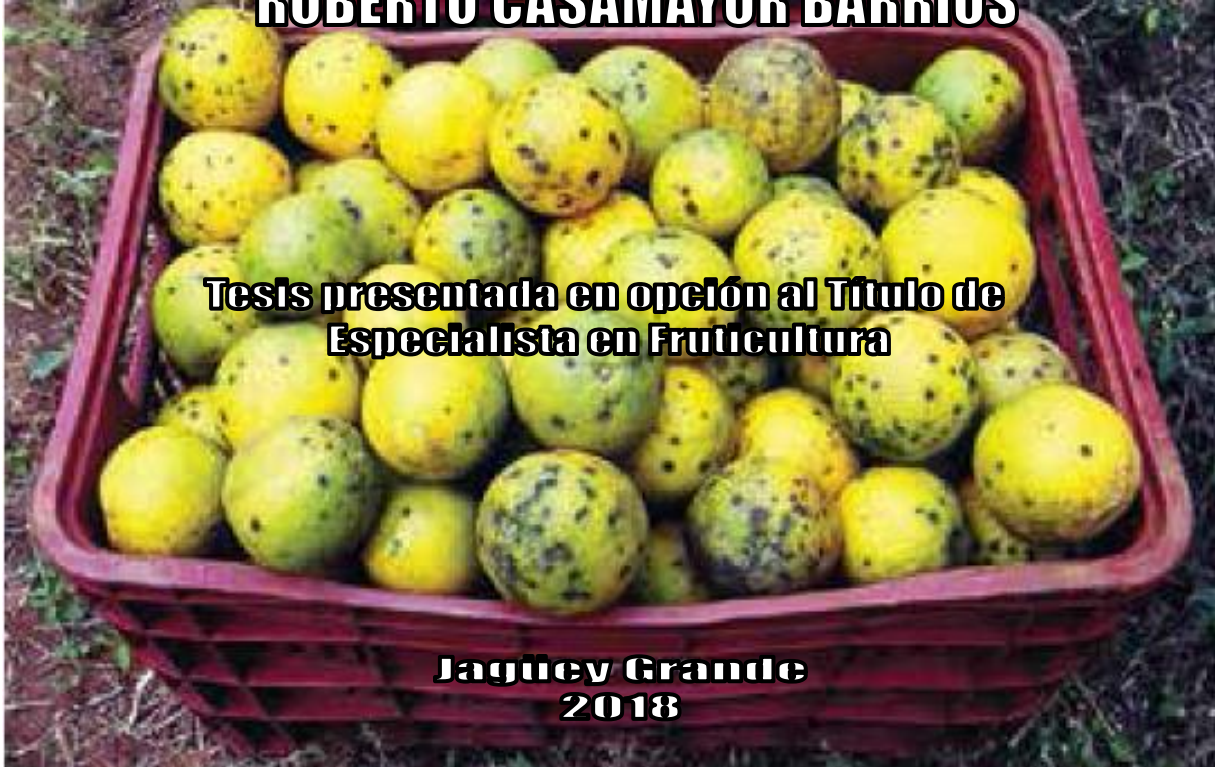




**UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS Y DE MANEJO
DE LA MANCHA NEGRA DE LOS CÍTRICOS
EN JAGÜEY GRANDE**

ROBERTO CASAMAYOR BARRIOS



**Tesis presentada en opción al Título de
Especialista en Fruticultura**

**Jagüey Grande
2018**



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS Y DE MANEJO DE LA MANCHA NEGRA DE LOS CÍTRICOS EN JAGÜEY GRANDE

Tesis presentada en opción al Título de
Especialista en Fruticultura

Autor: Ing. Roberto Casamayor Barrios

Tutor: Dr. C. Miguel Aranguren González

Jagüey Grande

2018

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre, el Dr. C. Roberto Casamayor García, quien legó en mi las ansias de superación y la avidez por el conocimiento, cómplice de mis tesis de ingeniería y maestría; también de esta, aunque no esté físicamente.

A mis abuelos, sin ellos todo habría sido más difícil.

A mi madre, sobran razones.

A mi esposa, compañera de vida y soporte de todos mis proyectos.

A mis hijas.

AGRADECIMIENTOS

Doy las gracias a mi tutor el Dr. C. Miguel Aranguren González por su total entrega en la confección de este trabajo, al Dr. C. Ramón Liriano, artífice y propulsor de la Especialidad de fruticultura, a mis profesores y compañeros de curso.

A todos muchas gracias

RESUMEN

La mancha negra de los cítricos (MNC) causada por el hongo *Guignardia citricarpa* Kiely, se reporta en Cuba en el año 2007 durante la comercialización de frutos de naranja 'Valencia' (*Citrus sinensis* L. Osb.) de la Empresa Citrícola "Victoria de Girón" de Jagüey Grande, provincia de Matanzas. Se determinó la distribución espacio-temporal de la mancha negra de los cítricos, en dos campos uno con baja incidencia y otro con incidencia media, divididos en cuadrantes de 2x2, 4x4, 6x6, 8x8. Se determinó la distribución temporal de la mancha negra de los cítricos, en las condiciones de Jagüey Grande y se realizó el ajuste a los modelos epidemiológicos correspondientes. Se realizaron evaluaciones del momento de la cosecha con relación a la incidencia y severidad de la MNC y la efectividad de la estrategia de manejo con fungicidas, se determinó con la incorporación de una estrobilurina (Regnum EC 25) a los tratamientos con productos tradicionales y la evaluación de aspectos como la incidencia, severidad y caída de frutas antes de la cosecha. Los resultados muestran que el ajuste de los datos de incidencia y severidad a modelos matemáticos, mostró que el modelo lineal ($R^2=0.94$), fue quien mejor describió la relación entre las variables analizadas. La curva de progreso temporal de frutos con síntomas de MNC mostró el mejor ajuste al modelo Monomolecular con R^2 de 0.96. En las plantaciones donde la cosecha se realizó de forma temprana (febrero) la incidencia de frutos con mancha negra resultó más baja que en las cