 cd
			Cu			5,14 de	0,65 ab
				Cu		6,18 ef	1,04 cd
					Cu	7,83 fg	0,84 bc
Sem pulverizações						9,44 g	1,06 cd

^aDias após o início das aplicações, sendo Dia 0 = estádio de queda de pétalas. Cu = Oxicloreto de cobre (90 g de Cu/100 L) + óleo mineral emulsionável (0,5%). Os diâmetros dos frutos da primeira até a sexta pulverizações em Conchal foram 6, 16, 27, 39, 44 e 47 mm e em Araras foram 5, 8, 15, 26, 38 e 41 mm. ^bSeveridade em % de área do fruto lesionada. Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Spósito *et al.* (2000).

A utilização apenas de fungicidas cúpricos durante todo o período de proteção é menos eficiente que a combinação de aplicações com cúpricos seguidas de estrobilurinas. No estado de São Paulo, o período de proteção ideal em pomar adulto de laranjeira 'Valência' para produção de suco é de aproximadamente 180-200 dias, iniciando em setembro e encerrando em abril, com duas aplicações de cobre (setembro e outubro) e mais três ou quatro de estrobilurinas (novembro a abril). Essas cinco ou seis aplicações são suficientes para reduzir a incidência, a severidade e a queda de frutos em até 88, 96 e 76%, respectivamente (Tabela 8.9).

Tabela 8.9 Eficiência de redução (%) da incidência e severidade da pinta preta e da queda prematura de frutos em função do número ou momento das aplicações durante duas safras em pomar de laranja 'Valência' em Mogi Guaçu-SP.

Tratamentos ^a	Eficiência de redução (%) ^b					
	Safr 2010/11			Safr 2011/12		
	Incidência	Severidade	Queda	Incidência	Severidade	Queda
Cu (set; out)	50	71	48	34	49	0
Cu (set; out); Es (nov)	67	82	45	56	72	34
Cu (set; out); Es (nov; jan)	79	92	69	73	84	51
Cu (set; out); Es (nov; jan; fev)	85	95	74	78	87	58
Cu (set; out); Es (nov; jan; fev; abr)	88	96	76	81	91	66

^aCu, aplicação de fungicida cúprico em intervalo de 28 dias nos meses de setembro e outubro; Es, aplicação de estrobilurina, em intervalo de 40 dias, nos meses de novembro, janeiro, fevereiro e abril. ^bEficiência de redução, em porcentagem, calculada pela diferença obtida para cada variável comparando o respectivo tratamento e a testemunha sem aplicações. Fonte: Metzker (2014).

As aplicações de estrobilurinas após abril contribuem para a redução da intensidade da doença, mas apresentam pouco efeito sobre a redução da queda de frutos comparada com as aplicações realizadas em novembro ou janeiro. Isso pode ser observado em um pomar de laranja 'Valência' onde a doença foi avaliada por duas safras. Na primeira (2010/11), as chuvas foram mais frequentes até a quinta aplicação (fevereiro), mas na safra seguinte, além das chuvas frequentes observadas até a quinta aplicação, volumes de chuva de 85 a 212 mm foram observados nos intervalos entre as pulverizações até julho. Dessa maneira, em pomares cuja produção será destinada para o mercado de frutas frescas, as aplicações devem seguir até o fim do período chuvoso, que pode se estender até junho, uma vez que a pulverização realizada neste mês (com proteção estendida até julho) foi eficiente em reduzir a incidência e severidade da doença nos frutos (Tabela 8.10).

Período de aplicação de fungicidas

Em pomares paulistas de laranja doce para a produção de suco, as aplicações para o controle da pinta preta na florada principal são realizadas desde a queda das pétalas (set/out) até mar/abr. A maioria das infecções após abril será responsável pela formação de sintomas de mancha dura a partir de novembro, e pouco efeito terão sobre a queda dos frutos. Porém, essas lesões tardias serão responsáveis pela formação de sintomas que podem depreciar a produção para o mercado de frutas frescas. Se esse for o destino da produção, as pulverizações devem seguir até o fim do período chuvoso, que pode se estender até jun/jul. Mais de uma florada pode ocorrer ao longo do ano, e pulverizações devem ser realizadas para a proteção dos frutos das diferentes floradas considerando o destino da produção, o período de suscetibilidade dos frutos e da expressão dos sintomas.

Tabela 8.10 Estimativas da eficiência (%) isolada de aplicações de estrobilurinas entre novembro e julho na redução da intensidade da doença e da queda de frutos, baseadas nos resultados de experimento realizado durante duas safras em pomar de laranjeiras 'Valência' em Mogi Guaçu-SP.

Época de aplicação da estrobilurina ^a	Eficiência de redução (%) ^b					
	Safrá 2010/11			Safrá 2011/12		
	Incidência	Severidade	Queda	Incidência	Severidade	Queda
Novembro	17	11	0	22	23	34
Janeiro	12	10	24	17	12	16
Fevereiro	6	3	5	5	3	7
Abril	4	0	2	3	4	9
Maió	0	0	0	3	8	0
Junho	5	0	6	14	10	0
Julho	0	3	1	0	3	2

^aAplicação de estrobilurina, em intervalo de 40 dias, de novembro a julho. ^bEficiência de redução, em porcentagem, calculada pela diferença obtida para cada variável comparando o respectivo tratamento (época de aplicação da estrobilurina) e a testemunha sem aplicações. Fonte: Metzker (2014).

8.3.4 Intervalos entre as pulverizações

O número de aplicações e o intervalo entre elas dependem do produto a ser usado da intensidade de inóculo, da maturação das variedades, da idade das plantas e do destino da produção. Se o intervalo for muito reduzido, o número de pulverizações deve ser aumentado para obter proteção dos frutos durante todo o período chuvoso. Os cúpricos têm um período de proteção de 21 a 28 dias, os ditiocarbamatos, de 15 dias, e os benzimidazóis, assim como as estrobilurinas, de 35 a 42 dias. A redução do intervalo de aplicação dos cúpricos de 25 para 20 dias ou das estrobilurinas e benzimidazóis de 35 para 30 dias reduz a eficiência de controle da doença quando o número de pulverizações é mantido e o período de proteção reduzido. Essa eficiência se mantém quando o período de proteção é compensado pelo aumento do número de pulverizações. Assim, os programas de manejo com menores intervalos entre aplicações requerem maior número de pulverizações para manter o período de proteção ideal (Tabela 8.11).

Tabela 8.11 Severidade (%) da pinta preta em frutos, queda prematura de frutos (%) e produtividade (kg/planta) de laranjeiras 'Valência' submetidas a tratamentos com diferentes intervalos de aplicação de fungicidas no controle da doença, safra 2009/10, Mogi Guaçu-SP.

Pulverizações ^a							Período de controle (dias)	Severidade (%)	Queda de frutos (%)	Produtividade (kg/planta)
1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a				
Cu 20d	Trifl. 30d			Carb. 30d		-	162	0,17 b	2,79 b	3,81 ^{NS}
Cu 25d	Trifl. 30d			Carb. 30d		-	176	0,11 c	2,61 b	3,25
Cu 20d	Trifl. 35d			Carb. 35d		-	176	0,08 d	2,88 b	3,96
Cu 25d	Trifl. 35d			Carb. 35d		-	190	0,02 e	3,03 b	3,52
Cu 20d		Trifl. 30d		Carb. 30d			182	0,02 e	2,48 b	3,67
Testemunha							---	4,48 a	7,07 a	3,55

^aCu, pulverizações com oxicleto de cobre (90 g de Cu/100 L); Trifl., pulverizações com a estrobilurina trifloxistrobina (3,8 g de i.a./100 L); Carb., pulverizações com o benzimidazol carbendazim (50 g de i.a./100 L). Volume de calda de 12 L/planta (4500 L/ha). Da segunda à sétima pulverização foi utilizado óleo mineral a 0,25%. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Scott Knot; $p>0,05$). Fonte: Vinhas (2011).

Quando o período de proteção é mantido por 180 dias, a redução do intervalo entre as aplicações de estrobilurinas de 40 para 20 dias aumenta a eficiência de controle da pinta preta. Entretanto, a queda de frutos e a produtividade das plantas não são alteradas (Figura 8.19). O intervalo de 20 dias entre as pulverizações de estrobilurinas é a melhor opção para produção de frutas frescas, em que o objetivo é obter frutas sem sintomas ou com poucas lesões, visando sua maior aceitação no mercado. Por outro lado, 40 dias de intervalo seria a melhor opção para o citricultor que destina fruta para a indústria, uma vez que as cinco aplicações com intervalos de 40 dias custam entre 35 e 15% menos que as oito e seis aplicações em intervalos de 20 e 30 dias, respectivamente. Portanto, em pomares cujas frutas são destinadas à produção de suco, o intervalo de aplicação para os fungicidas de ação sistêmica pode ser em torno de 40 dias.

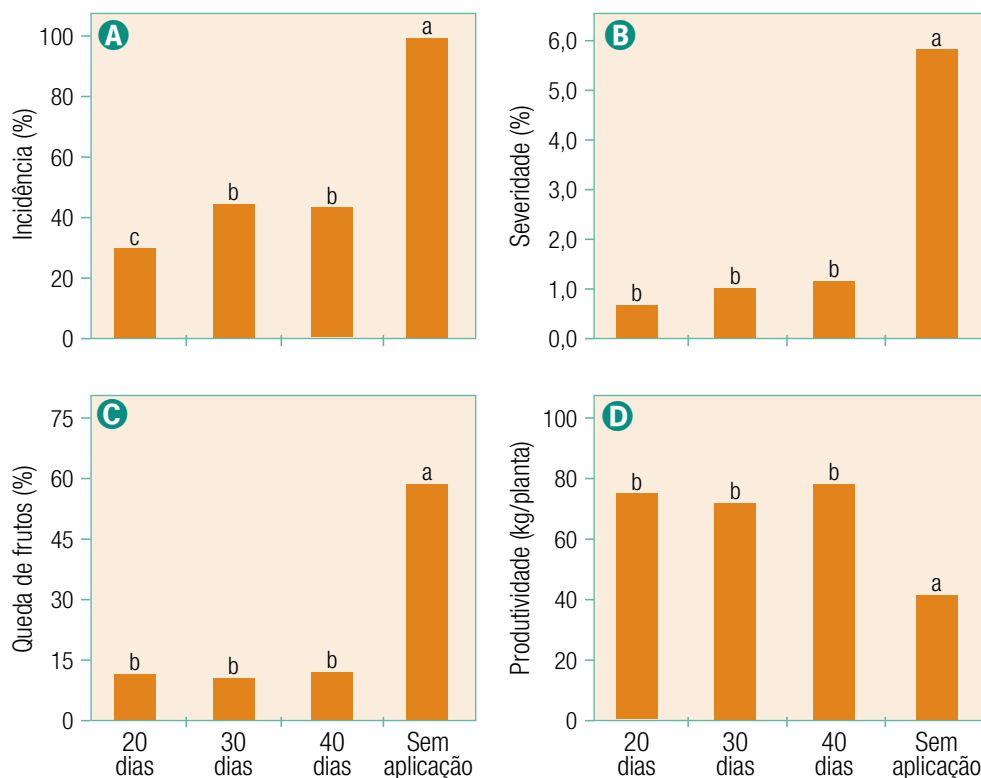


Figura 8.19 Incidência (A) e severidade (B) máximas (%) de pinta preta observadas nos frutos, queda prematura de frutos (%) (C) e produtividade (kg/planta) (D), de laranjeiras 'Valência' em Mogi Guaçu-SP, na safra 2011/12, submetidas ao controle químico com intervalos entre aplicações de estrobilurina de 20, 30 e 40 dias. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Silva (2013b).

8.3.5 Volumes de calda

O volume de calda adotado para o controle da pinta preta em diversos países é considerado alto. Desde a década de 1960, quando o controle químico foi inicialmente adotado, volumes de até 20.000 L de calda por hectare chegaram a ser utilizados. Em pomares da Argentina, África do Sul e Austrália, onde a fruta é, em sua maioria, destinada para a exportação, os volumes adotados chegam a 12.000 L/ha ou 35 L/planta.

Na década de 2000, vários estudos voltados para redução de volume de calda em citros para o controle de diferentes pragas e doenças no estado de São Paulo foram realizados por diferentes instituições de pesquisa. Para o controle da pinta preta, que utilizava de 12 a 20 L/planta, os experimentos demonstraram a possibilidade de uso de 1,5 a 3,5 L/planta, sem redução de eficiência (Tabela 8.12). Entretanto, nesses primeiros trabalhos o volume ou área de copa a ser pulverizada não foi considerado, o que acarretava falta do produto em alguns talhões e excesso de calda em outros.

Tabela 8.12 Severidade da pinta preta em frutos de laranjeiras 'Natal' e 'Valência' e limoeiro 'Siciliano' submetidos a pulverizações em alto e baixo volumes para o controle da doença em campos experimentais em Rio Claro-SP e Mogi Guaçu-SP.

Safrá	Local	Variedade	Tratamentos	Volume de calda ^a			Severidade (%)
				L/hectare	L/planta	mL/m ³	
2002/03	Rio Claro ^b	Laranja 'Natal'	Alto volume	2.400	6,4 - 7,5	200 - 240	2,60 a
			Baixo volume	600	1,5 - 1,8	50 - 60	1,60 a
			Sem pulverização	-	-	-	7,40 b
2004/05	Rio Claro ^b	Limão 'Siciliano'	Alto volume	2.100 - 2.300	8,0 - 9,0	70 - 80	0,27 a
			Baixo volume	600 - 850	2,2 - 3,3	20 - 30	0,58 a
			Sem pulverização	-	-	-	3,85 b
2006/07	Mogi Guaçu ^c	Laranja 'Valência'	Alto volume	3.238	8,5	70 - 120	1,96 a
			Baixo volume	1.715	4,5	35 - 60	1,96 a
			Baixo volume	1.333	3,5	30 - 50	2,68 a
			Sem pulverização	-	-	-	6,56 b
2007/08	Mogi Guaçu ^b	Laranja 'Valência'	Alto volume	1.150	3,0	100 - 120	1,92 b
			Baixo volume	600	1,6	50 - 60	0,84 a
			Sem pulverização	-	-	-	3,50 c

^aVolumes de calda adotados em L/ha ou L/planta e estimativa realizada em mL/m³ de copa. ^bQuatro aplicações: duas primeiras com oxicleto de cobre (OC) e as demais com carbendazim (CA) + mancozebe, sendo todas acrescidas de óleo a 0,5%. Médias seguidas por letras iguais no mesmo experimento não diferem entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Feichtenberger *et al.* (2010). ^cQuatro aplicações: duas primeiras com OC, a terceira com OC + CA e a quarta com OC + piraclostrobina. As caldas foram acrescidas de óleo a 0,25%. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fonte: Araújo *et al.* (2013).

Devido às variações no tamanho das plantas, em função da variedade, idade, porta-enxerto, espaçamento, entre outros, foi estabelecido que os volumes de calda deveriam ser definidos com base na copa das plantas e na localização do alvo, externo ou no interior da árvore. Além de considerar a altura e a largura da copa das plantas, a profundidade também foi incluída para o cálculo do volume de calda para a obtenção da melhor cobertura possível. Para alvos localizados internamente, o ponto de escoamento teórico é de 100 mL de calda/m³ de copa, e para alvos externos é de 40 mL/m³. Esses volumes referência foram previamente determinados em 10 campos experimentais conduzidos no estado de São Paulo em pomares de laranjeiras doces, baseados na premissa de que a deposição de cobre nas folhas e frutos aumenta com a elevação do volume de calda até o ponto de escoamento e, acima desse, a quantidade de produto depositada nos tecidos da planta passa a ser constante, independentemente do volume aplicado. Dessa forma, o volume de calda deve ser específico para cada doença ou praga em cada pomar e definido por metro cúbico de planta. Metodologia similar a essa, denominada TRV (*Tree-Row-Volume*), foi testada em diferentes trabalhos nas culturas da macieira, videira e rosáceas de caroço com resultados satisfatórios.

A estimativa do volume de calda a ser aplicado por planta é realizada do seguinte modo:

- Mensura-se a altura, a largura e a profundidade da copa de pelo menos 20 plantas escolhidas de maneira aleatória no talhão (Figura 8.20);
- Para a altura (A) da planta (em metros), considera-se a distância do solo até o ponto mais alto da copa;
- Para a largura (L) da copa (em metros), considera-se o espaçamento entre plantas, para os casos em que os pulverizadores não têm sensores, pois mesmo que as plantas não estejam com as copas se tocando, a região vazia entre elas receberá a calda de pulverização. No caso de pulverizadores com sensores, considera-se o maior diâmetro da copa no sentido da linha de plantio;
- Para a profundidade (P) da planta (em metros) considera-se o maior diâmetro da copa no sentido perpendicular à linha de plantio. Normalmente, a copa de árvores adultas é mais profunda do que larga, pois no sentido da linha (L) as plantas se tocam e no sentido da entrelinha (P), devido ao maior espaçamento (5 a 7 m) as copas não se tocam e crescem mais.

O volume de copa por planta (V_{pl} em m^3) é calculado pela equação:

$$V_{pl} = A \times L \times P$$

O volume total de copa por hectare (V_{ha} em m^3) é calculado pela equação:

$$V_{ha} = V_{pl} \times (10.000 / L \times E),$$

onde E é o espaçamento entre as linhas de plantio (m).

Exemplo prático:

Pomar de laranjeira ‘Valência’, plantado no espaçamento de 6,5 m (E) \times 2,8 m (L), com plantas de altura média (A) de 4,2 m, largura média (L) de 2,8 m e profundidade média (P) de 3,7 m.

O volume de copa por planta (V_{pl}) seria:

$$V_{pl} = 4,2 \text{ m (A)} \times 2,8 \text{ m (L)} \times 3,7 \text{ m (P)} = 44 \text{ m}^3$$

O volume total de copa por hectare (V_{ha}) seria:

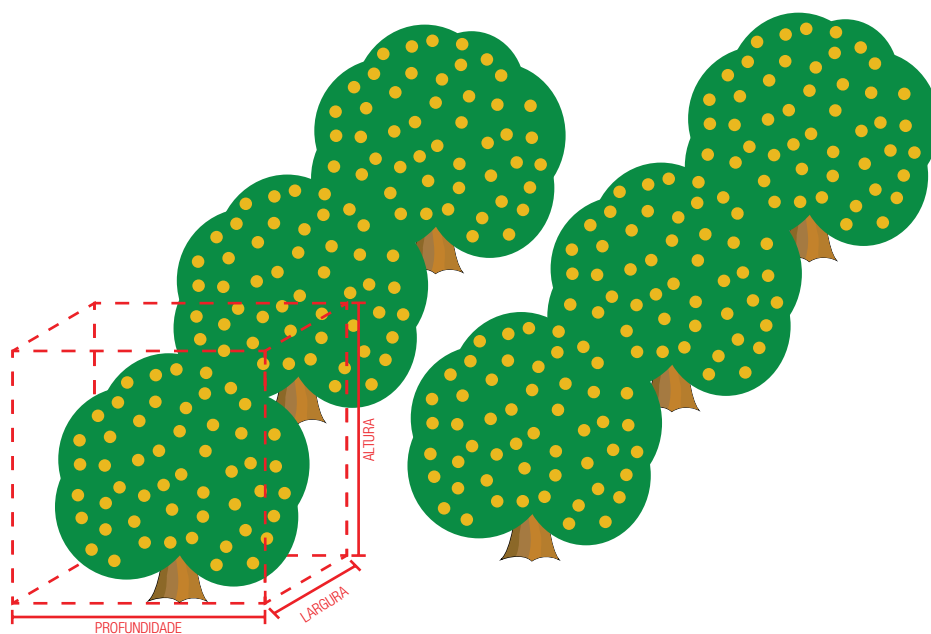
$$V_{ha} = 44 \text{ m}^3/\text{pl} (V_{pl}) \times [10.000 \text{ m}^2/6,5 \text{ m (E)} \times 2,8 \text{ m (L)}] = \\ 44 \text{ m}^3/\text{pl} \times 549 \text{ pl./ha} = 24.150 \text{ m}^3/\text{ha}$$

Considerando uma aplicação no volume de calda correspondente ao ponto de escorrimo interno nesse talhão ($100 \text{ mL}/\text{m}^3$) seriam necessários:

$$100 \text{ mL de calda}/\text{m}^3 \times 44 \text{ m}^3/\text{planta} = 4,4 \text{ L/planta ou}$$

$$100 \text{ mL de calda}/\text{m}^3 \times 24.150 \text{ m}^3/\text{ha} = 2.415 \text{ L/ha}$$

COMO CALCULAR O VOLUME DE COPA DAS PLANTAS



Exemplo de cálculo
para obtenção do
volume de copa da planta:
4,2 m de altura × 3,7 m
de profundidade × 2,8 m
de largura = 44 m³

Figura 8.20 Demonstração de cálculo do volume de copa em função da altura, largura e profundidade da planta.

Em dois campos experimentais conduzidos por três safras nas quais foram avaliados diferentes volumes de calda, foi observado que ao converter o volume de calda de mL/m³ para L/ha pode haver grandes variações em um mesmo pomar à medida que ele se torna mais velho. Em um dos campos experimentais de laranjeiras ‘Valência’, o volume de 100 mL/m³ de copa representou 2.418, 2.802 e 3.187 L/ha em três safras consecutivas. No outro pomar, também de ‘Valência’, esse mesmo volume de 100 mL/m³ representou 1.605, 2.143 e 2.810 L/ha. Nesses campos, as doses de fungicidas foram adotadas em função das recomendações existentes em kg ou L/2000L de calda e à medida que o volume de calda era reduzido as doses dos produtos também diminuiam. Para os volumes de 75 e 50 mL/m³ a dose foi corrigida para chegar àquela utilizada no volume referente ao ponto de escoamento teórico interno (100 mL/m³) (Tabela 8.13).

Tabela 8.13 Volumes de calda e doses dos fungicidas testados para o controle da pinta preta em pomares de laranjeira ‘Valência’ em Mogi Guaçu-SP e Tambaú-SP, durante três safras.

Volume de calda (mL/m ³)	Volume (L/ha)			Cobre metálico ^b		Piraclostrobina ^c	
	Safra 1	Safra 2	Safra 3	g/100 L	mg/m ³	g/100 L	mg/m ³
Mogi Guaçu							
125	3.022	3.503	3.984	90	113	3,8	4,6
100	2.418	2.802	3.187	90	90	3,8	3,7
75	1.813	2.102	2.390	90	68	3,8	2,8
75 CD ^a	1.813	2.102	2.390	120	90	5,0	3,7
50	1.209	1.401	1.593	90	45	3,8	1,9
50 CD ^a	1.209	1.401	1.593	180	90	7,5	3,7
Tambaú							
100	1.605	2.143	2.810	90	90	3,8	3,8
50 CD ^a	802	1.071	1.405	180	90	7,6	3,8

^aCD, correção de dose dos fungicidas para o nível até o ponto de deposição máxima obtida com o volume de 100 mL/m³, referente ao ponto de escoamento interno. ^bDose de cobre metálico utilizada nas duas primeiras aplicações de oxicloreto de cobre. ^cDose de piraclostrobina, estrobilurina utilizada nas demais aplicações, totalizando seis no experimento em Mogi Guaçu e cinco no experimento em Tambaú. Fonte: Silva (2013a,b); Silva Junior *et al.* (2016).

Com base nesses estudos, o volume de calda de fungicida voltada exclusivamente ao controle da pinta preta foi definido em 75 mL de calda/m³ de copa. Esse volume de calda apresenta eficiência de controle similar à obtida para 100 e 125 mL/m³ (Figura 8.21A). As plantas tratadas com 75, 100 e 125 mL/m³ apresentam produtividades similares. Entretanto, as plantas tratadas com 50 mL/m³ podem produzir relativamente menos que as tratadas com os volumes superiores (Figura 8.21B).

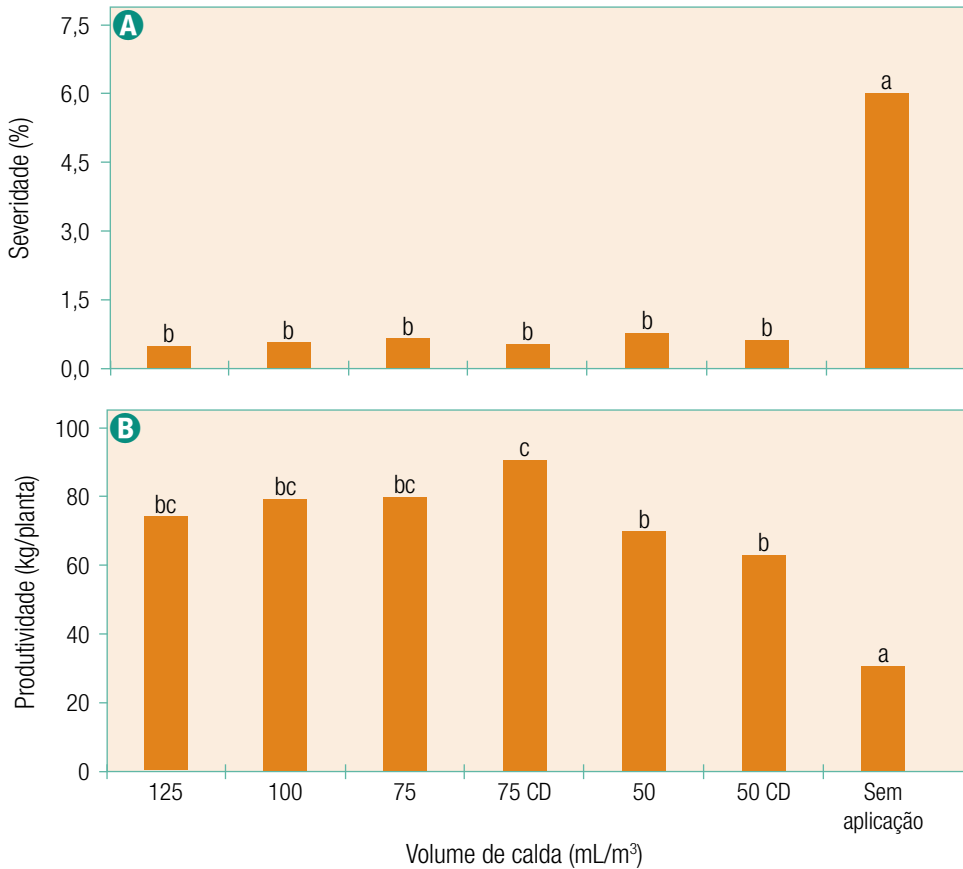


Figura 8.21 Severidade, em porcentagem (A) e produtividade, em kg/planta (B) de laranja 'Valência', em Mogi Guaçu-SP, pulverizadas com diferentes volumes de calda para o controle da pinta preta. Valores médios de três safras (2012/13 a 2014/15). Nos tratamentos com 75 e 50 mL/m³ foram realizadas correções das doses (CD) dos fungicidas adequando-as às utilizadas em 100 mL/m³. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Duncan; $p > 0,05$). Fonte: Silva (2013b); Silva Junior *et al.* (2016).

Dependendo da densidade das plantas, o volume de calda de 50 mL/m³ pode apresentar eficácia similar à obtida com o uso de volumes superiores, o qual deve ser utilizado para o controle da pinta preta apenas em pomares com a copa menos densa. Essa densidade pode ser indiretamente avaliada com a utilização de papéis hidrossensíveis adicionados no interior da planta (próximos ao tronco). A porcentagem de cobertura dos papéis no interior da copa decresce à medida que os volumes são reduzidos. Adotando-se 50 mL/m³ em plantas com a copa mais densa, a cobertura interna dos papéis pode ser inferior a 35% (Figura 8.22A), e a pulverização de fungicidas não será eficiente para o controle da pinta preta. Por outro lado, em plantas menos densa, a cobertura dos papéis no interior da árvore com aplicação desse volume de calda é superior a 35% (Figura 8.22B), e em geral, pode resultar em controle da doença similar ao obtido com a aplicação de fungicidas em volumes superiores.

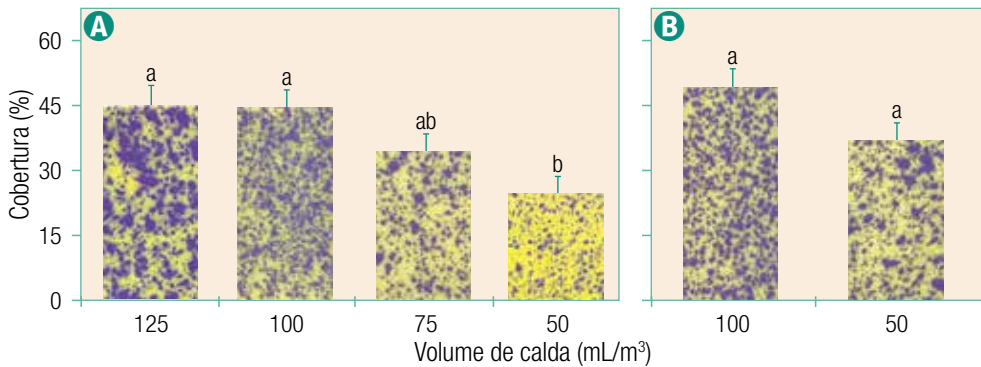


Figura 8.22 Cobertura da pulverização (%) avaliada em papéis hidrossensíveis adicionados no terço mediano e no interior da copa de laranjeiras ‘Valência’ (próximo ao tronco) submetidas a diferentes tratamentos com volumes de calda (125, 100, 75 ou 50 mL/m³) em Mogi Guaçu-SP (A) e Tambaú-SP (B). Papéis representam a média de cobertura obtida nos diferentes volumes de calda testados. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fonte: Silva (2013 a,b); Silva Junior *et al.* (2016).

Vale ressaltar que, para alcançar a máxima eficiência de controle da pinta preta, além do ajuste do volume de calda, o equipamento deve estar em boas condições de uso, regulado e calibrado, com a calda sendo aplicada em gotas que contenham diâmetro mediano volumétrico (DMV) em torno de 150 micra, a pressão de trabalho entre 100 e 200 psi, e a velocidade de aplicação que não ultrapasse 4,5 km/h.

A utilização dos papéis hidrossensíveis torna evidente o fato de haver uma diferença de cobertura do alvo interno em função da “barreira física” provocada pela parte externa da copa das plantas. Assim, os maiores volumes tendem a

ser mais eficientes em atingir os alvos internos principalmente em plantas mais densas. Entretanto, os volumes inferiores a 75 mL/m³ podem apresentar eficiência semelhante aos superiores, desde que os equipamentos estejam regulados e calibrados de modo a permitir uma boa penetração da calda em aplicações com velocidades não superiores a 4,5 km/h.

Em talhões menos enfolhados e em épocas do ano em que os frutos estão pequenos ou que já foram colhidos, a barreira física que impede a penetração da calda é reduzida e os tratamentos com os volumes mais baixos (50 mL/m³) poderiam apresentar boa cobertura nos alvos internos da copa. Em pomares paulistas, todas as aplicações para o controle da pinta preta, em geral, são realizadas com o mesmo volume de calda de setembro a abril. Contudo, o citricultor tem a opção de utilizar os papéis hidrossensíveis e, dessa forma, pode alterar o volume a ser utilizado nas diferentes épocas do ano, definindo períodos em que seria mais recomendado utilizar volumes de calda mais altos e épocas para os volumes mais baixos, inclusive podendo viabilizar a utilização de aplicações com volumes inferiores aos 50 mL/m³.

A utilização do volume adequado de calda para o controle da doença está diretamente associada com as reduções dos custos das aplicações. Em análise elaborada para dois pomares de laranjeiras 'Valência', o custo total de controle variou de US\$ 185,00/ha no tratamento com cinco aplicações de fungicidas no menor volume testado (50 mL/m³), em Tambaú-SP, a US\$ 410,00/hectare no tratamento com seis aplicações de fungicidas no maior volume de calda (125 mL/m³) utilizado em Mogi Guaçu-SP. As melhores relações custo-benefício foram obtidas com o volume de 75 mL/m³, com e sem correção de doses dos fungicidas, sendo que para cada US\$ 1,00 investido no controle da pinta preta, o citricultor deixa de perder, com a queda de frutos, em torno de US\$ 10,30 e US\$ 11,40 (Tabela 8.14).

Avaliação da cobertura das pulverizações

Papéis hidrossensíveis podem ser utilizados como ferramenta para ajudar o citricultor na definição dos volumes adequados de calda a serem utilizados e na avaliação da qualidade da cobertura dos órgãos da planta pelos fungicidas nas pulverizações. Na avaliação dessa cobertura, o tamanho e distribuição das gotas nos papéis hidrossensíveis colocados em diferentes pontos da copa das plantas pode ser um indicativo do potencial de controle eficiente da doença. O citricultor pode adotar como limiar aceitável uma cobertura por gotas ocupando cerca de 30-40% da superfície do papel colocado no interior da copa (próximo ao tronco). No caso de volumes de calda mais altos, as gotas podem apresentar coberturas dos papéis maiores que estas, mas isso não se reflete em controle mais eficiente da doença ao ponto de interferir na queda de frutos.

Tabela 8.14 Custo de controle químico da pinta preta dos citros, receita adicional e retorno obtido com o controle em pomar de laranja 'Valência' em Mogi Guaçu e Tambaú-SP, submetido a diferentes tratamentos com volumes de calda e doses de fungicidas.

Volume de calda (mL/m ³) ^a	Doses dos fungicidas (mg i.a./m ³)		Custo do controle (US\$/ha) ^c	Receita adicional (US\$/ha) ^d	Retorno do controle (US\$/ha) ^e
	Cobre ^b	Estrobilurina			
Mogi Guaçu					
125	113	4,6	410	2.960	2.550
100	90	3,7	341	3.031	2.690
75	68	2,8	272	3.077	2.805
75 CD	90	3,7	302	3.733	3.431
50	45	1,9	203	2.455	2.252
50 CD	90	3,7	263	2.141	1.878
Tambaú					
100	90	3,8	235	1.700	1.465
50CD	90	3,8	185	1.557	1.372

^aA correção das doses (CD) foi realizada nos tratamentos com 50 e 75 mL/m³ equivalendo-as às doses do tratamento com 100 mL/m³. ^bDoses de cobre consideradas em mg de cobre metálico/m³ de copa; ^cCusto dos fungicidas, do óleo mineral, da hora/máquina, com depreciação e combustível, e da hora/homem (valores médios praticados no estado de São Paulo, de 2011 a 2015) para seis aplicações em Mogi Guaçu e cinco em Tambaú, SP; ^dDiferença entre a produção de plantas tratadas em relação a de plantas não tratadas, multiplicada pelo valor da caixa de laranja de US\$4,65 (média Cepea 2011 a 2015, www.cepea.esalq.usp.br); ^eRetorno obtido em função da redução do prejuízo com a queda de frutos (receita adicional – custo do controle). Fontes: Silva (2013 a,b); Silva Junior *et al.* (2016). Taxa de conversão de US\$ 1,00 para R\$ 2,30 (valor de venda médio de 2011 a 2015 da Thompson Reuters, www.economia.uol.com.br/cotacoes/cambio/).

A análise de custos apresentada torna evidente a viabilidade da utilização de fungicidas para o controle da pinta preta dos citros e o retorno obtido com a utilização do controle químico, independentemente do volume adotado. Para todas as variáveis analisadas, foi possível observar que os tratamentos com 75 mL/m³ apresentaram resultados semelhantes ou melhores quando comparados com os volumes mais altos (100 e 125 mL/m³) que são utilizados pela maioria dos citricultores do estado de São Paulo. Esses resultados sugerem que a escolha do volume de 75 mL/m³ seria a opção de melhor custo-benefício para o controle da doença.

8.3.6 Utilização de óleo e adjuvantes nas aplicações

As pulverizações com fungicidas para o controle da pinta preta nos diferentes países onde ela ocorre são realizadas com adição de óleo mineral ou vegetal. Desde a década de 1960 os cúpricos já eram aplicados na África do Sul com a adição de óleo. Naquela época a dose recomendada era de 0,5% e, a partir da década de 1990, passou-se a utilizar

uma dose inferior (0,25%). No Brasil vários trabalhos foram feitos desde a década de 1990, e o óleo, na maioria dos ensaios, mostrou-se eficiente em aumentar o desempenho dos fungicidas. Resultados de experimentos com doses inferiores a 0,25% são variáveis, ora equivalentes, ora inferiores à dose recomendada. O óleo pode ser de origem mineral ou vegetal e nos dois casos há desempenho semelhante quando adicionados à calda fungicida (Tabela 8.15).

Tabela 8.15 Severidade (%) da pinta preta em frutos de laranjeiras doces tratadas com calda fungicida acrescida ou não de óleo, em diferentes experimentos realizados no estado de São Paulo.

Safra	Local	Variedade	Tratamentos ^a	Severidade (%)
1995/96	Conchal ^b	'Pera'	Benomil	0,69 b
			Benomil + OM (0,5%)	0,54 b
			Mancozebe	0,95 ab
			Mancozebe + OM (0,5%)	0,67 b
			Sem aplicações	1,24 a
1997/98	Conchal ^c	'Pera'	Benomil	0,57 b
			Benomil + OM (0,5%)	0,13 c
			Sem aplicações	0,93 a
1997/98	Conchal ^d	'Natal'	Benomil	1,28 b
			Benomil + OM (0,5%)	0,39 c
			Sem aplicações	2,52 a
2005/06	Mogi Guaçu ^e	'Natal'	Carbendazim + OM (0,25%)	2,08 b
			Carbendazim + OV (0,25%)	1,23 b
			Sem aplicações	5,42 a
2005/06	Mogi Guaçu ^e	'Natal'	Piraclostrobina + OM (0,125%)	1,06 b
			Piraclostrobina + OM (0,25%)	1,51 b
			Piraclostrobina + OM (0,5%)	1,24 b
			Sem aplicações	5,42 a
2009/10	Mogi Guaçu ^f	'Valência'	Trifl. ou Carb. + OM (0,25%) 2 ^a a 6 ^a pulv.	0,17 e
			Trifl. ou Carb. + OM (0,15%) 2 ^a a 6 ^a pulv.	0,32 d
			Trifl. ou Carb. + OM (0,25%) 2 ^a a 4 ^a pulv.	1,05 c
			Trifl. ou Carb. + OM (0,15%) 2 ^a a 4 ^a pulv.	1,56 b
			Sem aplicações	4,48 a

^aOM = óleo mineral emulsionável; OV = óleo vegetal emulsionável; Trifl. = pulverizações com trifloxistrobina e Carb. = pulverizações com carbendazim, acrescidas de OM da 2^a a 6^a pulverizações ou apenas da 2^a a 4^a, sendo as duas últimas sem OM. A primeira aplicação foi com cúprico sem OM. Médias de severidade seguidas por letras iguais no mesmo experimento não diferem entre si (Duncan, $p > 0,05$). ^bFeichtenberger *et al.* (1997); ^cAguiar-Vildoso *et al.* (1999); ^dSpósito *et al.* (1999); ^eFeichtenberger *et al.* (dados não publicados); ^fVinhas (2011).

O óleo deve ser de boa qualidade, apresentar a quantidade suficiente de emulsificantes, propiciar boa miscibilidade em água e mistura uniforme e estável. Além de melhorar o desempenho de fungicidas no controle da pinta preta, o óleo também tem ação direta no manejo de pragas. Por outro lado, pode apresentar efeitos negativos sobre o florescimento, acarretando diminuição de inflorescências e consequentemente redução da produção das plantas.

A não utilização do óleo nas duas últimas aplicações é uma prática adotada por alguns citricultores devido à necessidade de aplicação de enxofre para controle de ácaros, uma vez que a mistura de enxofre com o óleo é incompatível, causando fitotoxicidade. Entretanto, em áreas com alta quantidade de inóculo e em anos com elevado regime de chuvas, a não utilização do óleo no fim do período de controle, bem como a redução da dose ou substituição por outros adjuvantes pode não ser a melhor estratégia.

A utilização de adjuvantes em substituição ao óleo tem sido adotada por alguns citricultores visando reduzir custos, uma vez que a dose do óleo utilizada no controle de pinta preta é relativamente alta, e o seu custo, em geral, é maior quando comparado a outros adjuvantes. Entretanto, poucos estudos foram realizados com os diferentes adjuvantes disponíveis no mercado. Além do óleo, apenas os organosiliconados estão registrados no MAPA. No mercado nacional existem outros compostos que podem apresentar efeito adjuvante, mas eles não estão registrados no MAPA e, portanto, não podem ser recomendados para aplicações visando melhorar o espalhamento ou a adesividade de defensivos.

Alguns adjuvantes podem melhorar o processo de coalescência das gotas, possibilitando a formação de películas líquidas sobre o tecido por meio da redução da tensão superficial e do ângulo de contato das gotas sobre a superfície. Os organosiliconados apresentam alta capacidade de espalhamento e reduzem a tensão superficial da água. Essas características fazem com que esses, quando utilizados em volumes altos (200 mL de calda/m³ de copa), causem escorrimento e perda de efetividade do fungicida no controle da pinta preta. Por outro lado, quando os fungicidas são aplicados em volumes inferiores ao ponto de escorrimento teórico (100 mL/m³), os organosiliconados mostram eficiência equivalente ao óleo mineral e podem ser uma opção para o manejo da pinta preta (Figura 8.23).

Os ensaios com os volumes de 50 e 100 mL/m³ foram conduzidos por três safras, em Tambaú-SP, em pomares com alta intensidade da doença. Os resultados mostraram que a adição do óleo mineral ou do organosiliconado à calda de fungicida proporcionou eficiência similar, com a doença sendo mantida em níveis relativamente baixos nos dois tratamentos. No ensaio com 200 mL/m³ realizado em Mogi Guaçu-SP, apesar de o organosiliconado ter apresentado um controle inferior ao obtido com a adição do óleo mineral à calda, ambos se mostraram eficazes, uma vez que a doença permaneceu em níveis baixos comparados ao tratamento sem aplicações de fungicidas. Dessa maneira, esse organosiliconado (copolímero de poliéter e silicone) é uma opção de adjuvante a ser adicionado à calda fungicida pulverizada em volumes abaixo do ponto de escorrimento para o controle da pinta preta.

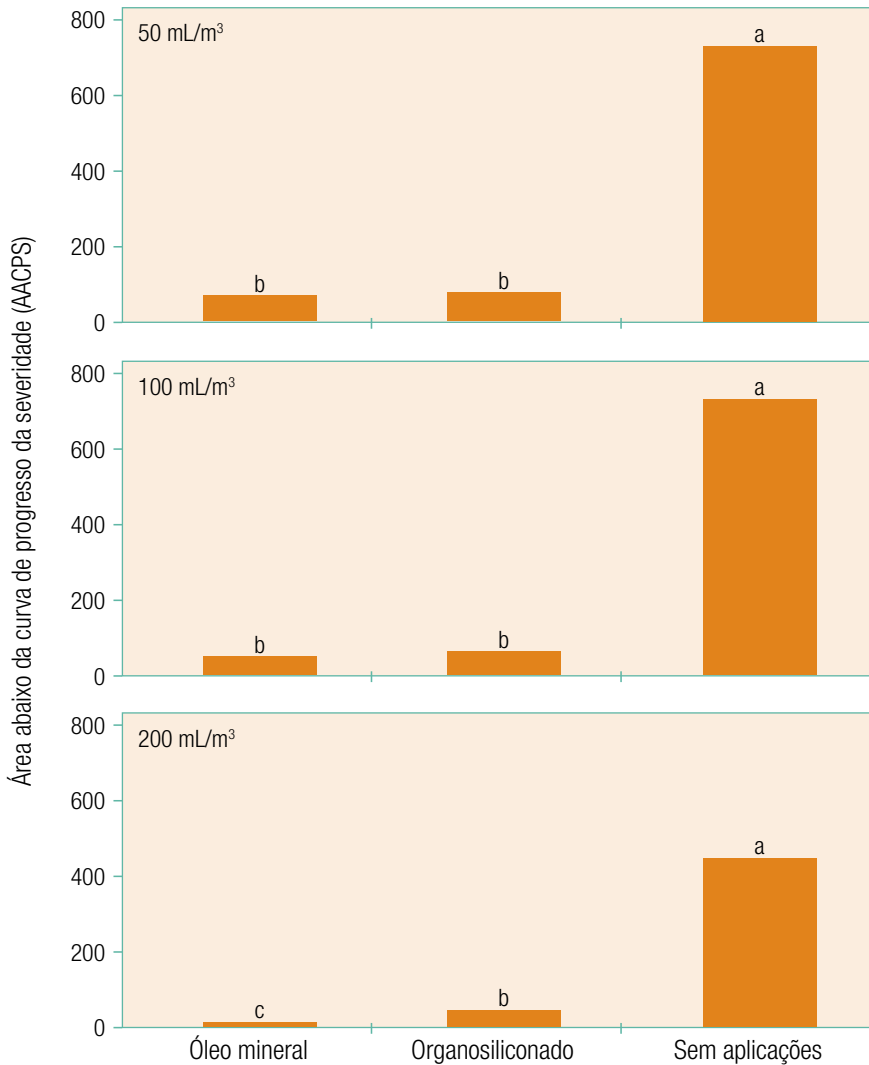


Figura 8.23 Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) da pinta preta em frutos de laranjeiras 'Valência' pulverizados com caldas fungicidas acrescida de óleo mineral (0,25% dos produtos comerciais Argenfruit ou Agefix) ou adjuvante organossiliconado copolímero de poliéter e silicone (0,025% do produto comercial Silwet) aplicados com volume de calda de 50, 100 ou 200 mL/m³ no controle da doença. Médias seguidas pela mesma letra na coluna em cada volume de calda não diferem entre si (Tukey; $p > 0,05$). Fontes: Silva (2013a) – 50 e 100 mL/m³; e Vinhas (2011) – 200 mL/m³.

8.3.7 Custos das pulverizações para o controle da doença

Em áreas com a presença da pinta preta, além dos danos com a queda de frutos, a depreciação da produção ou a inviabilização das exportações, o citricultor passa a ter um custo de produção maior, principalmente devido à necessidade da aquisição de equipamentos adequados e da realização de pulverizações frequentes para a redução da doença. O controle químico da pinta preta é a principal estratégia de manejo da doença em pomares por ser altamente eficiente. Dependendo da intensidade no pomar, pode-se, com o uso de fungicidas, reduzir em mais de 95% a incidência e severidade da pinta preta nos frutos e a queda prematura.

O custo de controle pode variar em função do número de aplicações, do intervalo entre elas, da dose dos produtos utilizados, da velocidade e do volume de calda fungicida aplicado. No estado de São Paulo, o custo com o controle varia de US\$ 185,00 a 455,00 por hectare. Esses valores podem ser considerados altos para os citricultores, entretanto eles, na verdade, são baixos quando relacionados com o retorno financeiro que esses tratamentos proporcionam ao evitar a queda de frutos. Os retornos variaram de US\$ 1.372,00/ha a US\$ 5.407,00/ha, uma vez que os fungicidas aplicados contribuíram para a manutenção de altas produtividades dos pomares (Tabela 8.16). Portanto, para cada US\$ 1,00 investido no controle da pinta preta, o citricultor pode deixar de perder de US\$ 3,40 a US\$ 26,00, evidenciando que o controle químico, é importante e lucrativo, já que a receita obtida é sempre maior que o valor investido. Essas aplicações também proporcionam indiretamente o controle de outras doenças, como a verrugose, melanose, rubelose e cancro cítrico. No caso do cancro cítrico, além dessas outras pulverizações com cúpricos podem ser necessárias em áreas onde o cancro cítrico é endêmico. Acresce-se, ainda, que nessas outras aplicações, em alguns casos, são adicionados produtos para controle de outras doenças e pragas. Portanto, em áreas onde a calda é usada para o controle de diferentes alvos, o custo total não deve ser considerado exclusivo da pinta preta.

No estado de São Paulo e sul do Triângulo Mineiro, estima-se que são gastos aproximadamente US\$ 57 milhões anuais com pulverizações para o controle da pinta preta. Para obter esse valor, levou-se em conta a composição do parque citrícola, em 2015, baseada no Inventário de Árvores e Estimativa de Safra de Laranja 2015/16 realizados pela Pesquisa de Estimativa de Safra do Fundecitrus (Fundecitrus, 2015), formado por 46% de variedades tardias, 33% de meia-estação e 21% de precoces, sendo 22% de pomares novos e 78% de pomares adultos. A incidência da doença foi considerada alta nas regiões Sul, Centro e Norte, onde a pinta preta está presente em maior proporção (>50% das plantas) e baixa nas regiões Sudoeste e Noroeste (<50% das plantas), segundo levantamento realizado pelo Fundecitrus em 2012. Quanto ao número médio de pulverizações, levou-se em consideração a ausência de aplicações em pomares novos e o maior número em pomares adultos de laranjeiras de maturação tardia (Tabela 8.17).

Tabela 8.16 Custo do controle químico da pinta preta, receita adicional obtida com a redução da queda prematura dos frutos e retorno financeiro do controle em quatro diferentes pomares de laranjeiras 'Valência' no estado de São Paulo, realizado com 5 ou 6 aplicações de fungicidas, nas safras 2011/12 e 2012/13.

Local (Fonte)	Pulverizações (nº/safra)	Período de controle (dias)	Intervalo entre aplicações (dias)		Volume de calda (mL/m ²)	Dose (mg i.a./m ³)		Custo do controle (US\$/ha) ^b	Receita adicional (US\$/ha) ^c	Retorno do controle (US\$/ha) ^d
			Cobre	Estrobilurina		Cobre ^a	Estrobilurina			
Américo Brasileiro (Del Rovere, 2013)	5	161-168	28-29	41-42	60	54	2,3	207	3.205	2.998
	6	189-196	28-29	41-42	60	26	2,3	210	5.617	5.407
Tambaú (Silva, 2013a)	5	188-195	27	41-43	100	90	3,8	235	1.700	1.465
	5	188-195	27	41-43	50	90	3,8	185	1.557	1.372
Mogi Guaçu (Silva, 2013b)	6	182-190	27	30-33	125	113	4,6	410	2.960	2.550
	6	182-190	27	30-33	100	90	3,7	341	3.031	2.690
	6	182-190	27	30-33	75	68	2,8	272	3.077	2.805
	6	182-190	27	30-33	50	45	1,9	203	2.455	2.252
Mogi Guaçu (Metzker, 2014)	5	176-183	30	39-41	100	90	3,8	380	2.311	1.931
	6	216-223	30	39-41	100	90	3,8	455	1.989	1.535

^aDoses de cobre consideradas em mg de cobre metálico/m³ de copa; ^bCusto dos fungicidas, do óleo mineral, da hora/máquina com depreciação do equipamento, do combustível, e da hora/homem com encargos trabalhistas (valores médios praticados no estado de São Paulo de 2011 a 2015); ^cDiferença entre a produção de plantas tratadas em relação à de plantas não tratadas, multiplicada por US\$ 4,65 (valor médio estimado da caixa de 40,8 kg pelo CEPEA de 2011 a 2015, www.cepea.esalq.usp.br); ^dRetorno financeiro do controle (receita adicional – custo do controle). Taxa de conversão de US\$ 1,00 para R\$ 2,30 (valor de venda médio de 2011 a 2015 da Thomson Reuters, www.economia.uol.com.br/cotacoes/cambio/). Fontes: Del Rovere (2013); Silva (2013a, b); Metzker (2014).

Tabela 8.17 Custo anual de controle da pinta preta no parque citrícola paulista.

Variedade (proporção)	Idade	Incidência da doença	Área (mil ha)	Pulverizações (nº médio)	Custo anual (US\$/ha) ^a	Custo anual total (milhões de US\$) ^a
Tardias (46%)	Pomar novo	Alta	33	Ausente	0.00	0
		Baixa	11	Ausente	0.00	0
	Pomar adulto	Alta	115	Seis	249.15	29
		Baixa	40	Quatro	167.66	7
Total de plantas tardias			200	Custo total tardias		35
Meia estação (33%)	Pomar novo	Alta	21	Ausente	0.00	0
		Baixa	10	Ausente	0.00	0
	Pomar adulto	Alta	74	Quatro	167.66	12
		Baixa	36	Três	126.92	5
Total de plantas meia-estação			142	Custo total meia-estação		17
Precoces (21%)	Pomar novo	Alta	15	Ausente	0.00	0
		Baixa	5	Ausente	0.00	0
	Pomar adulto	Alta	51	Duas	86.17	4
		Baixa	19	Uma	36.81	1
Total de plantas precoces			89	Custo total precoces		5
Total plantas parque citrícola			431	Custo total parque citrícola		57

^aValores estimados considerando o parque citrícola em 2014/15 (Fundecitrus, 2015). Taxa de conversão de US\$ 1,00 para R\$ 2,30 (valor de venda médio de 2011 a 2015 da Thomson Reuters, www.economia.uol.com.br/cotacoes/cambio/).

8.3.8 Resistência a fungicidas e estratégias antirresistência

Tipos de resistência

A resistência pode ser denominada cruzada, cruzada negativa ou múltipla. A **cruzada** ocorre quando os isolados do fungo apresentam resistência a mais de um fungicida do mesmo grupo químico com o mesmo mecanismo de ação. Ou seja, o isolado que é resistente a um fungicida, também será a vários outros, desde que compartilhem o mesmo mecanismo de ação. No entanto, o fenômeno inverso, denominado resistência **cruzada negativa**, que consiste no aumento de sensibilidade a um fungicida nos isolados resistentes a outro, já foi observado em determinadas situações. Já a **múltipla** ocorre quando os isolados do fungo apresentam resistência para dois ou mais fungicidas com mecanismos de ação diferentes. A resistência pode ocorrer devido a diferentes fatores, tais como:

- Alteração bioquímica do sítio alvo;
- Desenvolvimento de via metabólica alternativa;
- Degradação metabólica do fungicida;
- Exclusão ou expulsão do fungicida;
- Decréscimo na permeabilidade da membrana;
- Aumento na detoxificação.

De acordo com o Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (FRAC), o risco de ocorrência de resistência é dependente do patógeno/doença, do grupo químico do fungicida e também das medidas agronômicas adotadas pelo produtor. Os patógenos com baixa eficiência de disseminação a longas distâncias, baixa capacidade de multiplicação, baixa probabilidade de mutação ou persistência da mutação na população são classificados como de baixo risco. Normalmente são patógenos que ocorrem em sementes ou sobrevivem no solo e causam doenças monocíclicas (apenas um ciclo de infecção por safra). Por outro lado, patógenos que têm alta capacidade de multiplicação e disseminação, ocorrência frequente de reprodução sexuada e vários ciclos de infecção por safra são classificados como de alto risco. Os fungicidas multissítios, são classificados como de baixo risco e os fungicidas que atuam em sítio específico sujeitos a mutações simples são considerados de alto risco. Também deve levar em conta a intensidade da doença nos diferentes locais, ponderando as condições climáticas e as medidas agronômicas, que incluem fertilização, irrigação, práticas culturais e grau de resistência das diferentes variedades plantadas (Figura 8.24).

Conceito de resistência de fungos aos fungicidas

A resistência aos fungicidas é uma alteração herdável e estável em um fungo em resposta à aplicação de um fungicida, resultando em uma redução da sensibilidade deste ao produto.

A resistência de fungos aos fungicidas ocorre devido à sobrevivência e posterior dispersão dos isolados que já apresentavam os genes de resistência ou que sofreram mutação nesses genes. Essa alteração pode ocorrer em um único gene (monogênica) ou em vários (poligênica), principalmente no sítio primário de ação dos fungicidas.

A resistência vai se tornando mais grave à medida que os mutantes sobrevivem, mesmo com a aplicação do produto, e vão se dispersando, aumentando a proporção destes na população.

		Risco de resistência combinado					
		Baixo (= 1)	Médio (= 2)	Alto (= 3)			
Risco de fungicidas	Alto (= 6)	Benzimidazóis	6	12	18	Risco agrônomo	Alto (= 1)
		Estrobilurinas	3	6	9		Médio (= 0,5)
		Dicarboximidas	1,5	3	4,5		Baixo (= 0,25)
	Médio (= 4)	Triazóis	4	8	12	Alto (= 1)	
		Anilino pirimidinas	2	4	6	Médio (= 0,5)	
		Fenilpirrolos	1	2	3	Baixo (= 0,25)	
	Baixo (= 1)	Multissítios	1	2	3	Alto (= 1)	
		Cúpricos	0,5	1	1,5	Médio (= 0,5)	
		Ditiocarbamatos	0,25	0,5	0,75	Baixo (= 0,25)	
		Baixo (= 1)	Médio (= 2)	Alto (= 3)			
		Patógenos de sementes Patógenos de solo <i>Ustilago</i> sp.	<i>Septoria tritici</i> <i>Cercospora</i> sp. <i>Phytophthora infestans</i>	<i>Blumeria graminis</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Venturia inaequalis</i>			
Risco para patógeno/doença							

Figura 8.24 Classificação de risco de resistência combinado em função do grupo químico dos fungicidas, do patógeno/doença e do risco agrônomo. Fonte: FRAC (2014) modificado de acordo com Kuck (2005).

Para a detecção da resistência realizam-se estudos de sensibilidade denominados “baselines”, que consistem no monitoramento da resistência, comparando populações expostas e não expostas a determinado fungicida. Esse monitoramento é importante para verificar se as causas da ineficiência no controle estão associadas com resistência, além de verificar se as estratégias antirresistência estão apresentando resultados satisfatórios. O monitoramento deve ser iniciado antes da comercialização do fungicida, de modo a obter dados de sensibilidade das populações não expostas dos patógenos.

Resistência de *Phyllosticta citricarpa* a fungicidas

As estrobilurinas atuam sobre os fungos como inibidores de quinona oxidase (QoI), afetando a cadeia respiratória no complexo III, devido ao bloqueio do transporte de elétrons nas mitocôndrias e, que resulta na inibição da respiração. Sendo assim, bloqueiam a transferência de elétrons no citocromo *bc1*, na maioria dos casos, pela substituição no códon 143 do aminoácido guanina por alanina (G143A). Além dessa modificação, a glicina pode ser alterada por serina também no códon 143, a fenilalanina por leucina no códon 129 (F129L) e glicina por arginina no códon 137 (G137R). As alterações no códon 143 podem gerar isolados com altos níveis de resistência, já nos outros códons é considerada moderada e, em alguns casos, os demais fungicidas inibidores de quinona não são afetados por resistência cruzada.

Em várias culturas, a resistência às estrobilurinas já foi relatada para diferentes

patógenos, sendo considerada de alto risco (Tabela 8.18). Entretanto, para alguns patógenos como *P. citricarpa* esse risco é considerado baixo em função da existência de um *intron* específico imediatamente após o códon 143 no gene do citocromo *b*. O mesmo não foi observado para a espécie saprofítica *P. capitalensis* encontrada em citros, que é considerada de alto risco para a seleção de isolados resistentes.

A resistência aos benzimidazóis é considerada de alto risco (Tabela 8.18), sendo provocada principalmente pela substituição do ácido glutâmico por lisina, glicina ou alanina no códon 198 da β -tubulina. A substituição da fenilalanina por lisina no códon 200 na mesma proteína resulta em resistência moderada. Mesmo após 10 anos da interrupção do uso dos benzimidazóis em áreas onde foi detectada resistência, foram encontrados isolados resistentes de alguns patógenos de plantas. Em citros, isolados de *P. citricarpa* e *Colletotrichum gloeosporioides* (agente causal da antracnose e da podridão floral) já foram observados como resistentes aos benzimidazóis. Por outro lado, a baixa sensibilidade de *C. acutatum* (outro agente causal da podridão floral) aos benzimidazóis não ocorre devido às substituições de aminoácidos na β -tubulina, mas sim pelo fato do gene *CaBEN1* codificar uma proteína que exerce uma função essencial na resistência. Essa proteína é requerida na ativação da transcrição da *CaTUB1* (sequência da β -tubulina) e induz a super expressão desta, essencial para a resistência aos benzimidazóis.

Em relação aos fungicidas DMIs – inibidores da demetilação (grupo ao qual pertencem os triazóis) a resistência já foi encontrada em diferentes fungos em algumas culturas, sendo considerada de risco médio. Ao contrário dos benzimidazóis, a resistência a esse grupo de fungicidas é considerada quantitativa, ou seja, quando ela é observada há necessidade de aumentar a dose e/ou reduzir os intervalos de aplicação para obter um controle adequado. Até o momento não há relatos de resistência de *P. citricarpa* a fungicidas desse grupo.

Em relação aos cúpricos, ditiocarbamatos e ftalimidas, o risco de ocorrência de resistência é baixo, uma vez que esses fungicidas são considerados “multissítios”. Dessa forma, para ocorrer resistência precisariam ocorrer alterações em vários locais. Não há relatos de ocorrência de resistência de fungos a esses grupos químicos (Tabela 8.18).

Tabela 8.18 Grupo químico de fungicidas registrados para citros com os respectivos nomes comuns de fungicidas do grupo, modo de ação, sítio-alvo e código do Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (FRAC) e padrão de resistência dos fungos aos fungicidas dos diferentes grupos.

Nome do grupo	Nome comum	Modo de ação	Sítio-alvo e código	Resistência	Código FRAC
Estrobilurinas ou Qol (inibidores de oxidação de quinona)	azoxistrobina	C: Respiração	C3: Complexo III citocromo bc1 (ubiquinona oxidase) no sítio Qo (gene cyt b)	Risco alto Resistência já relatada para várias espécies. Sítio-alvo das mutações gene no cyt b são G143A, F129L e outras. Resistência cruzada pode ocorrer entre os fungicidas Qol.	11
	piraclostrobina				
	trifloxistrobina				
	cresoxim-metílico				
Triazóis ou DMI (Inibidores da demetilação)	difenoconazol	G: Biossíntese de esterol na membrana	G1: C14 demetilação na biossíntese de esterol (erg11/cyp51)	Risco médio Resistência é quantitativa e já relatada para várias espécies. Resistência cruzada pode ocorrer. Muitos mecanismos de resistência já são conhecidos incluindo mutações no gene cyp51 (erg 11) como V136A, Y137F, A379G e I381V, promotor cyp51, transportadores ABC e outros.	3
	tebuconazol				
Benzimidazóis ou MBC (Metil benzimidazol carbamato)	benomil	B: mitose e divisão celular	B1: β -tubulina (mitose)	Risco alto Resistência já relatada para várias espécies. Resistência cruzada pode ocorrer. Sítio-alvo das mutações no gene da β -tubulina, nos sítios E198A/G/K e F200Y.	1
	carbendazim				
	tiabendazol				
	tiofanato-metílico				
Inorgânico	oxicloreto de cobre	Multissítio com atividade de contato	M: Multissítio	Geralmente risco baixo Sem relatos de resistência desenvolvida para esses fungicidas.	M1
	hidróxido de cobre				
	óxido cuproso				
Ditiocarbamatos e relacionados	ferbam	Multissítio com atividade de contato	Multissítio com atividade de contato	Geralmente risco baixo Sem relatos de resistência desenvolvida para esses fungicidas.	M3
	mancozebe				
	manebe				
	metiram				
	propinebe				
	tiram				
ziram					
Ftalimidas	captana	Multissítio com atividade de contato	Multissítio com atividade de contato	Geralmente risco baixo Sem relatos de resistência desenvolvida para esses fungicidas.	M4
	folpete				

Estratégias antirresistência

Para o manejo da resistência, o FRAC-Brasil recomenda o manejo integrado das doenças envolvendo todos os métodos de controle, tais como: uso de material de propagação sadio, variedades resistentes, adubação equilibrada, irrigação adequada, controle químico e biológico, dentre outros. Além disso é recomendável para prolongar a vida útil dos fungicidas:

- Evitar uso repetido e isolado de um mesmo fungicida, utilizando mistura ou rotação de fungicidas com mecanismos de ação distintos;
- Utilizar o fungicida somente na época, na dose e nos intervalos de aplicação recomendados no rótulo/bula;
- Limitar o uso e a periodicidade de aplicação de fungicidas sistêmicos. As estrobilurinas aplicadas de forma isolada não devem exceder 1/3 (33%) do número total de aplicações por safra, e em associação com fungicida de outro modo de ação não devem ultrapassar 50%;
- Associar com as estrobilurinas somente fungicidas que promovam controle satisfatório da doença;
- Evitar tratamentos erradicantes;
- Aumentar a diversidade química.

O risco de resistência pode ser alterado em função da estratégia a ser adotada (Tabela 8.19).

Tabela 8.19 Classificação de risco de resistência em função da estratégia antirresistência adotada para uso de diferentes fungicidas nas aplicações.

Aplicação ^a				Estratégia antirresistência	Risco de resistência
1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a		
A	A	A	A	Repetição	
A	B	A	B	Alternância	
A+B	A+B	A+B	A+B	Mistura	
A+B	A	A+B	B	Mistura e alternância	
B	B	A+B	B	Combinação	
					Baixo

^aA, aplicação de fungicida com alto risco de resistência (por exemplo, benzimidazóis e estrobilurinas); B, aplicação de fungicida com baixo risco de resistência (por exemplo, cúpricos e ditiocarbamatos). Fonte: Dekker (1995); Ghini e Kimati (2000).

Na cultura dos citros, o uso racional principalmente de estrobilurinas, triazóis e benzimidazóis deve ser feito para evitar seleção de novas populações de fungos resistentes. O número de aplicações de fungicidas para o controle da pinta preta varia em função da

época de florescimento, do término do período chuvoso, do destino da produção (mercado ou indústria) e da intensidade da doença na área. Normalmente, no estado de São Paulo, são feitas entre quatro e seis aplicações, sendo as duas primeiras com cúpricos com ou sem adição de óleo e as demais com benzimidazóis ou estrobilurinas puros ou associados aos cúpricos ou ditiocarbamatos com óleo.

Para reduzir a possibilidade de resistência do patógeno aos fungicidas sistêmicos, pelo seu uso continuado, recomenda-se utilizar em citros no máximo duas aplicações de benzimidazóis ou de estrobilurinas por safra. Entretanto, em pomares cuja fruta é destinada à produção de suco para exportação, o uso dos benzimidazóis e ditiocarbamatos foi proibido a partir de 2012, o que contribuiu para aumentar o uso das estrobilurinas e, conseqüentemente, a pressão para a seleção de isolados resistentes às mesmas. Em consequência, os cúpricos passaram a ter uma importância ainda maior no manejo da doença, visando também proteger as estrobilurinas dessa possibilidade de resistência pelo patógeno, ampliando a vida útil desse produto que apresenta alta eficiência no controle da doença.

8.4 Demais estratégias de manejo nos pomares

8.4.1 Controle genético

No Brasil, vários trabalhos já foram realizados com diferentes genótipos de citros com o objetivo de selecionar materiais resistentes à pinta preta. Entretanto, praticamente todos os genótipos das principais espécies cultivadas no Brasil, avaliados no campo, mostraram-se suscetíveis, com níveis variados de severidade da doença nos frutos. Apenas a limeira ácida ‘Tahiti’ é relatada como uma variedade de valor comercial resistente à pinta preta. O fungo pode até ser encontrado sobre os tecidos de ‘Tahiti’, mas não se reproduz e, portanto, os frutos dessa espécie não são considerados fontes de inóculo para novas infecções. A laranjeira azeda, utilizada principalmente como porta-enxerto, já foi relatada como resistente à pinta preta. Entretanto, em avaliações realizadas no Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG-Citros) do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”, do Instituto Agrônomo de Campinas, em Cordeirópolis-SP, foram observados sintomas em alguns materiais de laranjeira azeda. A classificação das espécies de citros suscetíveis e resistentes à doença encontra-se no capítulo 4 “Hospedeiros”.

No estado de São Paulo, os estudos para selecionar variedades de laranjeiras doces menos suscetíveis à pinta preta foram iniciados na década de 1990, logo após a detecção da doença. Em 1999 e 2000, em Cordeirópolis-SP, foram avaliados 15 materiais, dos quais 10 eram de laranjeira ‘Pera’. Todos se mostraram moderadamente suscetíveis à pinta preta (Tabela 8.20). Em Rincão-SP e Tambaú-SP, na década de 2000, outros 65 diferentes genótipos de laranjeiras doces se mostraram suscetíveis, sendo alguns considerados mais suscetíveis, tais como ‘Amares’, ‘China Sra – 547’, ‘Kawatta’, ‘Orange Clanor’, ‘Ovale Mut’, ‘Setubalense’, ‘Valência Campbell’, ‘Vera 97’ e ‘Yoshida Navel’ (Tabela 8.20). Em 2007 e

2008, em Cordeirópolis-SP e Conchal-SP, todos os 36 materiais de laranjeiras doces avaliados também se mostraram suscetíveis às infecções por *P. citricarpa*. Entretanto, nesses ensaios a ‘Valência Campbell’ apresentou suscetibilidade moderada, diferentemente do observado nos estudos de Rincão e Tambaú-SP, nos quais a ‘Valência Campbell’ foi altamente suscetível. Além disso, a laranja ‘Lamb Summer’ apresentou mais sintomas nesse campo experimental de Cordeirópolis-SP, em 2007 e 2008, comparado com as avaliações feitas no mesmo local em 1999 e 2000. Essa variação de severidade em frutos da mesma variedade pode estar associada com a idade das plantas nos diferentes campos experimentais, sendo que nas mais velhas, em geral, há maior acúmulo de inóculo, e também pode estar associada a condições climáticas (Tabelas 8.20).

Tabela 8.20 Severidade da pinta preta dos citros em diversas variedades ou genótipos de laranja doce cultivadas em diferentes municípios do estado de São Paulo.

Variedade/Genótipo	Severidade (%) ^a	Fonte	Variedade/Genótipo	Severidade (%) ^a	Fonte
Amares	3,57	(b)	Folha Murcha	1,59	(c)
Artebanta	1,99	(c)	Fukuraha	1,60	(b)
Barlerin	2,10	(b)	Fullameuda	1,75	(b)
Bedewells Bar	2,08	(b)	Grada	2,14	(b)
Belladona	1,06	(b)	Hale	2,32	(c)
Berna	3,56	(c)	Hall	1,70	(b)
Berry Valência	2,09	(b)	Hamlin	1,69	(b)
Berry Valência	2,28	(c)	Hart's Late	2,37	(c)
Biondo Corigliano	1,12	(b)	Ibicaba	1,15	(c)
Blood Oval	1,45	(c)	Imperial	1,66	(c)
Boukhobza	1,93	(b)	João Nunes	1,55	(b)
Cadenera	1,87	(b)	Kawatta	2,66	(b)
Casa Grande	2,06	(b)	Lamb Summer	1,90	(a)
Castellana	1,47	(b)	Lamb Summer	8,59	(c)
Chafei Late Valência	2,05	(c)	Lima Verde	2,21	(c)
China	1,76	(b)	Lue Gin Gong	2,11	(b)
China Sra - 547	3,00	(b)	Lue Gin Gong	2,54	(c)
<i>Citrus sinensis</i>	1,48	(c)	Maçã	1,94	(b)
Coco	4,01	(c)	Mayorca	1,90	(b)
Comuna	2,40	(b)	Murcha cv. Faz. Ipitangas	3,92	(c)
Corsa Tardia	2,10	(a)	Murtera	1,58	(b)
Corsa Tardia	2,46	(c)	Natal	2,41	(b)
Diva	1,99	(c)	Natal	2,63	(c)
Doblefina	0,95	(b)	Natal Bebedouro	1,45	(c)
Dom João	1,60	(b)	Natal cv. África do Sul	6,46	(c)
Evora	2,36	(b)	Natal Murcha	1,40	(b)
Finike	2,12	(b)	Natal Murcha	5,41	(c)
Folha Murcha	2,25	(b)	Natal Murcha 2	4,04	(c)

Continua

Tabela 8.20 Continuação

Variedade/Genótipo	Severidade (%) ^a	Fonte	Variedade/Genótipo	Severidade (%) ^a	Fonte
Natal Murcha 3	3,74	(c)	Skaggs Bonanza Navel	1,71	(b)
Natal Pi-587	1,53	(b)	Sokototo	2,30	(b)
Navel Sangri cv. Dieberger	1,42	(c)	Sr. Antunes	2,50	(b)
Navelina	1,15	(b)	Strand	1,86	(c)
Newhall Navel	2,05	(b)	Sweet	2,50	(b)
Olivelands	2,23	(b)	Telde	1,67	(b)
Orange Clanor	2,86	(b)	Tobias	1,44	(c)
Ouro	1,15	(c)	Torregrossa	1,70	(b)
Ovale 968	1,70	(a)	Torregrosso	1,59	(b)
Ovale de Siracusa	4,26	(c)	Tua	1,62	(b)
Ovale Mut.	2,62	(b)	Tua Mamede	2,20	(b)
Ovale San Lio 969	1,70	(a)	Vaccaro Blood	1,51	(b)
Pele de Moça	4,32	(c)	Vaccaro	0,66	(c)
Pera	2,46	(b)	Vainiglia	1,96	(b)
Pera Bianchi	1,30	(a)	Valência	1,98	(c)
Pera Caire	4,81	(c)	Valência 457	1,50	(b)
Pera Coroada	3,81	(c)	Valência 74	1,86	(b)
Pera Dibbern C.V.	1,50	(a)	Valência 77	1,38	(b)
Pera EEL	1,80	(a)	Valência Betti	1,33	(c)
Pera IAC 2000	1,90	(a)	Valência Campbell	2,98	(b)
Pera Olímpia 15161	1,60	(a)	Valência Campbell	1,06	(c)
Pera Pirangi	2,86	(c)	Valência Campbell Bahia	2,84	(c)
Pera Preimunizada	1,61	(c)	Valência cv. EEPRS	2,70	(c)
Pera Preimunizada 1212	1,30	(a)	Valência Late	2,34	(c)
Pera Preimunizada 1743/82	1,60	(a)	Valência Murcha Severinia SP	2,82	(c)
Pera R. Gullo 1569/244	1,80	(a)	Valência Olinda	1,52	(c)
Pera R. Gullo 1570/246	1,50	(a)	Valência Palida Israel	1,35	(c)
Pera Vimusa	1,30	(a)	Valência Rohde Red 99	1,50	(b)
Pingo de Ouro	2,71	(c)	Valência Temprana	1,98	(b)
Prata Lima	1,86	(b)	Valência Tuxpan	1,19	(c)
Redonda CN	1,20	(a)	Vera 97	3,92	(b)
Rotuna	2,29	(b)	Verde de Espanha	2,35	(b)
Sanford	1,60	(b)	Verna	1,83	(c)
Sanguínea	2,87	(c)	Werley Valência	1,12	(c)
Sanguinelli	0,96	(c)	Werley Valência	1,97	(b)
São Miguel	1,26	(b)	Westin	1,93	(b)
São Miguel	1,39	(c)	Whit's Late Valência	1,31	(c)
Setúbal	3,94	(c)	Yoshida Navel	2,56	(b)
Setubalense	2,77	(b)			

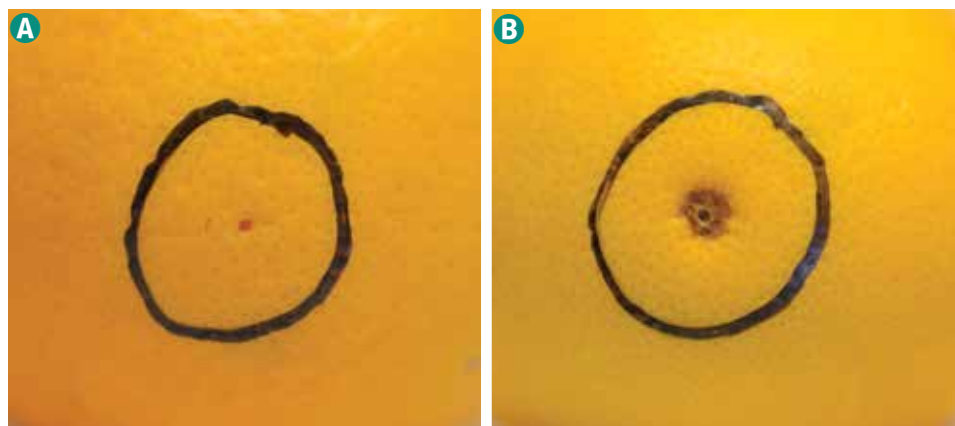
^aNa cor verde, os genótipos com severidade inferior a 1,0%; em amarelo, entre 1,0 e 2,5%; em vermelho, superior a 2,5%. Fonte (a), genótipos avaliados em Cordeirópolis-SP, sendo considerado o maior valor de severidade nas avaliações de 1999 e 2000; Fonte (b), genótipos avaliados em Rincão-SP e Tambaú-SP, sendo considerado o maior valor de severidade nas avaliações de 2007 e 2008 nos dois municípios; Fonte (c), genótipos avaliados em Conchal-SP e Cordeirópolis-SP, sendo considerado o maior valor de severidade nas avaliações de 2007 e 2008 nos dois municípios. Fonte: Schinor *et al.*, 2002b (a); Sousa & Goes, 2010 (b); Rossêto, 2009 (c).

Dentre as variedades comerciais de laranjeiras doces cultivadas no Brasil, as que mais apresentam problemas com a pinta preta são as variedades de maturação tardia, tais como 'Valência' e 'Natal'. Entretanto, o nível de suscetibilidade das variedades 'Hamlin' (precoce), 'Pera' (meia-estação) e 'Valência' (tardia) é similar quando se considera a taxa de progresso temporal da doença em pomar comercial, e a incidência mediante inoculação artificial. Os danos causados pela pinta preta são maiores nas variedades tardias, pois os frutos permanecem nas plantas por mais de 12 meses, favorecendo a maior expressão dos sintomas da doença e aumentando a queda prematura de frutos.

Nas pesquisas com materiais resistentes utilizando o melhoramento genético clássico não se encontrou variedades de espécies comerciais com resistência para a pinta preta. Na Espanha, plantas de laranja doce foram transformadas geneticamente e passaram a apresentar resistência a diferentes pragas e patógenos, incluindo *P. citricarpa*. As plantas cítricas transformadas apresentam supressão do gene da limoneno sintase (*CitMTSE1*). Em condições de laboratório, foi possível observar que os frutos destacados de plantas transformadas, quando feridos e inoculados, mostraram-se mais resistentes às infecções causadas por *P. citricarpa*, quando comparados com frutos de plantas não transformados (Figura 8.25). Por meio da PCR em tempo real foi possível identificar maior quantidade de DNA de *P. citricarpa* em frutos não transformados quando comparados aos frutos geneticamente modificados.

Experimentos com plantas geneticamente modificadas

Plantas geneticamente modificadas estão sendo avaliadas para resistência às infecções naturais de *P. citricarpa*, em condições de alta intensidade de inóculo, em dois experimentos iniciados em dezembro de 2013 e novembro de 2014. Os experimentos foram implantados pelo Fundecitrus em duas áreas mantidas sob regulamentação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), em propriedades comerciais de citros nas regiões Centro e Sul do estado de São Paulo. A suscetibilidade ou resistência de 15 materiais vem sendo avaliada, sendo 10 deles transformados com a expressão alterada do gene *CitMTSE1* (laranjas doces 'Pineapple' e 'Navelina'). Também estão sendo avaliados nesses experimentos três materiais suscetíveis: laranjeiras 'Pineapple', 'Navelina' e 'Natal' não transformadas; e dois materiais considerados resistentes: limeira ácida 'Tahiti' e laranjeira azeda (Figura 8.26).



Fotos: Vanessa Kava-Cordeiro

Figura 8.25 Fruto de laranjeira doce 'Navelina' transformada geneticamente (A) por meio da supressão do gene da limoneno sintase (*CitMTSE1*), sem sintomas de pinta preta, e fruto de 'Navelina' não transformada (B), com sintomas de pinta preta. Os frutos foram feridos e inoculados com *Phyllosticta citricarpa* em condições de laboratório em Valência, Espanha. Fonte: Kava-Cordeiro *et al.* (2012).



Fotos: Gleison O. Santos

Figura 8.26 Campos experimentais nas regiões Centro (A-B) e Sul (C-D) do estado de São Paulo para a avaliação da resistência de diferentes materiais de laranjeiras doces transformados com a supressão do gene da limoneno sintase (*CitMTSE1*).

8.4.2 Controle biológico e alternativo

O controle biológico de doenças de plantas evoluiu consideravelmente nos últimos anos. A partir da década de 2000, as grandes empresas multinacionais, que antes tinham seus portfólios constituídos principalmente por defensivos agrícolas, passaram a produzir e comercializar produtos biológicos (principalmente fungos e bactérias) e alternativos (extratos de micro-organismos, plantas, algas e outros).

No controle biológico, quando um micro-organismo tem potencial como um agente de biocontrole, é importante entender quais os mecanismos de ação que estão envolvidos. Dentre eles, podemos citar: I) **parasitismo** – caracterizado por uma relação nutricional entre os dois organismos, sendo um deles o parasita que obtém os nutrientes do outro, o parasitado (que nesse caso seria o patógeno); II) **competição** – os micro-organismos competem entre si para obter nutrientes, água, espaço, dentre outros, sendo a competição por nutrientes uma das mais importantes, uma vez que os fungos fitopatogênicos são sensíveis à falta de alguns nutrientes; III) **antibiose** – os metabólitos produzidos por um

organismo têm efeito danoso sobre o outro. Essas substâncias podem ser metabólitos tóxicos, antibióticos, enzimas, dentre outros com ação sobre os patógenos; e IV) **indução de resistência** – as plantas quando tratadas com agentes de biocontrole são induzidas a produzir diferentes compostos relacionados com resistência aos patógenos e, quando um determinado patógeno tenta infectá-la, os mecanismos de defesa da planta já estão em atividade ou são mais rapidamente ativados.

Para o controle da pinta preta, o primeiro ponto a ser considerado é o entendimento de como um determinado agente de biocontrole poderia atuar sobre *P. citricarpa*. Como o patógeno sobrevive em folhas em decomposição, em ramos secos, em folhas e frutos na planta, é preciso viabilizar as metodologias para quantificar a sobrevivência do agente de biocontrole bem como a possível redução do inóculo de *P. citricarpa* nas diferentes partes das plantas e, dessa forma, concluir sobre o potencial desses micro-organismos no controle da doença.

Diferentes trabalhos já foram desenvolvidos em laboratório e alguns deles em pequenas parcelas no campo com agentes de biocontrole de *P. citricarpa*. Alguns isolados de bactérias do gênero *Bacillus*, de fungos do gênero *Trichoderma* e de *Saccharomyces cerevisiae*, apresentaram atividade antifúngica contra *P. citricarpa*. Entretanto, o uso desses micro-organismos deve ser mais explorado em trabalhos de longo prazo com o objetivo de esclarecer sua viabilidade. Caso a eficiência desses micro-organismos seja baixa em áreas onde há aplicações frequentes de defensivos, eles poderiam ser direcionados para o cultivo orgânico ou para áreas com baixa quantidade de inóculo. Como o controle químico é muito eficiente e pode reduzir em até 95% os sintomas da pinta preta, sua substituição pelo controle biológico é pouco provável em larga escala. Uma alternativa a ser avaliada em pomares comerciais seria a redução do número de aplicações dos fungicidas e a inclusão do controle biológico ou alternativo no manejo da doença, de modo a buscar uma produção mais sustentável e reduzir riscos de problemas com resíduos ou contaminações, oriundos do mau uso dos fungicidas.

O agente de biocontrole, por se tratar de organismo vivo, não deve ser comparado ao fungicida convencional, que é uma molécula química capaz de inativar ou inibir o patógeno rapidamente. A eficácia do controle biológico deve ser avaliada ao longo do tempo, pois, além de controlar o patógeno no momento da aplicação, o agente de biocontrole deve sobreviver e se multiplicar para proteger a planta de maneira eficiente por longos períodos. Antes de fazer uso desses produtos biológicos, recomenda-se definir primeiramente em que parte do ciclo da doença o agente de biocontrole deve atuar

Avaliação de produtos biológicos ou alternativos no manejo de pinta preta

Alguns extratos de plantas ou de micro-organismos foram testados em aplicações sobre as folhas de citros em decomposição no solo, com redução na produção de ascósporos de *P. citricarpa* em alguns casos. Esses produtos apresentam potencial na redução do inóculo do fungo produzido nas folhas caídas e nos ramos secos. Contudo, a eficiência desses produtos, bem como a análise de custo-benefício de sua utilização ainda não está bem definida. Portanto, devido à ausência de resultados mais consistentes, eles não vêm sendo utilizados em larga escala para o manejo da pinta preta nos pomares paulistas.

(sobrevivência, disseminação, infecção, colonização ou reprodução). Posteriormente, escolher o local e como o agente de biocontrole deverá ser aplicado, potencializando sua capacidade saprofítica e tornando-o eficaz para o controle de *P. citricarpa*. Alguns agentes de biocontrole são extraídos de solos e aplicados para controle de doenças de parte aérea, sendo mantidos em um hábitat diferente do seu natural, dificultando a sua sobrevivência. Muitas vezes são micro-organismos que não estão adaptados a ambientes com altos índices de radiação e luz e podem perder sua capacidade de competição, tornando-se ineficazes no controle da doença, ou sobrevivendo por períodos curtos sobre os tecidos das plantas.

8.5 Manejo pós-colheita

Para a comercialização dos frutos cítricos *in natura*, é necessário que, após a colheita, eles sejam beneficiados em *packinghouses*, também conhecidos como barracões de beneficiamento ou casas de embalagem. Durante o beneficiamento ocorre a limpeza, sanitização, seleção, padronização e empacotamento da fruta. Normalmente, na seleção são descartados os frutos que estão fora dos padrões de tamanho, coloração, com danos mecânicos e sintomas de doenças. O rigor dos tratamentos pré e pós-colheita e da seleção dos frutos na linha de beneficiamento dependerá da exigência do destino final dos frutos, exportação ou mercado interno.

Para a exportação de frutos cítricos *in natura* é obrigatório que estes não apresentem sintomas da doença. Os produtores, as unidades de produção (UPs) e os *packinghouses* devem estar cadastrados. As UPs cadastradas para exportação devem estar sob acompanhamento oficial, com inspeções de campo feitas durante todo o ciclo de produção, para assegurar que elas não apresentam a doença. Em caso de detecção da doença, a UP contaminada é excluída do processo de exportação. Caso a doença não seja detectada nas inspeções de campo, é feita, na pré-colheita, a amostragem de um fruto por planta em 1% das plantas de cada UP, sendo as amostras encaminhadas a laboratórios oficiais para realização do teste de indução de sintomas da pinta preta. Se o resultado for positivo, isto é, se os frutos apresentarem sintomas durante a realização do teste, a UP correspondente é excluída do processo de exportação. As UPs com laudo negativo para *P. citricarpa* após o teste de indução são inspecionadas novamente para verificar se não há a presença de frutos sintomáticos na planta. Caso se observem frutos com sintomas, estes são coletados e encaminhados ao laboratório para diagnóstico e, se o resultado for positivo, a UP estará excluída do programa de exportação daquele ano. No *packinghouse* também há acompanhamento oficial em diferentes fases da linha de beneficiamento para assegurar que os frutos destinados ao mercado externo não apresentem sintomas da doença. Todo o lote é descartado caso haja presença de frutos sintomáticos (detalhes no capítulo 9 “Procedimentos para a exportação”).

Para o mercado interno admite-se a presença de frutos com lesões, porém dependendo da incidência e da severidade dos sintomas nos frutos comercializados, eles podem sofrer deságio no seu valor. A partir de 2009, por meio da Instrução Normativa nº 1 de 05/01/2009/MAPA, que modificou os artigos 1º e 4º da Instrução Normativa nº 3 de 09/01/2008/MAPA, ficou permitido o comércio dos frutos com lesão de pinta preta no mercado interno, inclusive para Unidades da Federação livres da doença, desde que isentos de folhas e galhos, e que sejam procedentes de UP cadastrada no Sistema de Mitigação de Risco (SMR) da pinta preta ou mancha preta dos citros. O SMR é um conjunto de medidas de controle, que devem ser seguidas na UP com registro de pinta preta, como poda de ramos em plantas contaminadas, irrigação para evitar a queda de folhas e aplicação de fungicidas, dentre outras.

Com relação à escolha dos talhões a serem colhidos para a comercialização de frutas frescas, deve-se optar por pomares mais jovens, pois, além de terem frutos de melhor qualidade e tamanho para o consumo *in natura* não apresentam histórico de ocorrência da pinta preta ou ainda apresentam baixo inóculo inicial da doença nas poucas plantas afetadas.

Depois da escolha da área a ser colhida, a medida mais efetiva para reduzir o desenvolvimento de sintomas de pinta preta na pós-colheita é a aplicação preventiva de fungicidas durante as fases de desenvolvimento dos frutos no campo. O controle químico preventivo da doença, que deve ser iniciado logo após a queda de pétalas das flores e ser estendido até o final das chuvas, irá reduzir drasticamente a incidência e severidade da doença nos frutos colhidos. Entretanto, mesmo com um programa de aplicação de fungicidas, havendo alta quantidade de inóculo e condições climáticas favoráveis para infecção, será muito difícil reduzir a zero a incidência e severidade de pinta preta nos frutos colhidos, assim como erradicar as infecções quiescentes que ocorreram no campo e que podem evoluir para lesões pós-colheita durante o armazenamento, transporte e comercialização dos frutos.

Em pomares com histórico da doença, os melhores programas de tratamento químico apresentam uma eficiência de redução da incidência e severidade da pinta preta de até 97% em relação à ausência de controle (ver item 8.3 “Controle químico”). Menores valores de incidência e severidade de pinta preta nos frutos foram obtidos, principalmen-

Medidas adotadas antes e durante a colheita que reduzem a doença na pós-colheita

A adoção rigorosa e conjunta de todas as medidas de manejo da doença no campo, antes e durante a colheita, é essencial para reduzir a incidência de frutos com sintomas e a severidade da pinta preta nos mesmos para sua comercialização *in natura*, uma vez que as medidas adotadas após a colheita pouco interferem no controle das infecções que já ocorreram no campo (pouco ou nenhum efeito curativo) e na expressão dos sintomas nos frutos já infectados. Entre as medidas adotadas antes e durante a colheita, destacam-se:

- 1) Colher frutos somente de áreas livres ou com baixa incidência da doença;
- 2) Pulverizar as plantas com fungicidas durante todo o período de suscetibilidade dos frutos associado à ocorrência de chuvas;
- 3) Antecipar a colheita dos frutos;
- 4) Colher somente frutos sem os sintomas da doença (colheita seletiva).

te, nos tratamentos com volume de calda acima de 75 mL/m³ de copa, maior número de aplicações (iniciando na queda de pétalas e finalizando no final do período chuvoso) e intervalos entre aplicações não superiores a 25 dias para fungicidas cúpricos e 35 dias para estrobilurinas e benzimidazóis. Dessa forma, para a produção de laranja para o mercado de frutas frescas, os pomares devem receber um tratamento químico diferenciado contra pinta preta e mais rigoroso em relação ao tratamento adotado em pomares cuja produção destina-se ao processamento nas indústrias de suco, onde se busca apenas evitar a queda prematura dos frutos causada pela doença.

Quando possível, a antecipação da colheita evita que os frutos fiquem expostos por muito tempo à infecção e subsequente expressão dos sintomas. Quanto mais tardia for a colheita, maior será a incidência de frutos colhidos com sintomas de pinta preta. Diversos trabalhos mostraram que, no estado de São Paulo, tanto a incidência quanto a severidade de pinta preta nos frutos aumentam gradativamente de março a dezembro à medida que a temperatura e a radiação solar se elevam. Esses fenômenos aceleram a maturação dos frutos, pelo aumento gradual de sólidos solúveis totais, diminuição da acidez total do suco e pela degradação da clorofila na casca dos frutos. A antecipação da colheita em apenas um mês pode resultar na redução de 60 a 80% da incidência de frutos colhidos com sintomas da doença, sendo esse efeito menor quanto mais próximo da maturação estiver o fruto (Figura 8.27).

A colheita seletiva apenas dos frutos sadios em plantas assintomáticas ou de setores da copa da planta com menor probabilidade de ter frutos infectados é uma medida complementar para

a redução da quantidade de frutos doentes colhidos. Em pomares com histórico da doença e sem controle químico, a maior incidência de frutos sintomáticos é encontrada nos setores inferior e médio da copa, e resulta das infecções por ascósporos e, principalmente, por conídios produzidos nos ramos e frutos anteriormente infectados, que por serem dispersos pelo escorrimento da água geram um gradiente de doença de baixo para cima na copa. Quando a doença é recente no pomar e este é submetido a um bom controle químico, os maiores níveis de incidência geralmente ocorrem na parte superior da copa, principalmente, em plantas muito altas em que a pulverização no topo é ineficiente, com um gradiente de doença de cima para baixo.

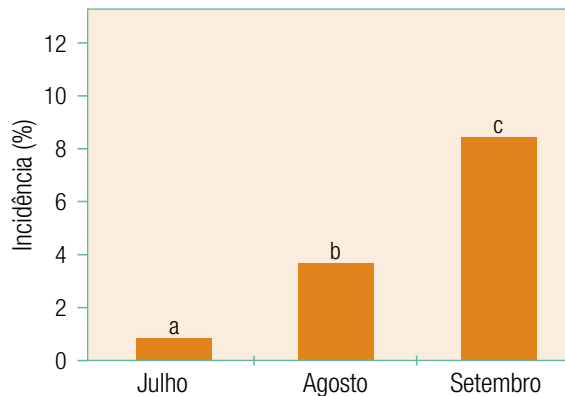


Figura 8.27 Incidência média (%) de frutos de laranjeiras 'Valência' e 'Natal' com sintomas de pinta preta após a colheita nos meses de julho, agosto e setembro de 2012 e 2013, em talhões com controle químico. Médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente entre si (Scott Knot; $p \leq 0,05$). Fonte: Castilho (2015).

Entretanto, a colheita seletiva é uma medida bastante laboriosa e custosa. Ela também não garante que ao final do processamento os sintomas originados de infecções quiescentes nos frutos assintomáticos colhidos não se expressem após a colheita. A viabilidade econômica da adoção dessa medida dependerá muito do valor pago pela fruta, do deságio para os frutos com sintomas e da incidência de plantas e frutos com lesões de pinta preta no pomar. Quanto menos plantas e frutos doentes, maior o rendimento operacional da colheita seletiva e menor a probabilidade de os frutos colhidos estarem infectados.

Após a colheita, medidas complementares para a redução da incidência de frutos sintomáticos envolvem criteriosa seleção dos frutos no *packinghouse*, com descarte dos frutos com sintomas de pinta preta. Recomenda-se que a seleção seja feita sempre após o processo de limpeza e enceramento dos frutos, quando as lesões de pinta preta ficam mais evidentes e a sua visualização pelos operadores é favorecida pelo maior contraste entre a cor amarela ou laranja da casca do fruto, e a cor das lesões típicas de pinta preta, que apresentam a borda preta ou avermelhada e o centro de cor palha com pontos negros.

A eficácia da retirada de frutos com sintomas de pinta preta no *packinghouse* é limitada devido aos sintomas nos frutos serem variáveis, com algumas lesões muito pequenas (1 a 5 mm de diâmetro), podendo ser confundidas com lesões causadas por outros patógenos de citros ou injúrias provocadas por danos mecânicos e insetos, ou não serem sequer detectadas.

Frutos com alta severidade de sintomas são facilmente identificados e descartados na etapa de seleção e descarte no *packinghouse*, predominando após o processamento os frutos com baixa severidade, que devido ao reduzido tamanho das lesões não foram retirados, justamente pela dificuldade de visualizá-los na linha de processamento. Portanto, quanto menor for a severidade dos sintomas nos frutos, menor será a eficiência da seleção e descarte de frutos sintomáticos no *packinghouse* na redução de frutos sintomáticos (Figura 8.28).

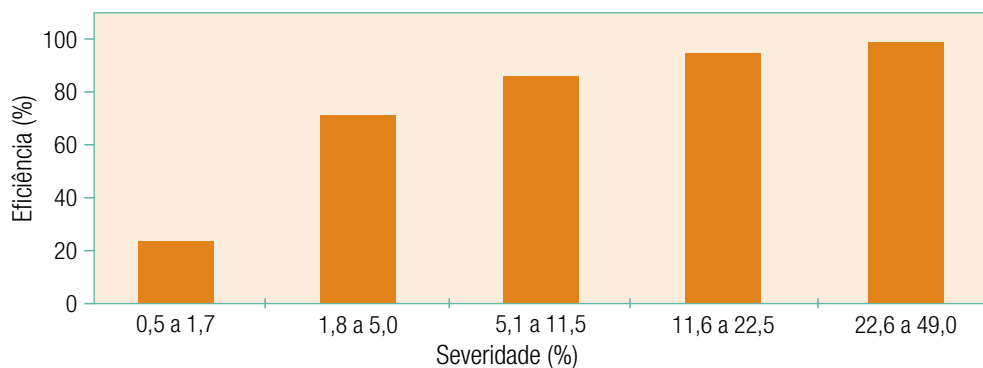


Figura 8.28 Eficiência média (%) da redução da incidência de frutos com sintomas de pinta preta, na linha de beneficiamento de *packinghouse* destinado à comercialização de frutas para o mercado interno, em função da severidade dos sintomas nos frutos colhidos. Fonte: Panosso (2014).

A eficiência da seleção e descarte de frutos sintomáticos no *packinghouse* também é dependente da quantidade de inspetores envolvidos no processo, sobretudo do seu treinamento, e de quantas vezes os frutos doentes são observados pelos auxiliares na linha de seleção e descarte (Figura 8.29). Assim, em *packinghouse*, cujo destino das frutas é o mercado europeu, com tolerância zero para frutos com sintomas de pinta preta, são empregados de 20 a 30 inspetores na linha de seleção e descarte, treinados especificamente para reconhecer sintomas de pinta preta, e os frutos são observados em vários pontos da linha de beneficiamento. Por outro lado, em *packinghouse*, cuja fruta destina-se ao mercado interno, onde o objetivo é retirar apenas os frutos com maior severidade de lesões, cuja presença poderá causar algum deságio em seu preço, normalmente, são utilizados quatro a oito inspetores em um ou no máximo três pontos da linha de beneficiamento para a seleção e descarte dos frutos com sintomas de pinta preta. Neste último caso, dificilmente esses procedimentos conseguem resultar em um lote com incidência zero de frutos com sintomas de pinta preta.

Na etapa de seleção e descarte dos frutos no *packinghouse* retira-se boa parte dos frutos sintomáticos, mas não é eliminada a presença de frutos assintomáticos, com infecções quiescentes que podem desenvolver a doença após a colheita, durante o transporte e armazenamento dos frutos. Assim, outros tratamentos pós-colheita, como banhos em soluções com fungicidas, aplicação de cera e/ou armazenamento em baixa temperatura, visam reduzir o desenvolvimento das lesões quiescentes durante o armazenamento e transporte das frutas, e/ou diminuir a viabilidade dos conídios produzidos nas lesões de frutos sintomáticos que escaparam da seleção.



Fotos: Mário R. Moraes

Figura 8.29 Processo de seleção e descarte de frutos sintomáticos no *packinghouse* por inspetores e posterior tratamento dos frutos em banho em soluções com fungicidas ou ceras.

A aplicação de água quente, cera e/ou fungicida nos frutos ou o armazenamento dos frutos em baixa temperatura ($\leq 8\text{ }^{\circ}\text{C}$), após a colheita, apresentam resultados variáveis na redução do desenvolvimento dos sintomas de pinta preta após a colheita e na redução da viabilidade ou eliminação do patógeno dos frutos infectados (Tabela 8.21).

Tabela 8.21 Efeito de tratamentos pós-colheita na redução do desenvolvimento dos sintomas de pinta preta dos citros e na redução da viabilidade ou eliminação do patógeno nos frutos infectados.

Tratamento	Descrição	Efeito	Fonte
Água quente	43-47 °C por 3 min	Redução da sobrevivência do micélio latente em 10 a 34%	Korf <i>et al.</i> , 2001
Água quente/fria	56 °C por 3 min + 0 °C por 3 min	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Andrade <i>et al.</i> , 2001
Cera	Cera de carnaúba (12%) imersão por 20 seg	Redução da taxa de aparecimento de mancha sardenta em 37%	Panosso, 2014
Cera	Cera de polietileno	Redução da sobrevivência do micélio latente em 1 a 39%	Korf <i>et al.</i> , 2001
Cera	Emulsão de água e cera (1:1) por 15 seg	Redução no aparecimento de frutos com sintomas em 36 a 61%	Seberry <i>et al.</i> , 1967
Detergente	Aplicação de detergente não iônico (2,5%) por 15 seg	Redução no aparecimento de frutos com sintomas em 61%	Seberry <i>et al.</i> , 1967
Desinfestante	Imersão em metassulfato de sódio (0,4%) por 2 min	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Seberry <i>et al.</i> , 1967
Desinfestante	Imersão em ortofenilfenato de sódio (2%) por 2 min	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Seberry <i>et al.</i> , 1967
Antioxidante	Aplicação de difenilamina (0,15%) por 15 seg	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Seberry <i>et al.</i> , 1967
Fungicida	Fludioxonil (1.000 ppm)	Não altera a sobrevivência do micélio latente. Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Agostini <i>et al.</i> , 2006
Fungicida	Pirimetanil (1.000 ppm)	Não altera a sobrevivência do micélio latente. Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Agostini <i>et al.</i> , 2006
Fungicida	Pirimetanil (1.000 ppm) + imazalil (1.000 ppm)	Não altera a sobrevivência do micélio latente. Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Agostini <i>et al.</i> , 2006
Fungicida	Guazatina (1.000 ppm) + imazalil (503 ppm) + 2,4-D (500 ppm)	Redução da sobrevivência do micélio latente em 28 a 68%	Korf <i>et al.</i> , 2001
Fungicida	Imazalil (2.500 ppm) + tiabendazol (5000 ppm) + 2,4-D (500 ppm)	Sem efeito na sobrevivência do micélio latente. Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Agostini <i>et al.</i> , 2006
Cera + fungicida	Cera de carnaúba (12%) imersão por 20 seg + imazalil (1.000 ppm) por 2 min	Redução da taxa de aparecimento de mancha sardenta em 71%	Panosso, 2014
Água quente/fria + fungicida	Tiabendazol 45 °C por 15 min + 0 °C por 3 min	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Andrade <i>et al.</i> , 2001
Água quente/fria + fungicida	45 °C por 15 min + tiabendazol 0 °C por 15 min	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Andrade <i>et al.</i> , 2001
Água quente/fria + fungicida	Tiabendazol 45 °C por 15 min + tiabendazol 0 °C por 15 min	Sem efeito no aparecimento de frutos com sintomas	Andrade <i>et al.</i> , 2001
Água quente + cera + fungicida	43-47 °C por 3 min + cera de polietileno + Imersão em guazatina (1.000 ppm) + imazalil (503 ppm) + 2,4-D (500 ppm)	Redução da sobrevivência do micélio latente em 67 a 86%	Korf <i>et al.</i> , 2001
Câmara fria	- 0,5 °C, por 21 dias	Sem efeito na sobrevivência do micélio latente. Redução no aparecimento de frutos com sintomas em 100%	Korf <i>et al.</i> , 2001
Câmara fria	5 °C, no escuro, por 21 dias	Redução no aparecimento de frutos com sintomas em >95%	Castilho, 2015
Câmara fria	8 °C, no escuro, por 49 dias	Sem efeito na sobrevivência do micélio latente. Redução no aparecimento de frutos com sintomas em 46 a 86%	Agostini <i>et al.</i> , 2006

8.6 Sugestões de programas de manejo

8.6.1 Pomares para produção de frutas destinadas ao processamento industrial

Os programas de controle químico voltados para os pomares cuja produção é destinada à indústria de suco são baseados na redução de sintomas nos frutos até o nível em que não ocorra a sua queda prematura.

Como a colheita pode ocorrer de 7 a 16 meses após o início da frutificação em função da maturação das variedades, o número de pulverizações necessárias pode variar de duas a seis. Em pomares mais novos e com baixa quantidade de inóculo, recomenda-se um número menor de aplicações, e à medida que a intensidade da doença aumentar nos pomares, o número de pulverizações terá que ser maior.

Vale ressaltar que as sugestões descritas abaixo são para o estado de São Paulo e levam em consideração a condição encontrada para a maioria dos talhões. Porém, o número de aplicações, o intervalo entre elas, o período de controle, bem como o volume de calda e as doses dos produtos podem variar em função de cada área, devido à diferença de maturação dos frutos de variedades incluídas no mesmo grupo, da intensidade de inóculo em cada área, e da época de colheita de diferentes talhões de uma mesma variedade.

Variedades de maturação tardia

- Principais variedades: 'Valência', 'Natal' e 'Folha murcha';
- Época principal de colheita: setembro a fevereiro.

CONDIÇÃO 1: Pomar adulto com alta quantidade de sintomas da doença.

Número de aplicações: Total de seis aplicações. As pulverizações devem ser iniciadas na queda de pétalas das flores e encerradas em março/abril para as condições do sudeste brasileiro (Figura 8.30). Como a queda prematura de frutos inicia-se normalmente em agosto e a colheita das variedades tardias é realizada de setembro a fevereiro, as seis pulverizações têm por objetivo evitar queda acentuada de frutos.

Produtos, doses e intervalos: As duas primeiras aplicações devem ser realizadas com fungicidas à base de cobre em intervalos de 21 dias. A dose de cobre metálico a ser utilizada é de 50-70 mg de Cu/m³ de copa, que equivale a 75-90 g de Cu/100 L. Para as demais pulverizações, recomenda-se a utilização de estrobilurinas em intervalos de 35 dias. A dose da estrobilurina deve ser de 2,8 mg de i.a./m³ ou 3,8 g de i.a./100 L de calda. A adição de óleo mineral ou vegetal (0,25%) à calda fungicida é essencial nesses pomares adultos de laranjeiras de maturação tardia, principalmente a partir da segunda aplicação, onde os regimes de chuvas são maiores (Figura 8.30). As duas primeiras pulverizações de cúpricos devem ser realizadas

em outubro e novembro em safra com florescimento normal. Mas se for tardio, e a segunda aplicação de cobre for agendada para dezembro, ela deve ser realizada em associação com a estrobilurina. Nos pomares em que serão três ou quatro pulverizações de estrobilurinas recomenda-se adicionar cobre em pelo menos uma ou duas aplicações, nas doses supracitadas. A dose da estrobilurina nunca deve ser reduzida (Figura 8.30).

Volume e velocidade: O volume de calda deve ser em torno de 75 mL de calda/m³ de copa. A avaliação da cobertura dos órgãos da planta pelos fungicidas durante as pulverizações pode ser aferida com a utilização de papéis hidrossensíveis colocados no exterior e interior da copa (próximos ao tronco). Pulverizações de boa qualidade devem ter cobertura média dos papéis externos de pelo menos 90% e dos papéis internos em torno de 35%. Dessa forma, haverá um bom controle da pinta preta nos frutos localizados externa e internamente na copa. A velocidade de aplicação não deve ultrapassar 4,5 km/h, porém recomenda-se utilizar entre 2,5 e 3,5 km/h.

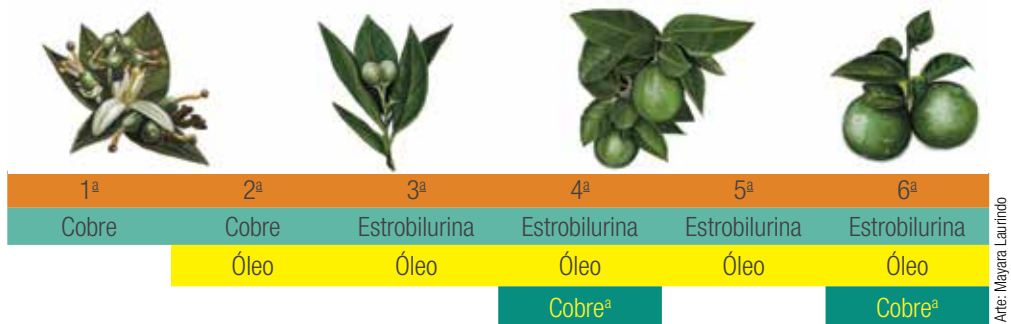


Figura 8.30 Representação de programa de controle químico da pinta preta com seis aplicações em pomares de laranjeiras de maturação tardia com alta quantidade de sintomas da doença. A primeira aplicação de estrobilurina deve ocorrer a partir de meados de novembro, para as condições do estado de São Paulo. ^aAs aplicações de cobre poderão estar associadas com qualquer aplicação de estrobilurina.

CONDIÇÃO 2: pomar adulto com baixa quantidade de sintomas da doença ou pomar jovem (até 8 anos).

Número de aplicações: Nesses pomares normalmente não ocorre queda de frutos, e deve-se aguardar até que a doença atinja elevada incidência para iniciar os tratamentos. O custo de aplicações para o controle da pinta preta é alto e a doença não provoca danos na produção quando a incidência é inferior a 80% de frutos com sintomas. A partir desse nível, recomenda-se iniciar o controle com aproximadamente quatro aplicações por safra e analisar, a cada safra, a necessidade de aumento desse número até atingir as seis pulverizações.

Produtos, doses e intervalos: As duas primeiras aplicações são realizadas com fungicidas à base de cobre em intervalos de 28 dias. A dose de cobre metálico a ser utilizada é de 50 mg de Cu/m³ de copa, ou em torno de 70 g de Cu/100 L. Para as demais aplicações, recomenda-se a utilização de estrobilurinas em intervalos de 42 dias. A dose da estrobilurina é de 2,8 mg de i.a./m³ ou 3,8 g de i.a./100 L. Recomenda-se também a adição de óleo mineral ou vegetal (0,25%) à calda fungicida. Mesmo em pomares jovens a dose da estrobilurina nunca deve ser reduzida.

Variedades de maturação meia-estação

- Principais variedades: ‘Pera’ e ‘Lima Tardia’;
- Época principal de colheita: julho a outubro.

CONDIÇÃO 1: pomar adulto com alta quantidade de sintomas da doença.

Número de aplicações: Na maioria dos casos, entre quatro e cinco pulverizações são suficientes para o controle da doença, desde que a queda de frutos seja monitorada em todas as safras (Figura 8.31). Normalmente, a queda de frutos se inicia em agosto e vai aumentando nos meses seguintes. Quando a colheita for realizada em julho e agosto, os danos devido à queda de frutos serão baixos. Nos pomares severamente atacados em que a colheita for realizada de setembro em diante, o número de pulverizações deverá ser aumentado, podendo chegar a seis. Recomenda-se sempre avaliar a situação de cada talhão, pois se houver significativa queda de frutos com quatro ou cinco pulverizações, esse número deverá ser aumentado. Antes de decidir pelo aumento do número de pulverizações, é necessário verificar se o aumento de queda dos frutos não foi ocasionado por outros fatores, tais como: intervalos entre aplicações e doses dos produtos inadequados, ausência de óleo ou substituição do mesmo por outros adjuvantes, volume de calda muito reduzido, velocidade de aplicação acima da recomendada e plantio muito adensado, o que dificulta a passagem do pulverizador na entrelinha.

Produtos, doses e intervalos: As duas primeiras aplicações devem ser realizadas com fungicidas à base de cobre (50-70 mg de Cu/m³ ou 75-90 g de Cu/100 L) em intervalos de 21-28 dias. Para as demais pulverizações, recomenda-se a utilização de fungicidas estrobilurinas (2,8 mg de i.a./m³ ou 3,8 g de i.a./100 L) com óleo (0,25%) em intervalos de 35-42 dias (Figura 8.31). No caso de haver florescimento tardio, a segunda aplicação, a partir de meados de novembro, deve conter estrobilurina, e o cobre pode ser usado em associação com a estrobilurina e o óleo (detalhes, ver condição 1 para laranjas de maturação tardia).

Volume e velocidade: O volume de calda deve ser em torno de 75 mL de calda/m³ de copa e a velocidade de 2,5 a 4,5 km/h.



Figura 8.31 Representação de programa de controle químico da pinta preta com cinco aplicações em pomares de laranjeiras de maturação meia-estação com alta quantidade de sintomas de pinta preta. A primeira pulverização de estrobilurina deve ocorrer a partir de meados de novembro, para as condições do estado de São Paulo. *A aplicação de cobre poderá estar associada com qualquer pulverização de estrobilurina.

CONDIÇÃO 2: pomar adulto com baixa quantidade de sintomas da doença ou pomar jovem (até 8 anos).

Nesses pomares normalmente não há queda significativa de frutos e, portanto, não são necessárias pulverizações com fungicidas, uma vez que a doença estará em níveis muito baixos. No entanto, é sempre recomendável monitorar a cada safra a intensidade da doença e da queda de frutos para que sejam iniciadas as pulverizações antes do início dos danos. Quando houver necessidade de controle, deve-se adotar a sugestão descrita na condição 1 para essas variedades.

Variedades de maturação precoce

- Principais variedades: ‘Hamlin’, ‘Westin’, ‘Rubi’, ‘Bahia’, ‘Baianinha’ e ‘Lima’;
- Época principal de colheita: de março a agosto.

CONDIÇÃO 1: pomar adulto com alta quantidade de sintomas da doença.

Número de aplicações: Pode ser em torno de quatro (Figura 8.32), sendo requerido um número maior quando a queda prematura passa a ser acentuada nesses pomares. Entretanto, nessas variedades de colheita precoce a queda de frutos ocorre em menor intensidade. Normalmente, problemas com queda prematura são observados em pomares muito velhos, com histórico da doença e ausência de controle químico. Em ‘Hamlin’, a queda de frutos pode ocorrer naturalmente logo após a plena maturação. Essa queda será maior quanto mais tardia for a colheita. Nessas condições, alguns frutos podem apresentar sintomas de pinta preta e a queda passar a ser erroneamente atribuída à doença.

Produtos, doses e intervalos: As duas primeiras aplicações devem ser realizadas com fungicidas à base de cobre (50-70 mg de Cu/m³ ou 75-90 g de Cu/100 L) em intervalos de 21 a 28 dias. Para as demais pulverizações, recomenda-se a utilização de fungicidas estrobilurinas (2,8 mg de i.a./m³ ou 3,8 g de i.a./100 L) com óleo (0,25%) em intervalos de 35 a 42 dias. Se houver florescimento tardio, a segunda aplicação deve conter estrobilurina, e o cobre pode ser usado em associação com a estrobilurina e o óleo (detalhes, ver condição 1 para laranjas de maturação tardia).

Volume e velocidade: O volume de calda deve ser em torno de 75 mL de calda/m³ de copa e a velocidade de 2,5 a 4,5 km/h.

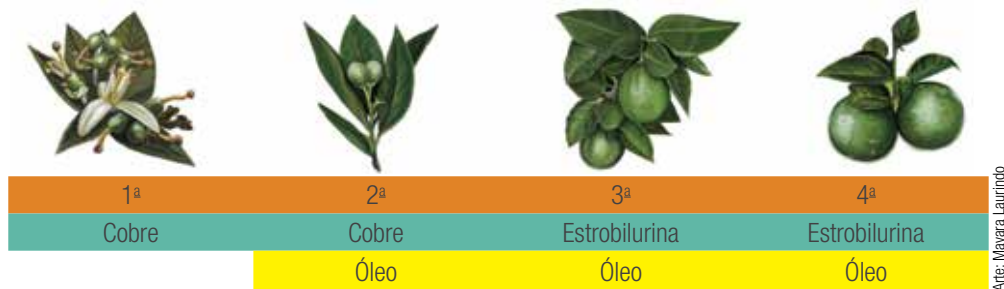


Figura 8.32 Representação de programa de controle químico da pinta preta com quatro aplicações em pomares de laranjeiras de maturação precoce com alta quantidade de sintomas de pinta preta. A primeira aplicação de estrobilurina deve ocorrer a partir de meados de novembro, para as condições do estado de São Paulo.

CONDIÇÃO 2: pomar adulto com baixa quantidade de sintomas da doença ou pomar jovem (até 8 anos).

Nesses pomares normalmente não há queda significativa de frutos e, portanto, não são necessárias pulverizações com fungicidas, uma vez que a doença estará em níveis muito baixos. No entanto, é sempre recomendável monitorar a cada safra a intensidade da doença e da queda de frutos para que sejam iniciadas as pulverizações antes do início dos danos. Quando houver necessidade de controle, deve-se adotar a sugestão descrita na condição 1 para essas variedades.

Pomares com pinta preta e cancro cítrico

Nessas áreas, deve-se aplicar cobre, a cada 21 dias, a partir da florada principal (normalmente em setembro), até os frutos atingirem 50 mm de diâmetro (em janeiro). As aplicações de estrobilurina devem ser feitas, a cada 42 dias, de novembro a março/abril. Assim, o cobre e a estrobilurina estariam em associação, em intervalos de 42 dias, de novembro a janeiro.

A dose de cobre deve ser de 50 a 70 mg de Cu metálico/m³ e a de estrobilurina de 2,8 mg i.a./m³. O volume de calda deve ser de 75 mL/m³ e a velocidade de aplicação de 2,5 a 4,5 km/h.

O cobre deve ser aplicado de janeiro a abril para o controle do cancro, somente se houver fluxos vegetativos ou floradas extemporâneas. Aplicações de maio a agosto, em geral, são dispensáveis em função da baixa precipitação pluviométrica, temperaturas amenas e ausência ou baixa quantidade de tecido vegetal jovem suscetível.

No caso de pinta preta, quando ocorrerem chuvas frequentes e intensas de maio a agosto, deve-se pulverizar estrobilurina somente em pomares de variedades tardias onde a colheita será realizada após dezembro ou aqueles cujas frutas serão destinadas à produção de frutas frescas.

8.6.2 Pomares para a produção de frutas frescas

Os programas de controle químico voltados para os pomares cuja produção é destinada ao mercado de frutas frescas são baseados na redução da incidência de frutos com sintomas, bem como na redução, ao máximo, da severidade dos sintomas. Os frutos com poucas lesões normalmente são aceitos no mercado interno, porém pode haver depreciação do seu valor comercial. Para exportação de frutas frescas para a União Europeia, a tolerância de sintomas é zero. Portanto, nesses casos é imprescindível a utilização de áreas livres da doença.

O número de pulverizações necessárias pode variar de duas até mais de seis. Em pomares mais novos e com baixa quantidade de inóculo, recomenda-se um número menor de aplicações, e à medida que a intensidade da doença aumentar nos pomares, o número de pulverizações deverá ser também aumentado. Diferentemente da sugestão para pomares cuja produção destina-se à industrialização, as aplicações não devem ser encerradas em março/abril, caso ocorram chuvas após esse período. Todas as demais estratégias de manejo, principalmente aquelas relacionadas às medidas de prevenção e ao controle cultural, devem ser adotadas em pomares para produção de frutas frescas. Recomenda-se utilizar áreas com ausência da doença ou com baixa quantidade de inóculo para que um número menor de pulverizações seja necessário. Em pomares muito velhos com alta quantidade de inóculo é necessária maior atenção para que erros no manejo não comprometam a qualidade da fruta. O tratamento para frutas frescas é mais caro e, se ele não for eficiente, a doença ocorrerá em alta intensidade na área e a maior parte da produção terá que ser destinada à industrialização, que gera menor remuneração ao produtor.

CONDIÇÃO 1: pomar sem a presença de *P. citricarpa*.

Controle químico: As pulverizações com fungicidas para o controle da pinta preta devem ser realizadas apenas em áreas onde o patógeno está presente. Portanto, em locais sem a ocorrência de *P. citricarpa* nenhuma aplicação é requerida, uma vez que, o fungicida não impedirá que o patógeno seja introduzido na área. Deve-se apenas iniciar as pulverizações quando o patógeno for detectado no local,


seguinte, a partir de então, as recomendações descritas na condição 2: pomar com *P. citricarpa* presente.

Medidas de exclusão e controle cultural: As medidas de exclusão devem ser adotadas com rigor, iniciando pela aquisição de mudas de viveiros certificados e livres do patógeno. Além disso, o trânsito de pessoas e equipamentos deve ser reduzido para que a doença não seja disseminada por meio de restos vegetais. Deve-se evitar o trânsito intenso de áreas com alta intensidade da doença para as que ainda estão livres ou com baixa intensidade da doença. A desinfestação de veículos e equipamentos não é suficiente para impedir a entrada da doença na área; é necessário remover todos os restos vegetais dos mesmos. O controle cultural deve ser sempre adotado em conjunto com o controle químico. O uso de roçadeira ecológica desde o início do plantio contribui para a redução da disseminação dos ascósporos entre os pomares. A manutenção da adubação equilibrada e a eliminação de plantas debilitadas também colaboram para a redução dos danos causados pela doença. A irrigação contribui para uniformizar o florescimento e diminuir a queda de folhas. O uso de quebra-ventos pode reduzir a disseminação dos ascósporos nos pomares. A poda de ramos secos, apesar de onerar os custos, deve ser avaliada como medida a ser adotada em pomares onde a doença já se encontra em alta incidência.

Portanto, como sugestão para a produção de frutas frescas, o primeiro passo é buscar áreas livres da doença e utilizar mudas sadias no plantio. É importante seguir as recomendações de manejo para a produção de frutas frescas desde a implantação do pomar, com o uso de todos os métodos de manejo disponíveis. Quando do aparecimento da doença, deve-se iniciar as pulverizações de fungicidas seguindo as recomendações descritas na condição 2. Quanto mais velho o pomar, maior será o período para que o inóculo se acumule na área e mais difícil será o controle da doença. Portanto, na produção de frutas frescas a melhor opção é utilizar pomares mais novos ou com baixa intensidade da pinta preta.

CONDIÇÃO 2: pomar com *P. citricarpa* presente.

Número de aplicações: Total de seis ou mais pulverizações, dependendo do período chuvoso (Figura 8.33). As aplicações devem ser iniciadas na queda de pétalas das flores e encerradas após o término do período chuvoso, ou seja, as pulverizações podem ser iniciadas em setembro/outubro e finalizadas apenas em junho/julho do ano seguinte.



1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a ou mais ^b
Cobre	Cobre	Estrobilurina	Estrobilurina	Benzimidazol	Benzimidazol
	Óleo	Óleo	Óleo	Óleo	Óleo
			Cobre ou Mancozebe ^a		Cobre ou Mancozebe ^a

Arte: Mayara Laurindo

Figura 8.33 Representação de programa de controle químico da pinta preta com seis aplicações em pomares de laranjeiras para a produção de frutas frescas com alta intensidade de inóculo da pinta preta. A primeira aplicação de estrobilurina deve ocorrer a partir de meados de novembro, para as condições do estado de São Paulo. ^aAs aplicações de cobre ou mancozebe poderão estar associadas a qualquer aplicação de estrobilurinas ou benzimidazóis. A inclusão de benzimidazóis e/ou mancozebe no programa irá inviabilizar a destinação de frutos da área para o processamento industrial e produção de suco para a exportação. ^bRepresenta a necessidade de mais pulverizações se o período chuvoso se estender por mais tempo.

Produtos, doses e intervalos: As duas primeiras aplicações devem ser realizadas com fungicidas à base de cobre em intervalos de 21 dias. As doses de cobre metálico a serem utilizadas são de 70 mg de Cu/m³ ou 90 g de Cu/100 L de calda. Para as demais aplicações recomenda-se a utilização de fungicidas de ação sistêmica (estrobilurinas ou benzimidazóis) em intervalos de 30 a 35 dias. A dose da estrobilurina é de 2,8 mg de i.a./m³ ou 3,8 g de i.a./100 L de calda. A dose do benzimidazol (carbendazim ou tiofanato-metílico) é de 25-50 g de i.a./100 L. Os fungicidas sistêmicos, se utilizados em mais de duas ou três aplicações, devem ser associados aos cúpricos (na dose recomendada) e/ou ao mancozebe na dose de 160-200 g i.a./100 L. Caso seja utilizado o benzimidazol ou o mancozebe, os frutos desses pomares não poderão ser destinados para a industrialização e produção de suco para exportação. A adição de óleo mineral ou vegetal (0,25%) à calda fungicida é essencial nesses pomares. As duas primeiras aplicações de cúpricos, em geral, são realizadas em setembro/outubro (regiões mais ao sul do estado de São Paulo) e outubro/novembro (nas regiões centrais e mais ao norte) em safra com florescimento normal. Se for tardio, e a segunda aplicação de cobre for agendada para dezembro, ela deve ser realizada em associação com a estrobilurina.

Volume e velocidade: O volume de calda deve ser em torno de 100 mL de calda/m³ de copa (ponto de escurrimento para alvos internos). Os superiores a esse não devem levar em consideração a dose/m³ de copa, mas sim em dose/100 L, uma vez que haverá escurrimento da calda e perda do produto aplicado. A cobertura das pulverizações deve ser aferida com a utilização de papéis hidrossensíveis colocados na parte externa (≥ 90% da superfície do papel) e interna (± 35% da superfície do papel) da copa. A velocidade de aplicação deve ser entre 2,5 e 3,5 km/h. O pulverizador deve estar regulado e calibrado, pois uma boa aplicação resultará em controle eficiente

da doença. Vale ressaltar que, se a pulverização não estiver sendo bem feita, com a calda distribuída uniformemente nos terços inferior, médio e superior da copa da planta, tanto interna como externamente, o procedimento deve ser interrompido e o problema solucionado, pois uma aplicação realizada fora dos padrões já é suficiente para comprometer todo o programa de controle. Portanto, a atenção deve ser redobrada para que durante todo o período chuvoso não ocorram problemas com os pulverizadores e não sejam adotados intervalos maiores que os indicados. Em pomares adultos o espaçamento entre linhas de plantas deve ser suficiente para que o pulverizador circule no pomar sem que o mesmo toque os ramos das plantas, sendo importante a realização de poda com maior frequência.

Medidas de exclusão e controle cultural: Adotar a sugestão descrita na condição 1.

8.7 Principais erros cometidos em pulverizações

Como não há relatos de resistência de *P. citricarpa* a cúpricos e estrobilurinas, um bom programa de controle resulta em até 97% de redução da intensidade da doença, bem como dos danos por ela causados, como a queda de frutos. Entretanto, alguns problemas podem ocorrer durante as pulverizações comprometendo o controle da doença. Dentre os principais problemas observados nos pomares paulistas, destacam-se:

- 1. Momento de aplicação:** A sugestão para o controle da doença preconiza duas aplicações com cúpricos, a partir da queda de pétalas, seguidas de duas a quatro pulverizações com estrobilurinas. Entretanto, o florescimento pode ser tardio e a segunda aplicação de cobre puro pode coincidir com períodos de chuvas intensas e frequentes. Como o cobre reduz a intensidade da doença em somente 50-70% e a estrobilurina em até 97%, deve-se, em anos de florescimento tardio, realizar a segunda aplicação do cobre associado com uma estrobilurina. No entanto, um erro muito comum é a não utilização da estrobilurina a partir de novembro, nas condições do estado de São Paulo.
- 2. Período de controle:** Em talhões velhos e com alta quantidade de inóculo, a proteção das plantas de setembro/outubro a janeiro/fevereiro não é suficiente para o controle da doença. O ideal seria estender o período de proteção até março/abril, independentemente do número de aplicações. Entretanto, o encerramento das pulverizações antecipadamente é um erro observado em algumas fazendas.
- 3. Intervalos entre aplicações:** Muitas vezes, devido aos problemas com os equipamentos e seus operadores, excesso de chuvas ou colheita, o intervalo entre as aplicações não é seguido conforme recomendado e o programa de pulverização passa a ser comprometido. Apenas uma aplicação realizada em intervalos acima do recomendado (28 dias para os cúpricos e 42 para os sistêmicos) pode ser suficiente para comprometer a qualidade do controle da doença e aumentar as perdas por ela provocadas. Pulverizar com intervalos acima desses recomendados tem sido um erro observado com frequência.

4. **Dose de produtos:** Os fungicidas devem sempre ser utilizados na dose recomendada. Na tentativa de conciliar o controle da pinta preta com o de outras doenças, o intervalo entre as aplicações, em algumas situações, é reduzido e, para não aumentar os custos, a dose dos fungicidas também é indevidamente reduzida. Nessa situação o produto perde sua eficiência e aumenta-se o risco de ocorrência de resistência do fungo ao fungicida. O óleo mineral ou vegetal não deve ter sua dose reduzida, ser excluído e nem substituído, pois sua adição à calda aumenta a performance dos fungicidas. Entretanto, a substituição ou eliminação do óleo das pulverizações tem sido um erro cometido com frequência.
5. **Regulagem e calibragem:** Os pulverizadores devem estar em bom estado de conservação, regulados e calibrados. O citricultor deve utilizar a combinação de pontas (bicos) adequada para proporcionar gotas de diâmetro mediano volumétrico (DMV) em torno de 150 micra e pressão entre 100 e 200 psi. O pulverizador deve ser dimensionado de tal maneira que o volume de calda seja distribuído igualmente para os terços inferior, mediano e superior da copa. De modo geral, isso é obtido quando o meio do ramal de bicos é posicionado na metade da altura da planta. Entretanto, em algumas fazendas é possível encontrar pulverizadores desregulados ou sem condições ideais de uso.
6. **Volume de calda e velocidade de aplicação:** Na tentativa de conciliar o controle da pinta preta com o de outras doenças, o volume de calda muitas vezes é reduzido para valores abaixo de 75 mL/m^3 de copa, sem avaliação da cobertura da calda na parte interna da árvore. Se a cobertura interna for inferior a 30-40%, os frutos localizados mais internamente passam a apresentar mais sintomas que os externos, sendo essa uma característica peculiar desse tipo de problema. A velocidade do pulverizador deve ser de até 4,5 km/h, pois acima desse valor, compromete-se a penetração da calda no interior da copa, reduzindo a eficiência do controle. Pulverizações com pouca penetração da calda na copa têm sido feitas de maneira inadequada em pomares muito adensados.
7. **Adensamento dos pomares:** Em pomares adensados ou mais velhos, o espaçamento entrelinhas muitas vezes se torna inferior à largura do pulverizador, com isso as pontas de pulverização tocam os ramos. Nessa situação, a aplicação torna-se desuniforme e ineficiente. Esse problema tem sido observado em talhões velhos de várias fazendas. Nessas áreas, é necessário um manejo adequado da copa com a realização de podas.

Para o acompanhamento das pulverizações é recomendável a elaboração de uma planilha da qual constem as datas, os produtos e os intervalos entre as aplicações de cada talhão. À medida que as pulverizações são realizadas a planilha é preenchida, sendo possível verificar em quais talhões as aplicações foram realizadas com intervalos acima dos recomendados. Dessa maneira é possível evitar que um mesmo talhão tenha mais de uma pulverização realizada de forma incorreta com intervalos acima do aceitável, como pode ser observado para os talhões 9 e 10 da simulação apresentada na Figura 8.34.

Propriedade:		Regional:		Safrá:									
Programa de pulverizações para pintura preta													
Talhões	Variedade	Idade (anos)	Pulverização 1		Pulverização 2		Pulverização 3		Pulverização 4				
			Data	Produto	Data	Intervalo	Produto	Data	Intervalo	Data	Intervalo	Produto	
1	Hamlin	12	01/10/15	cobre	26/10/15	25	cobre	23/11/15	28	estrobilurina	28/12/15	35	estrobilurina
2	Hamlin	12	01/10/15	cobre	26/10/15	25	cobre	23/11/15	28	estrobilurina	28/12/15	35	estrobilurina
3	Pera	14	02/10/15	cobre	27/10/15	25	cobre	24/11/15	28	estrobilurina	28/12/15	34	estrobilurina
4	Pera	14	02/10/15	cobre	27/10/15	25	cobre	24/11/15	28	estrobilurina	28/12/15	34	estrobilurina
5	Pera	14	02/10/15	cobre	27/10/15	25	cobre	26/11/15	30	estrobilurina	29/12/15	33	estrobilurina
6	Valência	10	05/10/15	cobre	28/10/15	23	cobre	26/11/15	29	estrobilurina	29/12/15	33	estrobilurina
7	Valência	10	05/10/15	cobre	29/10/15	24	cobre	26/11/15	28	estrobilurina	30/12/15	34	estrobilurina
8	Valência	15	05/10/15	cobre	30/10/15	25	cobre	26/11/15	27	estrobilurina	30/12/15	34	estrobilurina
9	Natal	15	06/10/15	cobre	05/11/15	30	cobre	30/11/15	25	estrobilurina	05/01/16	36	estrobilurina
10	Natal	15	06/10/15	cobre	05/11/15	30	cobre	30/11/15	25	estrobilurina	06/01/16	37	estrobilurina

Intervalo entre aplicações de cobre de 21 e 27 dias e entre aplicações de estrobilurina de 35 e 41 dias

Intervalo entre aplicações de cobre de 28 dias e entre aplicações de estrobilurina de 42 dias

Intervalo entre aplicações de cobre acima de 28 dias e entre aplicações de estrobilurina de acima de 42 dias

Figura 8.34 Modelo de planilha a ser utilizado para o acompanhamento das pulverizações no controle da pintura preta dos citros. As células nas colunas do intervalo foram formatadas para coloração verde (faixa entre o mínimo e o máximo aceitável), amarela (máximo aceitável) e vermelha (acima do aceitável), sendo adotados intervalos de 28 dias após aplicação de cobre e 42 dias após aplicação das estrobilurinas.



Foto: Eduardo Feichtenberger

9

Procedimentos para a exportação

A pinta preta vem restringindo as exportações de frutas cítricas brasileiras, principalmente, quando elas são destinadas aos países da União Europeia (UE). Os frutos cítricos com sintomas de pinta preta são impróprios para a exportação. O patógeno *P. citricarpa* é considerado quarentenário A1 nos países da UE, pois o mesmo não foi ainda encontrado em pomares de citros nesses países. A tolerância em relação aos frutos cítricos importados pela UE é zero, ou seja, a detecção da doença em um único fruto acarreta o rechaço de toda a partida, que fica, assim, impedida de desembarque.

Com base na Diretiva 2000/29/CE, de 08/05/2000, e na Decisão 2004/416/CE, de 29/04/2004 (ver item 9.1), da Comunidade Europeia, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em conjunto com os órgãos de Defesa Agropecuária de estados brasileiros exportadores de frutas cítricas (Instâncias Intermediárias do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária), estabeleceu um programa nacional de manejo de risco da pinta preta, que visa atender as exigências dos países importadores da UE e reduzir a ocorrência da pinta preta em frutos exportados. A Instrução Normativa (IN) nº 03, de 08/01/2008 (ver item 9.1), depois alterada pela IN nº 01, de 05/01/2009 (ver item 9.1), foram editadas pelo MAPA para dar base legal a esse programa.

Em São Paulo, principal estado exportador de frutas cítricas para a UE, com base nas instruções normativas do MAPA suprarreferidas, e também em observância às demais legislações afins e correlatas (ver item 9.1), a Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA), órgão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do

Pragas quarentenárias de citros na União Europeia

Além de *P. citricarpa*, a UE também considera restritivas outras pragas quarentenárias já presentes no Brasil e que podem ser veiculadas por frutas cítricas, como *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, agente causal de cancro cítrico; *Elsinoë australis* e *Elsinoë fawcettii*, agentes causais de verrugoses dos citros; e espécies de moscas das frutas da família Tephritidae (*Anastrepha fraterculus* e *Anastrepha obliqua*).

Estado de São Paulo (SAA-SP), estabeleceu o Programa Estadual de Sanidade de Citros – Exportação de Frutas para a Comunidade Europeia (PESC-EF) (ver item 9.2), que visa atender às exigências dos países importadores da UE e viabilizar as exportações para eles de frutas cítricas por produtores e/ou exportadores que, voluntariamente, aderem ao programa. Para a exportação, as exigências estabelecidas devem ser obedecidas e as fiscalizações e demais ações previstas no programa, realizadas para permitir a prévia detecção das pragas restritivas.

A unidade de produção (UP), ou seja, o pomar comercial cadastrado para a produção de frutos destinados à exportação, que apresentar essas pragas, é excluída do programa e fica impossibilitado de destinar seus frutos para os países da UE. A produção pode, contudo, ser destinada ao mercado brasileiro de frutas frescas ou ao processamento industrial para a fabricação de suco e outros subprodutos, desde que obedecidas as demais legislações afins e correlatas. O programa também prevê a realização de auditorias para a confirmação de que todas as exigências administrativas e fitossanitárias demandadas pelas legislações vigentes estão sendo obedecidas.

Entre as medidas previstas no programa paulista está a exigência de cadastramento na CDA/SAA-SP dos exportadores e produtores, das UPs, e das Unidades de Consolidação (UCs) dos frutos candidatos à exportação (casas de processamento, embalagem e armazenamento de frutos). Porém, no caso de frutos de limeira ácida ‘Tahiti’, as exigências e demais procedimentos previstos no programa não se aplicam, pois a pinta preta nunca foi observada em plantas dessa variedade, que foi excluída do programa. Qualquer alteração nas informações prestadas durante os cadastramentos deve ser comunicada oficialmente à CDA/SAA-SP ou ao MAPA, no prazo máximo de quinze dias.

O cadastramento do produtor deve ser solicitado anualmente em formulário próprio (ver item 9.2), contendo informações sobre o mesmo e sua propriedade e um termo de adesão manifestando interesse em aderir ao programa. O produtor, ao se cadastrar, sujeita-se a todas as especificações estabelecidas pelas legislações brasileira e paulista sobre o assunto e aceita todas as consequências decorrentes do não cumprimento das mesmas. O citricultor também deverá arcar com os custos de eventuais auditorias internacionais decorrentes da sua exportação. Um croqui com informações de acesso à propriedade também deve ser incluído na solicitação de cadastro.

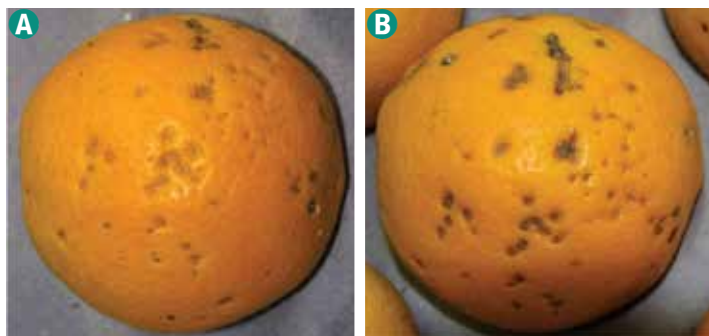
A UP deve estar sob acompanhamento oficial para assegurar que ela não apresenta a pinta preta. A solicitação de inscrição e manutenção da UP deve ser feita em formulários próprios da CDA/SAA-SP (ver item 9.2) contendo informações sobre a propriedade, seu proprietário e informações detalhadas sobre cada UP. Também deve constar na solicitação o local da propriedade onde o Livro de Acompanhamento da(s) UP(s) deverá estar disponível para consultas. Nesse livro devem ser anotadas todas as operações realizadas na área em atendimento às legislações pertinentes, e também todas as ocorrências constatadas durante as inspeções realizadas na(s) UP(s) pelos inspetores da CDA/SAA-SP e

do MAPA. O período para o cadastramento do produtor e da(s) UP(s) é de até três meses antes do início da colheita dos frutos.

A solicitação de cadastro da Unidade de Consolidação (UC), que pode ser processadora ou beneficiadora, embaladora e armazenadora de frutos candidatos à exportação, deve ser feita durante o período de 1º de janeiro a 30 de abril de cada ano, em formulário próprio (ver item 9.2). Somente podem ser cadastradas UC que não estejam localizadas em entrepostos, armazéns, centrais de abastecimento ou locais similares, para garantir a condição fitossanitária de origem. Os frutos provenientes de UPs cadastradas devem ser produzidos e transportados à UC de modo que sejam garantidas a identidade, a rastreabilidade e a conformidade fitossanitária dos mesmos.

Inspecções de campo devem ser feitas pela CDA/SAA-SP em plantas das UPs cadastradas, durante o ciclo de produção dos frutos, para verificar se as medidas de prevenção e controle de pinta preta previstas na IN nº 3 de 08/01/2008 (ver item 9.1) estão sendo adotadas. Quando sintomas da doença são observados em frutos ou em outros órgãos das plantas inspecionadas, eles são coletados, lacrados e encaminhados a laboratórios oficiais credenciados para a realização de análises visando à confirmação do diagnóstico inicial de campo. A colheita de frutos para exportação desta UP é então suspensa temporariamente até a emissão do laudo oficial com o resultado do diagnóstico laboratorial definitivo. O material coletado deve ser encaminhado ao laboratório junto com um formulário preenchido pelo agente fiscalizador (ver item 9.2). Em São Paulo, os materiais amostrados durante as inspeções feitas pela CDA/SAA-SP são encaminhados à Clínica Fitopatológica do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”, do IAC, em Cordeirópolis-SP, ou ao Laboratório de Sanidade Vegetal “Dra. Victoria Rossetti”, da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba, ambos da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA, da SAA-SP. Quando a doença nos materiais suspeitos amostrados é confirmada no laboratório, a produção originada da UP contaminada é excluída do processo de exportação para a UE durante todo o ano vigente.

Caso a doença não seja detectada nas inspeções prévias de campo, frutos assintomáticos maduros devem ser amostrados pelo responsável técnico da UP para a realização do teste de indução de sintomas de pinta preta. A data da amostragem deve ser comunicada com pelo menos sete dias de antecedência à CDA/SAA-SP, para permitir que ela audite o processo de amostragem. Os frutos devem ser amostrados pelo menos 30 dias antes da colheita, em 1% das plantas da UP, colhendo-se no mínimo um fruto por planta, da parte externa e inferior da copa de plantas debilitadas pelo ataque de pragas, deficiências nutricionais ou outras causas, e na sua face mais exposta aos raios solares. As amostras devem conter no mínimo 20 frutos cada e serem lacradas pelo agente fiscalizador antes de serem encaminhadas aos laboratórios credenciados para a realização do teste. Elas devem ser remetidas acompanhadas de formulário próprio (ver item 9.2).



Fotos: Eduardo Felchtenberger

Figura 9.1 Lesões desenvolvidas durante a realização do teste de indução de sintomas de pinta preta em fruto cítrico aparentemente sadio antes do teste. (A) Manchas sardentas apareceram no fruto no início do teste, e (B) depois de 48 horas evoluíram para lesões do tipo manchas virulentas.

Teste de indução de

Até junho de 2015, dois laboratórios paulistas estavam credenciados junto ao MAPA para a realização do teste de indução em frutos amostrados em UPs candidatas para exportação: o laboratório oficial da APTA de Sorocaba, e o laboratório particular Phytonema Clínica de Plantas, localizado em Limeira-SP. A partir dessa data, somente a Clínica Fitopatológica do Centro de Citricultura de Cordeirópolis-SP está credenciada no MAPA para a realização do teste. Na unidade de Sorocaba, os frutos tratados eram incubados a 30 °C sob luz contínua (Figura 9.2) e os isolados de *P. citricarpa* obtidos de amostras contaminadas eram armazenados na Micoteca “Dra. Victoria Rossetti” da unidade.



Fotos: Eduardo Felchtenberger

Figura 9.2 Teste de indução de sintomas de pinta preta dos citros realizado na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento da APTA de Sorocaba-SP. Frutos mantidos a 30 °C sob luz contínua.

Durante o período de 2005 a 2014, a unidade de Sorocaba realizou esse teste em 93.165 frutos cítricos amostrados em 1.379 UPs cadastradas. Os resultados mostram que o percentual de amostras contaminadas (UPs contaminadas) variou de 0,5 a 37,4% ao ano (Tabela 9.1).

O teste de indução visa detectar a presença do fungo agente causal da pinta preta em frutos que, embora infectados, ainda não apresentam os sintomas da doença na pré-colheita, durante as inspeções feitas na UP pelo responsável técnico ou pelos agentes fiscalizadores oficiais, pois o período de incubação da doença pode ser muito elevado. Como regulamentado pela IN n° 3 do MAPA, de 08/01/2008 (ver item 9.1), o teste consiste na imersão dos frutos amostrados em uma solução contendo etefom a 750 ppm, e sua posterior incubação em temperaturas acima de 25 °C, sob luz contínua, durante um período mínimo de 28 dias, condições que favorecem a rápida expressão dos sintomas da pinta preta. Em frutos que desenvolverem lesões típicas da doença durante a incubação (Figura 9.1), a confirmação do diagnóstico é feita com o isolamento do fungo agente causal das lesões e sua posterior identificação (ver item 3.2 “Detecção do patógeno”).

sintomas de pinta preta

Tabela 9.1 Número de unidades de produção (UP), de frutos processados, de laudos emitidos e porcentagem de UP's contaminadas nos testes de indução de sintomas de pinta preta em amostras de frutos cítricos para exportação realizados de 2005 a 2014 na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba-SP, da APTA.

Ano	Número de Unidades de Produção (UP)	Número de frutos processados ^a	Número de laudos emitidos	UPs contaminadas	
				Número	%
2005	108	5.954	14	11	10,2
2006	220	10.844	32	12	5,4
2008	117	5.888	14	7	6,0
2009	200	9.562	5	1	0,5
2010	243	18.679	42	41	16,9
2011	182	15.224	38	68	37,4
2012	124	10.397	25	39	31,4
2013	100	9.078	23	28	28,0
2014	85	7.539	16	13	15,3
Total	1.379	93.165	239	220	-

^aTestes realizados em atendimento à Instrução Normativa n° 3 do MAPA, de 08/01/2008.

O responsável técnico da propriedade deve obter dos laboratórios credenciados os laudos com os resultados do teste de indução e remetê-los à CDA/SAA-SP e ao MAPA. O laudo do teste de indução tem validade de somente 60 dias. Portanto, se as plantas da UP não forem colhidas até 60 dias após a emissão do laudo, uma nova amostragem deverá ser feita e um novo teste realizado com os frutos recém-amostrados na área. Se o resultado do teste de indução for positivo, a UP correspondente deve ser imediatamente excluída do programa anual de exportação. Se o resultado for negativo, os frutos podem ser colhidos e processados em UCs cadastradas no programa.

O responsável técnico pela UC deve assegurar que os frutos sejam manipulados, classificados, embalados, armazenados e transportados de modo a permitir a identidade, a rastreabilidade e a conformidade fitossanitária dos mesmos. A UC deve manter por um período de dois anos os registros de toda a movimentação de chegada e saída de carregamentos de frutos e disponibilizar essas informações aos agentes fiscalizadores oficiais sempre que solicitado. No final do processamento, os frutos devem estar livres de pedúnculos e folhas e tratados com fungicidas e cera. Durante o processamento dos frutos uma inspeção é feita na UC por fiscais federais agropecuários do MAPA. Devem ser inspecionados no mínimo 0,2% do total de caixas que compõem o contêiner, ou no mínimo uma caixa de cada UP que compõe o contêiner, sendo que todos os frutos das caixas selecionadas devem ser inspecionados. Quando frutos que apresentam sintomas típicos da doença são detectados nas inspeções, eles são coletados, lacrados e encaminhados a laboratórios credenciados para a confirmação do diagnóstico. Nesse caso, a UP de origem do lote é excluída preventivamente do processo de certificação. Caso a doença seja posteriormente confirmada no laboratório, a UP de origem é excluída definitivamente do processo de exportação do ano. Caso frutos sintomáticos não sejam observados durante a inspeção final, o contêiner com os frutos embalados será lacrado na própria UC pelo agente fiscal federal e liberado para exportação, devendo o número do lacre ser transcrito na documentação fitossanitária que deve acompanhar a carga.

9.1 Base Legal do programa de exportação de frutos para a UE

1. Diretiva 2000-29 da Comissão Europeia, de 08/05/2000, que estabelece medidas de proteção contra a introdução na UE de organismos prejudiciais às plantas e produtos vegetais e contra sua posterior propagação no interior do seu território. Disponível em:
<http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/ph_ps/harm/legal/dir00_29_pt.pdf>.
2. Decisão 2004-416 da Comissão Europeia, de 29/04/2004, relativa à tomada de medidas emergenciais temporárias de proteção aplicadas às importações de cítricos originadas da Argentina e do Brasil, com o intuito de evitar a introdução na UE de organismos prejudiciais às plantas cítricas. Disponível em:
<www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/servicos/getleg.php?idform=129>.

3. Instrução Normativa nº 3 do MAPA, de 08/01/2008, contendo critérios e procedimentos do programa oficial brasileiro de manejo de risco da pinta preta dos citros. Disponível em:
<<https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelinck.php?numlink=1-77-23-2008-01-08-3>>.
4. Instrução Normativa nº 1 do MAPA, de 05/01/2009, que altera os Artigos 1º e 4º da IN nº 3 do MAPA, de 08/01/2008. Disponível em:
<<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=77854>>.
5. Portaria nº 12 da Secretaria de Defesa Sanitária Vegetal do MAPA, de 16/04/1985, que determina a obrigatoriedade nas indústrias de suco cítrico, casas de embalagem e entrepostos de recepção (silos), da desinfestação ou expurgo de equipamentos, caixarias, materiais de colheita, veículos e outros objetos que sejam meios de disseminação de pragas e doenças dos citros, bem como da desvitalização ou destruição total dos resíduos e refugos de frutos cítricos. Disponível em:
<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=POR&numeroAto=00000012&seqAto=000&valorAto=1985&orgao=SDSV/MAPA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>>.
6. Instrução Normativa nº 52 do MAPA, de 20/09/2007, que estabelece a lista de pragas quarentenárias ausentes (A1) e de pragas quarentenárias presentes (A2) para o Brasil e aprova os procedimentos para as suas atualizações. Disponível em:
<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=29141583>>.
7. Instrução Normativa nº 55 do MAPA, de 04/12/2007, que aprova a Norma Técnica para a utilização do Certificado Fitossanitário de Origem – CFO e do Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado – CFOC. Disponível em:
<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=INM&numeroAto=00000055&seqAto=000&valorAto=2007&orgao=MAPA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>>.
8. Resolução SAA 26, de 08/07/1998, que institui o cadastro de estabelecimentos industriais de manipulação e colheita de citros e dispõe sobre normas e critérios a serem observados na execução da Campanha Nacional de Erradicação do cancro cítrico no Estado de São Paulo. Disponível em:
<<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=648>>.
9. Decreto nº 45.211 do Governo do Estado de São Paulo, de 19/09/2000, que regulamenta a Lei nº 10.478, de 22/12/1999, que dispõe sobre a adoção de medidas de defesa sanitária vegetal no âmbito do Estado de São Paulo. Disponível em:
<<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=339>>.

10. Decreto nº 45.405 do Governo do Estado de São Paulo, de 16/11/2000, que define como de peculiar interesse do Estado de São Paulo, a cultura de citros e outras, ficando sujeitas às medidas de defesa sanitária vegetal. Disponível em: <<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/programas/printsend.php?action=print&cod=52#>>.

9.2 Programa Paulista de Exportação de Frutas para a UE

Informações sobre o programa PESC-EF estão no site oficial da CDA/SAA, no qual está incluída uma breve descrição do programa, as orientações, a base legal e os seguintes formulários:

1. Declaração do produtor exportador;
2. Solicitação de cadastro do produtor;
3. Ficha de inscrição das Unidades de Produção (UPs);
4. Informações sobre as Unidades de Produção (UPs);
5. Ficha de inscrição da Unidade de Consolidação (UC);
6. Ficha de coleta de frutos para o Teste de Indução de Sintomas de MPC.

Disponível em:

<<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/servicos/index.php?action=view&cod=67>>.

Referências consultadas

- Agostini, J.P., Peres, N.A., Mackenzie, S.J., Adaskaveg, J.E., Timmer, L.W. 2006. Effect of fungicides and storage conditions on postharvest development of citrus black spot and survival of *Guignardia citricarpa* in fruit tissues. **Plant Disease** 90:1419-1424.
- Agrodefesa – Agência Goiana de Defesa Agropecuária. 2016. **Sanidade Vegetal – Programa de Citros – Pinta Preta – Instrução Normativa nº 9 de 2015**. Disponível em: <<http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2016-07/instrucaonormativa-0915.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2016.
- Aguiar, R.L. 2011. **Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em frutos de laranja ‘Valência’ e importância das pulverizações de cobre no controle da mancha preta**. 49f. Tese de Doutorado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Aguiar, R.L., Scaloppi, E.M.T., Goes, A., Spósito, M.B. 2012. Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em diferentes estádios fenológicos de frutos de laranja ‘Valência’. **Tropical Plant Pathology** 37:155-158.
- Aguilar-Vildoso, C.I., Baldini-Ribeiro, J.G., Feichtenberger, E., Goes, A., Spósito, M.B. 2002. **Manual técnico de procedimentos da mancha preta dos citros**. Brasília: MAPA/DAS/DDIV. 72p.
- Aguilar-Vildoso, C.I., Feichtenberger, E., Moraes, M.R., Spósito, M.B., Schinor, E.H. 1999. Avaliação de tratamentos fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranja ‘Pera’ de diferentes idades. **Summa Phytopathologica** 25:50.
- Albrigo, L.G., Timmer, L.W., Townsend, K., Beck, H.W. 1997. Copper fungicides – residues for disease control and potential for spray burn. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 110:67-70.
- Alcoba, N., Vigiani, A.R., Bejarano, N., Alvarez, S., Bonillo, M., Serrano, M., Rivera, A., Vigiani, A.M. 2000. Influencia del tipo de riego en la sobrevivencia de *Guignardia citricarpa* Kiely, hongo responsable de la mancha negra de los cítricos. **Servicios de Publicaciones Electrónicas del Programa de Asesoramiento em Riegos**. España. Disponível em: <<http://par.cebas.csic.es/publi/170700.html>>. Acesso em: 11 jul. 2001.

- Almeida, T.F. 2009. **Mancha preta dos citros: expressão dos sintomas em frutos pela inoculação com conídios e controle do agente causal (*Guignardia citricarpa*)**. 66f. Tese de Doutorado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Almeida, T.F., Reis, R.F., Goes, A. 2008. Method of inoculation of *Guignardia citricarpa* (*Phyllosticta citricarpa*) on 'Pera-Rio' sweet orange fruit. **Journal of Plant Pathology** 90: 465-466.
- Amorim, R., Savi, D.C., Ferreira-Maba, L., Aluizio, R., Goulin, E.H., Takita, M.A., Machado, M.A., Glienke, C. 2016. Mat gene idiomorphs suggest a heterothallic sexual cycle in the citrus pathogen *Phyllosticta citricarpa*. **European Journal of Plant Pathology** 145:1-13.
- Andrade, A.G., Bellotte, J.A.M., Barbosa, C.R.C., Baldassari, R.B., Goes, A. 2001. Efeito de choque térmico combinado com thiabendazole e glicerol no controle de *Guignardia citricarpa* em frutos cítricos, na fase de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira** 26:396-397.
- Andrade, A.G., Goes, A., Baldassari, R.B., Bellotte, J.A.M. 2012. Efeito de tratamento físico combinado com fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) na fase de pós-colheita de citros. **Fitopatologia Brasileira** 27:76-77.
- Andrade, A.G., Pimenta, A.A., Goes, A. 2009. Influência do alinhamento de plantio na severidade da mancha preta dos citros, produção e qualidade do suco. **Revista Brasileira de Fruticultura** 31:1.033-1.041.
- Andrade, T., Theodoro, G.F., Goes, A., Baldassari, R.B. 2004. Mancha preta (*Guignardia citricarpa*) dos citros no Estado de Santa Catarina. **Summa Phytopathologica** 30:126.
- Araújo, D., Raetano, C.G., Ramos, H.H., Spósito, M.B., Prado, E.P. 2013. Interferência da redução no volume de aplicação sobre o controle da mancha preta (*Guignardia citricarpa* Kiely) em frutos de laranja 'Valência'. **Summa Phytopathologica** 39:172-179.
- Averna-Saccá, R. 1940. Pústulas pretas sobre laranjas doces produzidas pelo *Phoma citricarpa*. **Revista de Agricultura** 15:468-475.
- Baayen, R.P., Bonants, P.J.M., Verkley, G., Carroll, G.C., van der A.a., H.A., Weerd, M., van Brouwershaven, I.R., Schutte, G.C., Maccheroni Jr, W., Blanco, C.G., Azevedo, J.L. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitan endophyte of woody plants, *G. mangiferae* (*Phyllosticta capitalensis*). **Phytopathology** 92:464-477.
- Baker, R., Caffier, D., Choiseul, J.W., De Clerq, P., Dormannsné-Simon, E., Gerowitt, B., Karadjova, O.E., Lovei, G., Lansink, A.O., Makowski, D., Manceau, C., Manici, L., Perdakis, D., Puglia, A.P., Schans, J., Schrader, G., Steffek, R., Stromberg, A., Tiilikkala, K., van

- Lenteren, J.C., Vloutoglou, I. 2008. Pest risk assessment and additional evidence provided by South Africa on *Guignardia citricarpa* Kiely, citrus black spot fungus – CBS. Scientific Opinion of the Panel on Plant Health on a Request from the European Commission on *Guignardia citricarpa* Kiely. **The EFSA Journal** 925:1-108.
- Baldassari, R.B. 2001. **Influência de frutos sintomáticos de uma safra na incidência da *Guignardia citricarpa* na safra subsequente e período de suscetibilidade de frutos de laranjeiras ‘Natal’ e ‘Valência’.** 60f. Dissertação de Mestrado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Baldassari, R.B. 2005. **Patogenicidade, morfologia de colônias e diversidade de isolados de *Guignardia citricarpa* e *G. mangiferae* obtidos de *Citrus* spp.** 66f. Tese de Doutorado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Baldassari, R.B., Brandimarte, I., Andrade, A.G., Souza, D.C.G., Moretto, C., Goes, A. 2007. Indução da expressão precoce de sintomas de *Guignardia citricarpa* em frutos de laranja ‘Pera-Rio’. **Revista Brasileira de Fruticultura** 29:269-275.
- Baldassari, R.B., Goes, A., Santos, J.M., Timossi, A.J. 2001. Microscopia eletrônica de varredura de isolados de *Guignardia citricarpa* obtidos de plantas cítricas. **Summa Phytopathologica** 27:88-92.
- Baldassari, R.B., Reis, R.F., Goes, A. 2004. Relato de mancha preta dos citros em pomares do Estado de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira** 30:126.
- Baldassari, R.B., Reis, R.F., Goes, A. 2006. Susceptibility of fruits of the ‘Valencia’ and ‘Natal’ sweet orange varieties to *Guignardia citricarpa* and the influence of the coexistence of healthy and symptomatic fruits. **Fitopatologia Brasileira** 31:337-341.
- Baldassari, R.B., Reis, R.F., Goes, A. 2009. A new method for inoculation of fruit with *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **European Journal of Plant Pathology** 123:1-4.
- Baldassari, R.B., Rinaldo, D., Gobato, C.A., Goes, A. 2005. Avaliação de fungicidas no controle da mancha preta dos citros (MPC) causada por (*Guignardia citricarpa*) em laranja ‘Pera-Rio’. **Fitopatologia Brasileira** 30:82.
- Baldassari, R.B., Wickert, E., Goes, A. 2008. Pathogenicity, colony morphology and diversity of isolates of *Guignardia citricarpa* and *G. mangiferae* isolated from *Citrus* spp. **European Journal of Plant Pathology** 120:103-110.
- Baldini-Ribeiro, J.G., Feichtenberger, E. 2003. **Relatório de Missão Técnica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil na Espanha.** 8p.

- Barkley, P. 1988. Survey for black spot and scab of citrus in the MIA. IREC **Fanner's Newsletter** 166:12.
- Beattie, G.A.C., Broadbent, P., Baker, H., Gollnow, B., Kaldor, C.J. 1989. Comparison of conventional medium to high-volume and high-volume sprayers with a low-volume sprayer for the control of black spot, *Guignardia citricarpa* Kiely, on 'Valencia' orange. **Plant Protection Quarterly** 4:146-148.
- Bedford, E.C.G. 1980. Integrated control of citrus pests successful in the Lowveld. **Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, Information Bulletin** 91:15-17.
- Bellotte, J.A.M. 2006. **Controle da mancha preta dos frutos cítricos mediante manejo cultural**. 57f. Dissertação de Mestrado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Bellotte, J.A.M., Kupper, K.C., Rinaldo, D., Souza, A., Goes, A. 2013. Efeito de cultivos intercalares nas entrelinhas dos citros na liberação de ascósporos de *Guignardia citricarpa* e na ocorrência da mancha preta dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura** 35:102-111.
- Bellotte, J.A.M., Kupper, K.C., Rinaldo, D., Souza, A., Pereira, F.D., Goes, A. 2009. Acceleration of the decomposition of Sicilian lemon leaves as an auxiliary measure in the control of citrus black spot. **Tropical Plant Pathology** 34:71-76.
- Benson, A.H. 1895. Black spot of the orange. **Agricultural Gazette of New South Wales** 6:249.
- Bergamin Filho, A., Amorim, L. 2002. Doenças com período de incubação variável em função da fenologia do hospedeiro. **Fitopatologia Brasileira** 27:561-565.
- Bernardo, E.R.A, Bettiol, W. 2010. Controle da pinta preta dos frutos cítricos em cultivo orgânico com agentes de biocontrole e produtos alternativos. **Tropical Plant Pathology** 35:037-042.
- Bertus, A.L. 1981. Fungicidal control of black spot and melanose on coastal 'Valencia' oranges in New South Wales. **Australasian Plant Pathology** 10:53-55.
- Bettiol, W., Kupper, K.C., Goes, A., Moretto, C., Correa, E.B. 2005. Mass production of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma viride* for the control of *Phyllosticta citricarpa* (teleomorph: *Guignardia citricarpa*). **Summa Phytopathologica** 31:276-278.
- Birmingham, W.A. 1924. Black spot on dried orange peel from China. **Agricultural Gazette of New South Wales** 35:345.
- Bonants, P.J.M., Carroll, G.C., Weerd, M., Brouwershaven-Van, I.R., Baayen, R.P. 2003. Development and validation of a fast PCR-based detection method for pathogenic isolates

- of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*. **European Journal of Plant Pathology** 109:503-513.
- Brasil – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2015. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários–Agrofit**. Disponível em: <http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 6 abr. 2015.
- Brent, K.J. 1995. **Fungicide resistance in crop pathogens**: how can it be managed? Brussels, Belgium: Crop Life International. 57p. (FRAC Monograph 1).
- Brent, K.J., Hollomon, D.W. 2007. **Fungicide resistance**: the assessment of risk. Brussels, Belgium: Crop Life International. 53p. (FRAC Monograph 2).
- Brentu, F.C., Oduro, K.A., Offei, S.K., Odamtten, G.T., Vicent, A., Peres, N.A., Timmer, L.W. 2012. Crop loss, aetiology, and epidemiology of citrus black spot in Ghana. **European Journal of Plant Pathology** 133:657-670.
- Brodrick, H.T. 1971a. Osmotic pressure changes in the orange peel in relation to symptom development of citrus black spot caused by *Guignardia citricarpa*. **Phytophylactica** 3:89-90.
- Brodrick, H.T. 1971b. Toxicity of limonene and citrus-D peel extracts to *Guignardia citricarpa*. **Phytophylactica** 3:69-72.
- Brodrick, H.T., Rabie, C.J. 1970. Light and temperature effects on symptom development and sporulation of *Guignardia citricarpa* Kiely on *Citrus sinensis* (Linn) Osbeck. **Phytophylactica** 2:157-164.
- Bulanon, D.M., Burks, T.F., Kim, G.D., Ritenour, M.A. 2013. Citrus black spot detection using hyperspectral image analysis. **Agricultural Engineering International CIGR Journal** 15:171-180.
- CABI/EPPO. 2011. ***Guignardia citricarpa***. CABI. Disponível em: <<http://www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=26154&loadmodule=datasheet&page=481&site=144>>. Acesso em: 20 ago. 2015.
- CABI/EPPO. 2012. ***Phyllosticta citricarpa***. [Distribution map]. Distribution Maps of Plant Diseases. Wallingford, UK: CABI. Map 53. (Edition 7).
- CABI/EPPO. 2016. ***Guignardia citricarpa*** (citrus black spot). Disponível em: <<http://www.cabi.org/isc/datasheet/26154>>. Acesso em: 10 ago. 2016.
- Caixeta, M.P., Coraza Nunes, M.J., Nunes, W.M.C., Tessmann, D.J. 2006. Situação da pinta preta (*Guignardia citricarpa*) em pomares de citros no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira** 31:343.

- Caixeta, M.P., Coraza Nunes, M.J., Vida, J.B., Nunes, W.N., Tessmann, D.J., Zanuto, C.A., Muller, G.R. 2005. Ocorrência da pinta preta dos citros (*Guignardia citricarpa*) no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira** 30:136.
- Calavan, E.C. 1960. Black spot of citrus. **The California Citrograph** 46:4,18-24.
- Campbell, C.L., Madden, L.V. 1990. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley. 532p.
- Canale, M.C., Benato, E.A., Cia, P., Haddad, M.L., Pascholati, S.F. 2011. *In vitro* effect of UV-C irradiation on *Guignardia citricarpa* and on postharvest control of citrus black spot. **Tropical Plant Pathology** 36:356-361.
- Carstens, E., Le Roux, H., Holtzhausen, M., Van Rooyen, L., Coetzee, J., Wentzel, R., Laubscher, W., Dawood, Z., Venter, E., Shutte, G., Fourie, P., Hattingh, V. 2012. Citrus black spot is absent in the Western Cape, Northern Cape and Free State Provinces. **South African Journal of Science** 108:56-61.
- Castilho, E. 2015. **Medidas de campo e de pós-colheita para redução da incidência de frutos de laranja com sintomas de mancha preta dos citros**. 37f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Catapani, L.F.B. 2015. **Relação da mancha preta dos citros com danos e influência de variáveis do controle químico na intensidade da doença**. 35f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Chiu, R.J. 1955. Studies on black spot of citrus. **Journal of Agriculture and Forestry** 9:186-203.
- CMI, 1990. **Distribution Maps of Plant Diseases**. Map No. 53. Edition 5. Wallingford, UK: CAB International.
- Cobb, N.A. 1897. Black spot of the orange. **Agricultural Gazette of New South Wales** 8:229-231.
- Contreras, J.V. 1988. Mancha negra de los citrus en la provincia de Misiones. **Citrus misiones** 21:15-23.
- Cortese, P., Baldini-Ribeiro, J.G., Galliani, E., Ares, M.I.I. 2004. Report sobre La evaluación de riesgos de *Guignardia citricarpa* Kiely en frutos cítricos. **Southern Cone Plant Health Committee**. Cosave. 13p.
- Costa, H., Ventura, J.A., Arleu, R.J., Aguilar-Vildoso, C.I. 2003. Ocorrência da pinta preta (*Guignardia citricarpa*) em citros no estado do Espírito Santo. **Fitopatologia Brasileira** 28:205.

- CRI – Citrus Research International. 2013. **Response to EFSA Panel on Plant Health, 2013 – Draft Scientific Opinion on the Risk of *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) for the EU Territory with Identification and Evaluation of Risk Reduction Options.** Disponível em: <<http://www.citrusres.com/sites/default/files/documents/CBS%20Expert%20Panel%20comments%20EFSA%20PRA%20CBS%202013.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- Darnell-Smith, G.P. 1919. An account of the “Black Spot” disease in citrus in New South Wales. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales** 43:868-880.
- Dekker, J. 1995. Development of resistance to modern fungicides and strategies for its avoidance. In: Lyr, H (Ed.). **Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action.** 2.ed. New York: Gustav Fischer, p. 23-38.
- De Lange, J.H., Vicent, A.P., Du Plessis, L.M., van Wyk, P.J., Ackerman, L.G.J. 1976. Scoparone G-7 dimethoxy coumarin induced in citrus peel by black spot *Guignardia citricarpa*. **Phytophylactica** 8:83-84.
- Del Rovere, N.S. 2013. **Programas de pulverização com fungicidas sistêmicos e cúpricos em diferentes combinações no controle da mancha preta dos citros.** 34f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Dewdney, M.M., Schubert, T.S., Estes, M.R., Roberts, P.D., Peres, N.A. 2015. Citrus black spot. In: Rogers, M.E., Dewdney, M.M. (Ed.). **2015 Florida Citrus Pest Management Guide.** University of Florida, Institute of Food and Agricultural Services, Gainesville. p. 73-77.
- Doidge, E.M. 1929. Some diseases of citrus prevalent in South Africa. **South African Journal of Science** 26:320-325.
- EFSA – European Food Safety Authority. 2008. Pest risk assessment and additional evidence provided by South Africa on *Guignardia citricarpa* Kiely, citrus black spot fungus – CBS. Scientific Opinion of the Panel on Plant Health on a request from the European Commission on *Guignardia citricarpa* Kiely. **EFSA Journal** 925:1-108.
- EFSA – European Food Safety Authority. 2013. **Draft Scientific Opinion on the risk of *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) for the EU territory with identification and evaluation of risk options.** Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/consultationsclosed/call/130731a.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2015. Version for public consultation.
- EFSA – European Food Safety Authority. 2014. Scientific Opinion on the risk of *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) for the EU territory with identification and evaluation of risk reduction options. **EFSA Journal** 12(2):3557. [243p.].

- EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization. 1997. **Data sheet on quarantine pests: *Guignardia citricarpa***. Wallingford, UK: CABI/EPPO. Disponível em: <http://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/GUIGCI_ds.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2003. Standards: diagnostic protocols for regulated pests: PM 7/17 *Guignardia citricarpa*. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin** 33:271-280.
- EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2009. Standards: diagnostic protocols for regulated pests: PM 7/17(2) *Guignardia citricarpa*. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin** 39:318-327.
- EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2016. **PQR-EPPO data base on quarantine pests**. Disponível em: <<http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- Er, H.L., Roberts, P.D., Marois, J.J., van Bruggen, A.H.C. 2013. Potential distribution of citrus black spot in the United States based on climatic conditions. **European Journal of Plant Pathology** 137:635-647.
- European Commission. 2004. Commission Decision of 29 April 2004 on temporary emergency measures in respect of certain citrus fruits originating in Argentina or Brazil. **Official Journal of the European Union** 30.4.2004. L151/76-80.
- European Commission, Health and Consumers Directorate-General 2004. **Report of EC-Mercosur meeting of 19-20 July 2004 on phytosanitary measures for citrus fruit**. Brussel: SANCO E1/HA D(2004) 511047. 5p.
- European Commission, Health and Consumers Directorate-General. 2012. **Final report of an audit carried out in Brazil from 7 to 18 November 2011 in order to evaluate the system of official controls and certification of citrus fruit for export to the European Union**. DG (SANCO) 2011-6065 – MR FINAL. Ref. Ares (2012) 562722-08/05/2012. 28p.
- EUROPHYT – The European Network of Plant Health Information System. 2016. **EUROPHYT-PHY database**. Disponível em: <<http://europhyt.ec.europa.eu>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- Everett, K.R., Rees-George, J. 2006a. Reclassification of an isolate of *Guignardia citricarpa* from New Zealand as *Guignardia mangiferae* by sequence analysis. **Plant Pathology** 55:194-199.
- Everett, K.R., Rees-George, J. 2006b. Species-specific primers for *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae*. **New Zealand Plant Protection** 59: 141-145.

- Fagan, C., Goes, A. 1999a. Controle da mancha preta, causada por *Guignardia citricarpa*, e sua influência nas características tecnológicas de frutos de laranja 'Natal'. **Fitopatologia Brasileira** 24:281.
- Fagan, C., Goes, A. 1999b. Efeito da severidade da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* na queda de frutos de laranja 'Natal'. **Fitopatologia Brasileira** 24:282.
- Fagan, C., Goes, A. 2000. Efeito da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* nas características tecnológicas do suco de frutos de laranja 'Natal' e 'Valência'. **Summa Phytopathologica** 26:122.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2009. International Standards for Phytosanitary Measures – ISPM 31: **Methodologies for sampling of consignments**. Disponível em: <<https://www.ippc.int/index.php?=13399>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, International Plant Protection Convention. 2014. **ISPM 27, Diagnostic protocol – DP 5: *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa on fruit (2014)**. International Standards for Phytosanitary Measures. 23p. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-ml1513e.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- Feichtenberger, E. 1996. Mancha preta dos citros no Estado de São Paulo. **Laranja** 17:93-108.
- Feichtenberger, E. 2003. Manejo integrado das principais doenças fúngicas dos citros no Brasil. **Fitopatologia Brasileira** 28:76-86.
- Feichtenberger, E. 2004. **Relatório de Missão Técnica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil em Bruxelas, na sede da União Europeia, para apresentação e discussão das propostas apresentadas pelo Mercosul sobre os aspectos fitossanitários de frutos cítricos para exportação**. 5p.
- Feichtenberger, E., Bassanezi, R.B., Spósito, M.B., Belasque Jr., J. 2005. Doenças dos citros (*Citrus* spp.). In: Kimati, H., Amorim, L., Rezende, J.A.M., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Vol. 2. 4a ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda. p. 475-476.
- Feichtenberger, E., Santos, J.M.F., Marin, D.R., Spósito, M.B. 2009. Pulverizações em alto e baixo volume de calda fungicida no controle de mancha preta dos citros (*Guignardia citricarpa*). **Summa Phytopathologica** 35:148.
- Feichtenberger, E., Santos, J.M.F., Spósito, M.B. 2010. Pulverizações em baixo volume no controle das principais doenças fúngicas dos citros. **Citricultura Atual** 74:12-15.

- Feichtenberger, E., Spósito, M.B. 2003. Tratamento de fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeiras 'Valência'. **Fitopatologia Brasileira** 28:310.
- Feichtenberger, E., Spósito, M.B., Aguilar-Vildoso, C.I., Moraes, M.R., Rubim, C.A. 1999. Avaliação de tratamentos fungicidas no controle de mancha preta em frutos de laranjeiras 'Natal'. **Fitopatologia Brasileira** 24:334.
- Feichtenberger, E., Spósito, M.B., Calegari, M., Bassanezi, R.B. 2001a. Competição de fungicidas à base de cobre no controle da mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeiras 'Folha Murcha'. **Fitopatologia Brasileira** 26:444.
- Feichtenberger, E., Spósito, M.B., Calegari, M., Bassanezi, R.B. 2001b. Eficácia de tratamentos fungicidas no controle da mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeiras 'Valência'. **Fitopatologia Brasileira** 26:444.
- Feichtenberger, E., Spósito, M.B., Goes, A., Ribeiro, J.G.B., Ares, M.I., Peralta, A.M., Ploper, D., Cortese, P. 2004. **Relatório de Reunião do Cosave – Comitê de Sanidade Vegetal do Cone Sul - para elaboração do documento “Reporte sobre la evaluación de riesgos de *Guignardia citricarpa* Kiely en frutos cítricos”**. 18p.
- Feichtenberger, E., Spósito, M.B., Vianna, J.H.T. 2000. Tratamentos fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeira 'Valência'. **SummaPhytopathologica** 26:119.
- Feichtenberger, E., Tavel, A.P.R., Moraes, M.R., Rubim, C.A. 1997. Avaliação de fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em frutos de laranjeira 'Pera'. **Fitopatologia Brasileira** 22:261.
- Ferretti, M.O. 2013. **Relação da severidade e localização de sintomas de mancha preta dos citros com a queda prematura de frutos**. 28f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Fialho, M.B., Toffano, L., Pedroso, M.P., Augusto F., Pascholati, S.F. 2010. Volatile organic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* inhibit the *in vitro* development of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 26:925-932.
- Figueiredo, J.G., Goulin, E.H., Tanaka, F., Stringari, D., Kava-Cordeiro, V., Galli-Terasawa, L.V., Staats, C.C., Schrank, A., Glienke, C. 2010. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Guignardia citricarpa*. **Journal of Microbiological Methods** 80:143-147.
- Fischer, I.H., Toffano, L., Lourenço, S.A., Spósito, M.B., Amorim, L. 2008. Incidência de mancha preta em frutos cítricos em diferentes etapas de beneficiamento em *packinghouses* e na Ceagesp SP. **Tropical Plant Pathology** 33:326-330.

- Fogliata, G.M., Canton, N.V., Gálvez, M.R., Ploper, L.D., Muñoz, L. 2004. Eficiência de estrobilurinas en el control de mancha negra de los cítricos (*Guignardia citricarpa*) en limón. **Fitopatologia Brasileira** 29:261.
- Foguet, J.L., Ramallo, N.V., Leal, G.T. 1985. Presencia de mancha negra de los citrus en Tucumán. **Revista Avance Agroindustrial** 6:9-10.
- Fourie, P., Schutte, T., Serfontein, S., Swart, F. 2013. Modeling the effect of temperature and wetness on *Guignardia* pseudothecium maturation and ascospore release in citrus orchards. **Phytopathology** 103:281-292.
- FRAC – Fungicide Resistance Action Committee. 2014. **Pathogen Risk List 2014**. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/pathogen-risk-list.pdf?sfvrsn=8>>. Acesso em: 12 fev. 2016.
- FRAC – Fungicide Resistance Action Committee. 2015. **FRAC Code List**: fungicides sorted by mode of action. Disponível em: <<http://www.frac.info/>>. Acesso em: 6 abr. 2015.
- Frare, 2015. **Influência da idade do fruto no período de incubação e na expressão de diferentes tipos de sintomas da mancha preta dos citros**. 77f. Tese de Doutorado. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- Fundecitrus – Fundo de Defesa da Citricultura. 2015. **Inventário de Árvores e Estimativa de safra da laranja 2015/16 do Cinturão Citrícola de São Paulo e Triângulo Mineiro/Sudoeste Mineiro**. Fundecitrus. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/pes/estimativa>>. Acesso em: 11 dez. 2015.
- Galli, M.A., Silva, C.L., Batista, M.F., Alvarez Junior, J.A.A. 2001. Eficiência do fungicida Folpan Agricur 500 PM no controle de *Guignardia citricarpa* em citros. **Summa Phytopathologica** 27:124.
- Garrán, S.M. 1996. Citrus black spot in the northeast of Entre Rios: etiology, epidemiology and control. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1: 466-471.
- Gasparotto, L., Goes, A., Pereira, J.C.R., Baldassari, R.B. 2004. Ocorrência da mancha preta (*Guignardia citricarpa*) dos citros no Estado de Amazonas. **Summa Phytopathologica** 30:126.
- Ghini, R.; Kimati, H. 2000. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 78p.
- Glienke-Blanco, C. 1999. ***Guignardia citricarpa* Kiely: análise genética, cariotípica e interação com o hospedeiro**. 200f. Tese de Doutorado. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- Glienke-Blanco, C., Aguilar-Vildoso, C.I., Vieira, M.L.C., Barroso, P.A.V., Azevedo, J.L. 2002. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. **Genetics and Molecular Biology** 25:251-255.
- Glienke, C., Pereira, O.L., Stringari, D., Fabris, J., Kava-Cordeiro, V., Galli-Terasawa, L., Cunningham, J., Shivas, R.G., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. 2011. Endophytic and pathogenic *Phyllosticta* species, with reference to those associated with Citrus Black Spot. **Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi** 26:47-56.
- Goes, A. 1998. Controle da mancha preta dos frutos cítricos. **Laranja** 19:305-320.
- Goes, A. 2002. Efeito da combinação de fungicidas sistêmicos e protetores no controle da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa*. **Summa Phytopathologica** 28:09-13.
- Goes, A., Andrade, A.G., Moretto, K.C.K. 2000. Efeito de diferentes tipos de óleos na mistura de benomyl + mancozeb no controle de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. **Summa Phytopathologica** 26:233-236.
- Goes, A., Baldassari, R.B., Feichtenberger, E., Aguilar-Vildoso, C.I., Spósito, M.B. 2000. Cracked spot, a new symptom of citrus black spot in Brazil. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 2:1.001-1.002.
- Goes, A., Bosque, J.J. 2012. Combinação de fungicidas no controle da mancha preta dos citros (MPC). **Fitopatologia Brasileira** 27:115.
- Goes, A., Feichtenberger, E. 1993. Ocorrência da mancha preta causada por *Phyllosticta citricarpa* (Mc Alp) van der Aa (*Guignardia citricarpa* Kiely) em pomares cítricos do estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira** 18:318.
- Goes, A., Graça, J., Barros, J.C.S.M., Pinheiro, J.E. 1990. Controle da pinta preta em frutos de tangerina ‘Rio’ (*Citrus deliciosa*) ocasionada por *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*). **Fitopatologia Brasileira** 15:73-75.
- González Jaimes, E.P. 2005. **Controle de *Guignardia citricarpa* em frutos de laranja ‘Valência’ mediante o uso dos fungicidas pyraclostrobin e carbendazim**. 57 f. Tese de Doutorado. Jaboicabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Goulin, E.H., Savi, D.C., Petters, D.A.L., Kava, V., Galli-Terasawa, L., Silva Jr., G. J., Glienke, C. 2016. Identification of genes associated with asexual reproduction in *Phyllosticta citricarpa* mutants obtained through *Agrobacterium tumefaciens* transformation. **Microbiological Research** 192:142-147.
- Graham, J.H., Gottwald, T.R., Timmer, L.W., Bergamin Filho, A., Van Den Bosch, F., Irey, M.S., Taylor, E., Magarey, R.D., Takeuchi, Y. 2014. Response to “Potential distribution of

- citrus black spot in the United States based on climatic conditions”, Er et al. 2013. **European Journal of Plant Pathology** 139:231-234.
- Hara, K. 1921. Notes on plant pathogens of Shizuoka Prefecture. *Phoma citricarpa* Mac.Alp. **Journal Farmer’s Ass. of Shizuoka Prefecture** 283:35-36.
- Hardy, S., Fallow, K., Barkley, P. 2007. Using Cooper sprays to control diseases in citrus. **Prifefacts** 757:1-5.
- Hattingh, V., Le Houx, H., Schutte, G.C. 2000. **Citrus black spot: pest risk assessment document for the review of current phytosanitary regulations pertaining to the export of fresh citrus fruit from the Republic of South Africa to the EU**. Submitted to the Agriculture Commission of the European Communities by the South African National Department of Agriculture, Directorate Plant Health and Quality, May 2000. 22p.
- Hawksworth, D.L., Crous, P.W., Redhead, S.A., Reynolds, D.R., Samson, R.A., et al. 2011. The Amsterdam declaration on fungal nomenclature. **IMA Fungus** 2:105-112.
- Hendricks, K.E.M., Donahoo, R.S., Roberts, P.D., Christman, M.C. 2013. Effect of copper on growth characteristics and disease control of the recently introduced *Guignardia citricarpa* on citrus in Florida. **American Journal of Plant Sciences** 4:282-290.
- Herbert, J.A., Grech, N.M. 1985. A strain of *Guignardia citricarpa*, the citrus black spot pathogen, resistant to benomyl in South Africa. **Plant Disease** 69:1007.
- Heuberger, J.W., Horsfall, J.W. 1939. Relation of particle size and color to fungicidal and protective value of cuprous oxides. **Phytopathology** 27:301-321.
- Hewitt, H.G. 1998. **Fungicides in crop protection**. Wallingford UK: CAB International. 221p.
- Hidalgo, E.I., Pérez, L. 2010. Diferenciación morfológica, cultural y biológica de *Guignardia citricarpa* y *Guignardia mangiferae* en frutos cítricos de Cuba. **Fitosanidad** 14:141-152.
- Hincapie, M., Wang, N.-Y., Peres, N.A., Dewdney, M.M. 2014. Baseline sensitivity of *Guignardia citricarpa* isolates from Florida to azoxystrobin and pyraclostrobin. **Plant Disease** 98:780-789.
- Hu, J., Johnson, E.G., Wang, N.-Y., Davoglio, T., Dewdney, M.M. 2014. qPCR quantification of pathogenic *Guignardia citricarpa* and non-pathogenic *G. mangiferae* in citrus. **Plant Disease** 98:112-120.
- Huang, C.S., Chang, S.L. 1972. Leaf infection with citrus black spot and perithecial development in relation to ascospore discharge of *Guignardia citricarpa* Kiely. **Journal of Taiwan Forestry and Agricultural Research** 21:256-263.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014. **Produção agrícola municipal – Lavoura permanente – Laranja, Limão e Tangerina – Área colhida**. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php?lang=>>>. Acesso em: 22 out. 2015.
- Ikeda, M. 2011. **Efeito de fungicidas do grupo químico das estrobilurinas no controle da mancha preta dos citros e na qualidade tecnológica dos frutos**. 35 f. Dissertação de Mestrado. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Kaplan, J.D. 1986. **Dispersal gradients and deposition efficiency of *Venturia inaequalis* ascospores and their relation to lesion densities**. PhD Thesis. Durham: University of New Hampshire, USA.
- Kava-Cordeiro, V., Rodríguez, A., Vicent, A., Glienke, C., Peña, L. 2012. *D-limonene* down regulation in transgenic sweet orange provides protection against citrus blacks pot symptoms induced in detached fruits. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1:82.
- Kellerman, C.R., Kotzé, J.M. 1977. The black spot disease of citrus and its control in South Africa. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 3:992-996.
- Kiely, T.B. 1948a. *Guignardia citricarpa* n. sp. and its relationship to the black spot disease of citrus in coastal orchards of New South Wales. **Journal of the Australian Institute of Agricultural Science** 14:81-83.
- Kiely, T.B. 1948b. Preliminary studies on *Guignardia citricarpa* n.sp.: the ascigerous stage of *Phoma citricarpa* McAlp., and its relation to black spot of citrus. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales** 73:249-292.
- Kiely, T.B. 1949. Black spot of citrus in New South Wales coastal orchards. **The Agricultural Gazette of New South Wales** 60:17-20.
- Kiely, T.B. 1950. Control and epiphytology of black spot of citrus on the central coast of New South Wales. **Science Bulletin New South Wales Department of Agriculture** 71: 1-88.
- Kiely, T.B. 1960. Speckled blotch of citrus. **Agricultural Gazette of New South Wales** 71: 474-476.
- Kiely, T.B. 1963. Black spot of Valência oranges. Experiments in control on the central coast of N.S.W. **Agricultural Gazette of New South Wales** 74:652-659.
- Kiely, T.B. 1968. Fungicidal sprays and their influence on disease quality and blemish in Valência oranges-D at Mangrove Mountain Australia. **Agricultural Gazette of New South Wales** 79:613-620.

- Kiely, T.B. 1969. Black spot of citrus. **Agricultural Gazette of New South Wales** 80:658-662.
- Klotz, L.J. 1973. **Color handbook of citrus diseases**. Berkeley: University of California, Division of Agricultural Sciences. 122 p.
- Klotz, L.J. 1978. 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. Division of Agricultural Sciences. p. 1-66. v. 4.
- Korf, H.J.G. 1998. **Survival of *Phyllosticta citricarpa*, anamorph of the citrus black spot pathogen**. 61f. M.Sc. Dissertation. Pretoria: University of Pretoria, South Africa.
- Korf, H.J.G., Schutte, G.C., Kotzé, J.M. 2001. Effect of *packinghouse* procedures of the viability of *Phyllosticta citricarpa*, anamorph of the black spot pathogen. **African Plant Protection** 7:103-109.
- Kotzé, J.M. 1963. **Studies on the black spot disease of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely, with particular reference to its epiphytology and control at Lebata**. 143f. PhD Thesis. Pretoria: University of Pretoria, South Africa.
- Kotzé, J.M. 1981. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. **Plant Disease** 65:945-950.
- Kotzé, J.M. 1988. Black spot. In: Whiteside, J.O., Garnsey, S.M., Timmer, L.W. (Ed.). **Compendium of Citrus Diseases**. St. Paul: APS Press. p. 10-12.
- Kotzé, J.M. 1996. History and epidemiology of citrus black spot in South Africa. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 2:1296-1299.
- Kotzé, J.M., 2000. Black spot. In: Timmer, L.W., Garnsey, S.M., Graham, J.H. (Ed.). **Compendium of Citrus Diseases**. 2a ed. St. Paul: APS Press. p. 23-25.
- Kotzé, J.M. 2009. **Comments on “EFSA (2008) Scientific Opinion of the Panel on Plant Health on a request from the European Commission on *Guignardia citricarpa* Kiely”**. In: Information from South Africa for the EFSA PRA on *Guignardia citricarpa*. Republic of South Africa, Department Agriculture, Forestry and Fisheries, Directorate Plant Health, May 2013. 10p.
- Kuck, K.H. 2005. Fungicide resistance management in a new regulatory environment. In: Dehne, H.W., Gisi, U., Kuck, K.H., Russell, P.E., Lyr, H. **Modern fungicides and anti-fungal compounds IV**: 14th International Reinhardsbrunn Symposium. Friedrichroda, Thuringia, Germany. p. 35-43.
- Kuck, K.H., Russell, P.E., 2006. FRAC: combined resistance risk assessment. **Aspects of Applied Biology** 78:3-10.

- Kupper, K.C., Bettiol, W., Goes, A., Souza, P.S., Bellotte, J.A.M. 2006. Biofertilizer for control of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **Crop Protection** 25:569-573.
- Kupper, K.C., Corrêa, E.B., Moretto, C., Bettiol, W., Goes, A. 2011. Control of *Guignardia citricarpa* by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura** 33:1.111-1.118.
- Laranjeira, F.F., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Aguilar-Vildoso, C.I., Coletta Filho, H.D. 2005. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: Mattos Junior, D., De Negri, J.D., Pio, R.M., Pompeu Junior, J. (Ed.). **Citros**. Campinas, SP: Instituto Agrônômico e Fundag. p. 509-566.
- Lee, H.A. 1920. Black spot of citrus fruits caused by *Phoma citricarpa*. **Philippine Journal of Science** 17:635-641.
- Lee, Y.S. 1969. Pathogenicity of different isolates of *Guignardia citricarpa* Kiely from various sources to Ponkan fruits. **Journal of Taiwan Agricultural Research** 18:45-50.
- Lee, Y.S., Huang, C.S. 1973. Effect of climatic factors on the development and discharge of ascospores of the citrus black spot fungus. **Journal of Taiwan Agricultural Research** 22:135-144.
- Lopes, M.V. 2007. **Mapas de zona de risco de epidemias para doenças dos citros no Estado de São Paulo**. 46 f. Dissertação de Mestrado. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Lourenço, S.A., Gasparoto, M.C.G., Spósito, M.B., Amorim, L., Gottwald, T.R. 2012. Infectious period of citrus black spot on sweet orange. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1: 261.
- Magarey, R.D., Borchert, D.M. 2003. **Risk assessment: *Guignardia citricarpa*, (Citrus black spot)**. USDA-APHIS-CPHST. Plant Epidemiology and Risk Analysis Laboratory (PERAL), North Carolina State University (NCSU), Raleigh, NC, USA, 5p. Disponível em: <<http://www.nappfast.org>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- Magarey, R.D., Chanelli, S., Holtz, T. 2011. **Validation study and risk assessment: *Guignardia citricarpa*, (citrus black spot)**. USDA-APHIS-PPQ-CPHST-PERAL/NCSU, Raleigh, NC. 19p. Disponível em: <http://www.nappfast.org/pest%20reports/guignardia_citricarpa.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- Magarey, R.D., Hong, S.C., Fourie, P.H., Christie, D.N., Miles, A.K., Schutte, G.C., Gottwald, T.R. 2015. Prediction of *Phyllosticta citricarpa* using an hourly infection model and validation with prevalence data from South Africa and Australia. **Crop Protection** 75: 104-114.

- Makowski, D., Vicent, A., Pautasso, M., Stancanelli, G., Rafoss, T. 2014. Comparison of statistical models in a meta-analysis of fungicide treatments for the control of citrus black spot caused by *Phyllosticta citricarpa*. **European Journal of Plant Pathology** 139: 79-94.
- Marin, D.R., Olivetti, M., Spósito, M.B., Silva Junior, G.J. 2011. Correlação entre a localização dos sintomas nos frutos e a vulnerabilidade à queda prematura de frutos de laranja Pera afetados pela mancha preta dos citros. **Tropical Plant Pathology** 36:799.
- Marques, J.P.R., Spósito, M.B., Mello, A.F.S., Amorim, L., Mondin, M., Appezzato-Da-Glória, B. 2012. Histopathology of black spot symptoms in sweet oranges. **European Journal of Plant Pathology** 133:439-448.
- Martinez-Minaya, J., Conesa, D., López-Quilez, A., Vicent, A. 2015. Climatic distribution of citrus black spot caused by *Phyllosticta citricarpa*. A historical analysis of disease spread in South Africa. **European Journal of Plant Pathology** 143:69-83.
- Mayers, P.E., Owen-Turner, J. 1987. Facing a nil tolerance level of black spot disease in citrus destined for export. **Qld. Citrus Bulletin** 2:2-19.
- Mayers, P.E., Owen-Turner, J. 1989. Export citrus: black spot control essential. **Queensland Agricultural Journal** 115:41-42.
- McOnie, K.C. 1964a. Apparent absence of *Guignardia citricarpa* Kiely from localities where citrus black spot is absent. **South African Journal of Agricultural Science** 7:347-354.
- McOnie, K.C. 1964b. Orchard development and discharge of ascospores of *Guignardia citricarpa* and the onset of infection in relation to the control of citrus black spot. **Phytopathology** 54:1448-1453.
- McOnie, K.C. 1964c. Source of inoculum of *Guignardia citricarpa*, the citrus black spot pathogen. **Phytopathology** 54:64-67.
- McOnie, K.C. 1964d. Speckled blotch of citrus induced by the citrus black spot pathogen, *Guignardia citricarpa*. **Phytopathology** 54:1.488-1.489.
- McOnie, K.C. 1964e. The latent occurrence in citrus and other host of a *Guignardia* easily confused with *G. citricarpa*, the citrus black spot pathogen. **Phytopathology** 54:40-43.
- McOnie, K.C. 1965a. Does fungus pathogen of black spot disease occur in citrus in the Cape province? **The South African Citrus Journal** 375:5-7.
- McOnie, K.C. 1965b. Studies on the host range of the black spot fungus. **The South Africa Citrus Journal** 376:3-7.
- McOnie, K.C. 1965c. Source of infection for black spot of citrus. **The South African Citrus Journal** 378:5-9.

- McOnie, K.C. 1967. Germination and infection of citrus by ascospores of *Guignardia citricarpa* in relation to control of black spot. **Phytopathology** 57:743-746.
- Mendes, D., Reis, R.F., Oca, A.G.M., Pereira, G.T., Goes, A. 2005. Aspectos nutricionais e físicos no crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *Phyllosticta citricarpa* (= *Guignardia citricarpa*), agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. **Summa Phytopathologica** 31:349-357.
- Metzker, T.G. 2014. **Determinação das épocas de aplicação de estrobilurina no controle da mancha preta dos citros**. 36f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Meyer, L., Jacobs, R., Kotzé, J.M., Truter, M., Korsten, L. 2012. Detection and molecular identification protocols for *Phyllosticta citricarpa* from citrus matter. **South African Journal of Science** 108:1-6.
- Meyer, L., Sanders, G.M., Jacobs, R., Korsten, L. 2006. A one-day sensitive method to detect and distinguish between the citrus black spot pathogen *Guignardia citricarpa* and the endophyte *Guignardia mangiferae*. **Plant Disease** 90:97-101.
- Meyer, L., Slippers, B., Korsten, L., Kotzé, J.M., Wingfield, M.J. 2001. Two distinct *Guignardia* species associated with citrus in South Africa. **South African Journal of Science** 97:191-194.
- Miles, A.K., Willingham, S.L., Cooke, W. 2004. Field evaluation of strobilurins and a plant activator for the control of citrus black spot. **Australasian Plant Pathology** 33:371-378.
- Miles, A.K., Tan, Y.P., Tan, M.K., Donovan, N.J., Ghalayini, A., Drenth, A. 2013. *Phyllosticta* spp. on cultivated citrus in Australia. **Australasian Plant Pathology** 42:461-467.
- Moran Lemir, A.H., Stadnik, M.J., Buchenauer, H., Canton, N.V. 2000. *In vitro* production of ascospores and pathogenicity of *Guignardia citricarpa*, causal agent of citrus black spot. **Summa Phytopathologica** 26:374-376.
- NAPPO – North American Plant Protection Organization. 2010. **Phytosanitary Alert System: Confirmation of citrus black spot (*Guignardia citricarpa*) in Florida, United States**. Disponível em: <<http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=421>>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- Neves, N.F., Trombin, V.G., Milan, P., Lopes, F.F., Cressoni, F., Kalari, R. 2010. **O retrato da citricultura brasileira**. Ribeirão Preto, SP: FEA. 138p.
- Ninin, M.V.L., Spósito, M.B., Scaloppi, E.A.G., Barbosa, J.C., Barreto, M. 2012. Desenvolvimento e validação de modelo de previsão para mancha preta dos citros em função de variáveis meteorológicas. **Summa Phytopathologica** 38:288-293.

- Noronha, M.D.A. 2002. **Escala diagramática para avaliação da mancha preta em folhas de citros e efeito da temperatura e da duração do molhamento na pré-penetração de conídios de *Guignardia citricarpa* Kiely [*Phyllosticta citricarpa* (McAlp.) van der Aa]**. 67f. Dissertação de Mestrado. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- Nozaki, M.H. 2007. **Produção de estruturas reprodutivas e efeito do ambiente nos tipos de sintomas produzidos por *Guignardia citricarpa* em *Citrus* spp.** 85f. Tese de Doutorado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Nunes, W.M.C., Croce Filho, J., Severino, J.J., Zanutto, C.A., Tessmann, D.J., Maficioli, R., Corazza-Nunes, M.J., Vida, J.B. 2006. Ocorrência de pinta preta, causada por *Guignardia citricarpa*, em tangerineiras ‘Montenegrina’ no sul do Paraná. **Summa Phytopathologica** 32:295.
- Panosso, P.S. 2014. **Eficiência do processo de beneficiamento de laranja doce na redução de incidência de frutos com mancha preta dos citros (*Phyllosticta citricarpa*) em *packinghouse* com frutos destinados ao mercado interno.** 61f. Dissertação de Mestrado. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- Pascholati, S.F., Cardoso Filho, J.A. 2002. *Guignardia citricarpa* em laranja: Bion, ácido salicílico e *Saccharomyces cerevisiae* não controlam o patógeno. **Fitopatologia Brasileira** 27:147.
- Paul, I., Van Jaarsveld, A.S., Korsten, L., Hattingh, V. 2005. The potential global geographical distribution of Citrus Black Spot caused by *Guignardia citricarpa* (Kiely): likelihood of disease establishment in the European Union. **Crop Protection** 24:297-308.
- Peres, N.A., Harakava, R., Carroll, G.C., Adaskaveg, J.E., Timmer, L.W. 2007. Comparison of Molecular Procedures for Detection and identification of *Guignardia citricarpa* and *G. mangiferae*. **Plant Disease** 91:525-531.
- Perryman, S.A.M., West, J.S. 2014. Splash dispersal of *Phyllosticta citricarpa* conidia from infected citrus fruit. **EFSA supporting publication 2014: EN-560**. 30p.
- Possiede, Y.M., Gabardo, J., Kava-Cordeiro, V., Galli-Terasawa, L.V., Azevedo, J.L., Glienke, C. 2009. Fungicide resistance and genetic variability in plant pathogenic strains of *Guignardia citricarpa*. **Brazilian Journal of Microbiology** 40:308-313.
- Pivello, M.A. 2013. **Detecção de *Phyllosticta citricarpa* em folhas e manejo da mancha preta dos citros em limão verdadeiro.** 43f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.

- Punithalingam, E., Woodhams, J.E. 1982. The conidial appendage in *Phyllosticta* spp. **New Hedwigia** 36:151-175.
- Reeder, R., Kelly, P.L., Harling, R. 2009. First confirmed report of citrus black spot caused by *Guignardia citricarpa* on sweet orange (*Citrus sinensis*) in Uganda. **Plant Pathology** 58:399.
- Reis, R.F. 2002. **Influência de controle e de fatores climáticos na produção e liberação de ascósporos de *Guignardia citricarpa*, em pomares de laranjeiras ‘Natal’ e ‘Valência’.** 87f. Dissertação de Mestrado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Reis, R.F., Goes, A., Pereira, G.T. 2003. Efeito da aplicação de oxiclóreto de cobre em diferentes épocas no controle da mancha preta dos citros causada por *Guignardia citricarpa*. **Summa Phytopathologica** 29:12-18.
- Reis, R.F., Timmer, L.W., Goes, A. 2006. Effect of temperature, leaf wetness, and rainfall on the production of *Guignardia citricarpa* ascospores and on black spot severity on sweet orange. **Fitopatologia Brasileira** 31:29-34.
- Riley, T. 2013. **Current situation, management, and economic impact of citrus black spot in Florida, US.** USDA-APHIS-PPQ Citrus Health Response Program. Disponível em: <http://www.nappo.org/files/8714/3744/6721/6_Tom_Riley_Florida_Citrus_Black_Spot_2013_Final_v_1_pdf>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- Rinaldo, D., Reis, R.F., Rodrigues, M.B., Lovatto, C.A., Goes, A. 2006. Efficiency of different rates of copper hydroxide applied under different water volume in *Guignardia citricarpa* control. **Fitopatologia Brasileira** 31:279.
- Robbs, C.F. 1990. A mancha preta dos frutos cítricos (*Phyllosticta citricarpa*): ameaça à citricultura paulista. **Laranja** 11:87-95.
- Robbs, C.F., Pimentel, J.P., Ribeiro, R.L.D. 1980. A mancha preta dos frutos cítricos causada por *Phoma citricarpa*. **Fitopatologia Brasileira** 5:455.
- Robbs, C.F., Pimentel, J.P., Ribeiro, R.L.D. 1985. Mancha preta dos citros: identificação da forma perfeita *Guignardia citricarpa* no Estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira** 10:248.
- Rodrigues, M.B.C., Andreote, F.D., Spósito, M.B., Aguillar-Vildoso, C.I., Araújo, W.L., Pizzirani-Kleiner, A.A. 2007. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42:323-327.
- Rodríguez, V.A., Avanza, M.M., Mazza Gaiad, S.M., Giménez, L.I. 2010. Efecto del pyraclostrobin en el control de mancha negra de los cítricos. **Summa Phytopathologica** 36:334-337.

- Rodríguez, V.A., Mazza Gaiad, S.M., 1996. The effect of fungicide and fertilization on the control of black spot of citrus (*Guignardia citricarpa*). **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1:482-484.
- Rosseti, V.V. (Ed). 2001. **Manual ilustrado de doenças dos citros**. Piracicaba, SP: FEALQ. 207p.
- Rosseti, V.V., Muller, G.W., Costa, A.S. 1993. **Doenças dos citros causadas por algas, fungos, bactérias e vírus**. Campinas, SP: Fundação Cargill. 84p.
- Rossêto, M.P. 2009. **Resistência varietal e manejo da mancha preta dos citros**. 75f. Dissertação Mestrado. Campinas, SP: Instituto Agrônômico de Campinas.
- Rossêto M.P., Azevedo, F.A., Martelli, I.B., Schinor, E.H. 2011. Avaliação da mancha preta dos citros em diferentes variedades de laranja doce. **Bragantia** 70:58-63.
- Santos, P.J., Savi, D.C., Gomes, R.R., Goulin, E., da Costa, C.S., Tanaka, F.A., Almeida, A.M., Galli-Terasawa, L., Kava, V., Glienke, C. 2016. *Diaporthe endophytica* and *D. terebinthifolii* from medicinal plants for biological control of *Phyllosticta citricarpa*. **Microbiological Research** 186-187: 153-160.
- Scaloppi, E.M.T. 2006. **Determinação do efeito curativo de infecções de *Guignardia citricarpa* em frutos mediante o emprego de fungicidas sistêmicos e mesotêmicos**. 88f. Dissertação de Mestrado. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- Scaloppi, E.M.T. 2010. **Mancha preta dos citros: técnicas de manejo e queda precoce de frutos**. 65f. Tese de Doutorado. Jaboticabal, SP: Universidade Estadual Paulista.
- Scaloppi, E.M.T., Aguiar, R.L., Goes, A.D., Spósito, M.B. 2012. Efeito do manejo cultural e químico na incidência e severidade da mancha-preta dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura** 34:102-108.
- Schinor, E.H., Mourão Filho, F.A.,A., Aguilar-Vildoso, C.I., Teófilo Sobrinho, J. 2002a. Colonização de folhas de laranja 'Pêra' e variedades afins por *Guignardia citricarpa*. **Fitopatologia Brasileira** 27:479-483.
- Schinor, E.H., Mourão Filho, F.A.A., Aguilar-Vildoso, C.I., Teófilo Sobrinho, J. 2002b. Incidência e severidade da mancha preta dos citros em seleções de laranja 'Pêra' e variedades afins. **Laranja** 23:387-400.
- Schubert, T.S., Dewdney, M.M., Peres, N.A., Palm, M.E., Jeyaprakash, A., Sutton, B., Mondal, S.N., Wang, N.-Y., Rascoe, J., Picton, D.D. 2012. First report of *Guignardia citricarpa* associated with Citrus black spot on sweet orange (*Citrus sinensis*) in North America. **Plant Disease** 96:1225.

- Schubert, T.S., Sutton, B., Jeyaprakash, A. 2010. **Citrus black spot (*Guignardia citricarpa*) discovered in Florida**. Pest Alert DACS-P-01723. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. p. 3. Disponível em: <<https://www.freshfromflorida.com/content/download/9770/134888/guignardia-citricarpa.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- Schuepp, H. 1961. Studies on *Guignardia citricarpa* Kiely, the causal organism of black spot of *Citrus*. **Phytopathologische Zeitschrift** 40:258-271.
- Schutte, G.C. 1995. **Evaluation of control strategies for citrus black spot in southern Africa**. 145f. PhD Thesis. Pretoria: University of Pretoria, South Africa.
- Schutte, G.C. 2006. The order of benzimidazol and strobilurin applications in a spray programme for the control of citrus black spot. **South African Fruit Journal** 5:36-39.
- Schutte, G.C., Beeton, K.V., Kotzé, J.M., 1997. Rind stippling on Valencia oranges by copper fungicides used for control of citrus black spot in South Africa. **Plant Disease** 81:851-854.
- Schutte, G.C., Kotzé, J.M. 1997. Grass mulching as part of an integrated control programme for the control of citrus black spot. **Citrus Journal** 7:18-20.
- Schutte, G.C., Kotzé, J.M., van Zyl, J.C., Fourie, P.H. 2012. Assessment of retention and persistence of copper fungicides on orange fruit and leaves using fluorometry and copper residue analyses. **Crop Protection** 42:1-9.
- Schutte, G.C., Mansfield, R.I., Smith, H., Beeton, K.V. 2003. Application of azoxystrobin for control of benomyl-resistant *Guignardia citricarpa* on 'Valencia' oranges in South Africa. **Plant Disease** 87:784-788.
- Schutte, G.C., Tollig, B., Mansfield, R.I., Kotzé, J.M., 1996a. Effect of kresoxim-methyl and azoxystrobin for the control of a benzimidazole resistant strain of citrus black spot. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1: 345-350.
- Schutte, G.C., Visser, A.A., Oosthuizen, M.C., Kotzé, J.M. 1996b. The use of random amplified polymorphic DNA markers for the detection of genetic diversity in *Phyllosticta citricarpa*. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1: 373-378.
- Seberry, J.A., Leggo, D., Kiely, T.B. 1967. Effect of skin coating on the development of black spot in stored Valencia orange. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry** 7:593-600.
- Silva, A.R.P. 2013a. **Avaliação de fungicidas e da substituição de óleo mineral por adjuvante organossiliconado com redução do volume de calda no controle da mancha preta dos citros**. 43f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.

- Silva, F.P. 2013b. **Adequação de doses de fungicidas, volume de calda e intervalo de aplicações no controle da mancha preta dos citros**. 34f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Silva, L.F.B. 2013c. **Monitoramento de inóculo de *Phyllosticta citricarpa* e efeito do controle cultural da mancha preta dos citros em pomar de laranja doce**. 32f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Silva, S.X.B., Nunes, C.C.S., Santana, O.S., Guimarães, R.S., Santos Filho, H.P., Aguilari-Vildoso, C.I. 2013. Serviço de vigilância ativa da defesa agropecuária detectou nova ocorrência fitossanitária na citricultura baiana. **Bahia Agrícola** 9:30-37.
- Silva Junior, G.J., Pereira, R.G., Marin, D.R., Wulff, N.A., Scapin, M.S., Sala, I. 2012. First report of false melanose symptoms of citrus black spot on sweet orange leaves in Brazil. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1:260.
- Silva Junior, G.J., Scapin, M.S., Silva, F.P., Silva, A.R.P., Behlau, F., Ramos, H.H. 2016. Spray volume and fungicide rates for citrus black spot control based on tree canopy volume. **Crop Protection** 85:38-45.
- Silva Junior, G.J., Spósito, M.B. 2014. **Pinta preta: medidas essenciais de controle**. Araraquara, SP: Fundecitrus. 20p.
- Silva-Pinhati, A.C.O., Goes, A., Wickert, E., Almeida, T.F., Machado, M.A. 2009. Mancha preta dos citros: epidemiologia e manejo. **Laranja** 30:45-64.
- Sivanesan, A. 1984. **The bitunicate ascomycetes and their anamorphus**. Germany: J. Cramer. 701p.
- Smith, J.H. 1996. A study of the effect of various disease control programs on spore release of the citrus black spot pathogen *Guignardia citricarpa* Kiely. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1: 351-352.
- Snowdon, A.L. 1990. Black spot of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely. In: Snowdon et al. (Ed.). **A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables: general introduction and fruits**. London, UK: Worfe Scientific Ltd. p.62-63. v. 1.
- Soga, K.H. 1920. Black spot of citrus fruit. **Journal of Plant Protection** 7:519-526.
- Sousa, P.F.C., Goes, A. 2010. Reação de laranjeiras doces quanto à resistência a *Guignardia citricarpa*. **Revista Brasileira de Fruticultura** 32:718-725.
- Spósito, M.B. 2003. **Dinâmica temporal e espacial da mancha-preta (*Guignardia citricarpa*) e quantificação dos danos causados à cultura dos citros**. 112f. Tese de Doutorado. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- Spósito, M.B. 2006. Mancha ou pinta preta dos citros. In: Zambolim, L., Bassanezi, R.B. (Ed.). **Doenças quarentenárias dos citros**. Viçosa: Livraria Universo Agrícola. p.93-108.
- Spósito, M.B., Aguilar-Vildoso, C.I., Feichtenberger, E., Moraes, M.R., Rubim, C.A. 1999. Avaliação de tratamentos fungicidas no controle de mancha preta em frutos de laranjeiras 'Natal'. **Fitopatologia Brasileira** 24:334.
- Spósito, M.B., Aguilar-Vildoso, C.I., Moraes, M.R., Feichtenberger, E. 2000. Época de aplicação de fungicida no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeira 'Pêra'. **Summa Phytopathologica** 26:119.
- Spósito, M.B., Amorim, L., Bassanezi, R.B., Bergamin Filho, A., Hau, B. 2008. Spatial pattern of black spot incidence within citrus trees related to disease severity and pathogen dispersal. **Plant Pathology** 57:103-108.
- Spósito, M.B., Amorim, L., Bassanezi, R.B., Yamamoto, P.T., Felipe, M.R., Czermainski, A. B.C. 2011. Relative importance of inoculum sources of *Guignardia citricarpa* on the citrus black spot epidemic in Brazil. **Crop Protection** 30:1.546-1.552.
- Spósito, M.B., Amorim, L., Belasque Jr., J., Bassanezi, R.B., Aquino, R. 2004a. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira** 29:81-85.
- Spósito, M.B., Amorim, L., Ribeiro Junior, P.J., Bassanezi, R.B., Krainski, E.T. 2007. Spatial pattern of trees affected by black spot in citrus groves in Brazil. **Plant Disease** 91:36-40.
- Spósito, M.B., Bassanezi, R.B., Amorim, L. 2004b. Resistência à mancha-preta dos citros avaliada por curvas de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira** 29:532-537.
- Stammler, G., Schutte, G.C., Speakman, J., Miessner, S., Crous, P.W. 2013. *Phyllosticta* species on citrus: risk estimation of resistance to QoI fungicides and identification of species with cytochrome b gene sequences. **Crop Protection** 48:6-12.
- Stringari, D., Glienke, C., Christo, D., Maccheroni, W.J., Azevedo, J.L. 2009. High molecular diversity of the fungus *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae* and new primers for the diagnosis of the citrus black spot. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 52:1063-1073.
- Sutton, B.C., Waterston, J.M. 1966. *Guignardia citricarpa*: descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Surrey, England, Kew: Commonwealth Mycological Institute. n. 85.
- Takeuchi, H. 1931. Study on the strains of citrus black spot pathogens. **Journal of Plant Protection** 18:319-328.
- Timmer, L.W. 1999. Diseases of fruit and foliage. In: Timmer, L.W., Duncan, L.W. (Ed.) **Citrus Health Management**. Saint Paul MN: APS Press. p. 107-115.

- Timmer, L.W., Garnsey, S.M., Broadbent, P. 2003. Diseases of citrus. In: Ploetz, R.C. (Ed.) **Diseases of tropical fruit crops**. Cambridge: CABI Publishing. p. 163-196.
- Timossi, A.J., Goes, A., Kupper, K.C., Baldassari, R.B., Reis, R.F. 2003. Influência da temperatura e da luminosidade no desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira** 28:489-494.
- Tollig, B., van der Merwe, J.L., Schutte, G.C. 1996. BAS 490 F: a new fungicidal strobirulin for the control of citrus black spot. **Proceedings of the International Society Citriculture** 1:369-372.
- Tomlinson, J.A., Ostoja-Starzewska, S., Webb, K., Cole, J., Barnes, A., Dickinson, M., Bonham, N. 2013. A loop-mediated isothermal amplification-based method for confirmation of *Guignardia citricarpa* in citrus black spot lesion. **European Journal of Plant Pathology** 136:217-224.
- Truter, M., Kotzé, J.M., Janse van Rensburg, T.N., Korsten, L. 2004. A sampler to determine available *Guignardia citricarpa* inoculum on citrus leaf litter. **Biosystems Engineering** 89:515-519.
- Truter, M., Labuschagne, P.M., Kotzé, J.M., Meyer, L., Korsten, L. 2007. Failure of *Phyllosticta citricarpa* pycnidiospores to infect Eureka lemon leaf litter. **Australasian Plant Pathology** 36:87-93.
- Tsai, Y.P. 1981. Citrus black spot control in Taiwan. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 1:344-346.
- Tsai, Y-P., Shiao, L., Liao, T.H., Sun, M.H. 1977. Field trials of citrus black spot control in Taiwan. **Plant protection Bulletin** 19:140-145.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. 2010a. **Confirmation of Citrus black Spot (*Guignardia citricarpa*) in Florida**. DA-2010-12, April 7. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus/downloads/black_spot/DA-2010-12-florida.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. 2010b. ***Guignardia citricarpa* (Citrus Black Spot, CBS). Technical working group final report**. 12p. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus/downloads/black_spot/cbs-twg_report_6-2-10.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. 2010c. **Risk assessment of *Citrus* spp. fruit as a pathway for the intro-**

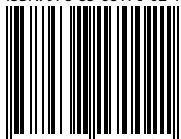
- duction of *Guignardia citricarpa* Kiely, the organism that causes Citrus Black Spot disease.** Center for Plant Health Science and Technology, Plant Epidemiology and Risk Analysis Laboratory, Raleigh, NC, USA. 34p. Disponível em: <http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus/downloads/black_spot/cbs-risk-assessment.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. 2011. **APHIS-approved packing house procedures for *Guignardia citricarpa*, causal agent of Citrus Black Spot (CBS).** Disponível em: <http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus/black_spot>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. 2012a. Importation of fresh citrus fruit, including sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), lemon (*C. limon* (L.) Burm. f.), mandarin (*C. reticulata* Blanco, *C. clementina* Hort. ex Tanaka, *C. deliciosa* Ten., *C. unshiu* Marcow.), citrus hybrids, and the citrus-related genus *Fortunella* (*F. japonica* (Thunb.) Swingle, *F. margarita* (Lour.) Swingle), from Uruguay into the continental United States. A qualitative pathway-initiated risk assessment. **Federal Register** 6:122p.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service). 2012b. **Quarantine for *Guignardia citricarpa* Kiely, causal agent of Citrus Black Spot (CBS).** DA-1012, March 16. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus/downloads/black_spot/DA-2012-09-federalorder.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2015.
- USDA/APHIS – United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. 2013. Importation of fresh citrus fruit from Uruguay, including *Citrus* hybrids and *Fortunella* spp., into the Continental United States. **Federal Register** 78 (132):41259-41265.
- Van Gent-Pelzer, M.P.E., van Brouwershaven, I.R., Kox, L.F.F., Bonants, P.J.M. 2007. A Taq-Man PCR method for routine diagnosis of the quarantine fungus *Guignardia citricarpa* on citrus fruit. **Journal of Phytopathology** 155:357-363.
- Vázquez, H. 2007. **Notificación de plaga: mancha negra de los cítricos causada por el hongo *Guignardia citricarpa* Kiely (*Phoma citricarpa* McAlpine).** Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Ministério de la Agricultura. 2p.
- Vicent, A., Garcia-Jiménez, J. 2008. Risk of establishment of non-indigenous diseases of citrus fruit and foliage in Spain: an approach using meteorological databases and tree canopy climate data. **Phytoparasitica** 36:7-19.

- Vieira Junior, J.R., Fernandes, C.F., Antunes, J., Silva, D.S.G., Reis, N.D., Lima, R.F., Fernandes Neto, A. Silva, R.B. 2010. Levantamento da ocorrência da pinta preta dos citros em Rondônia. **Tropical Plant Pathology** 35:182.
- Vinhas, T. 2011. **Controle químico da *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos citros em frutos de laranja 'Valência'**. 31f. Dissertação de Mestrado. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Wager, V.A. 1945. Black spot of oranges. **Farming in South Africa** 20:571-576.
- Wager, V.A. 1949. The occurrence of the black-spot fungus in the citrus areas of South Africa. **Farming in South Africa** 24:367-374.
- Wager, V.A. 1952. The black spot disease of citrus in South Africa. **Citrus Grower** 227:5-12.
- Wang, C.K., Tsai, Y.P. 1974. Cultural and morphological comparison on *Phoma citricarpa* and *P.citricarpa* var. *mikan* in imperfect and perfect stages. **Plant Protection Bulletin** 16: 141-152.
- Wang, X., Chen, G., Huang, F., Zhang, J., Hyde, K.D., Li, H. 2011. *Phyllosticta* species associated with citrus diseases in China. **Fungal Diversity** 52:209-224.
- Whiteside, J.O. 1965. Black spot disease in Rhodesia: A review of current information. **Rhodesian Agricultural Journal** 64:87-91.
- Whiteside, J.O. 1967. Sources of inoculum of the black spot fungus *Guignardia citricarpa* in infected Rhodesian citrus orchards. **The Rhodesia, Zambia and Malawi Journal of Agricultural Research** 5:171-177.
- Wickert, E., Goes, A., Lemos, E.G.M, Souza, A., Silveira, E.L., Pereira, F.D., Rinaldo, D. 2009. Relações filogenéticas e diversidade de isolados de *Guignardia* spp. oriundos de diferentes hospedeiros nas regiões ITS1-5,8S-ITS2. **Revista Brasileira de Fruticultura** 31:360-380.
- Wickert, E., Lemos, E.G.M., Kishi, T.L., Souza, A., Goes, A. 2012. Genetic diversity and population differentiation of *Guignardia mangiferae* from 'Tahiti' acid lime. **The Scientific World Journal** ID 125654:11p.
- Wulandari, N.F., To-Ann, C., Hyde, K.D., Duong, L.M., De Gruyter, J., Meffert, J.P., Groenewald, J.Z., Crous, P.W., 2009. *Phyllosticta citriasiana* sp. nov., the cause of citrus tan spot of *Citrus maxima* in Asia. **Fungal Diversity** 34:23-39.
- Ying, G., Liu, K., Wei, D. 1981. Investigation of latent infection by pathogenic fungi in the tissues of citrus trunks, twigs and leaves. **Journal of Nanjiing Agricultural College** 4:54-61.

- Yonow, T., Hattingh, V., Villiers, M. 2013. CLIMEX modeling of the potential global distribution of the citrus black spot disease caused by *Guignardia citricarpa* and the risk posed to Europe. **Crop Protection** 44:18-28.
- Yonow, T., Kriticos, D.J. 2014. Misconstrued risks from citrus black spot in colder climates: a response to Er et al. 2013. **European Journal of Plant Pathology** 139:231-236.
- Zavala, M.G.M., Er, H.L., Goss, E.M., Wang, N.Y., Dewdney, M., van Bruggen, A.H.C. 2014. Genetic variation among *Phyllosticta* strains isolated from citrus in Florida that are pathogenic or nonpathogenic to citrus. **Tropical Plant Pathology** 39:119-128.
- Zheng, X.M. 1983. Studies on the black spot of citrus (*Guignardia citricarpa* Kiely). **Journal of the South China Agricultural College** 4:53-60.



ISBN: 978-85-68170-02-1



9 788568 170021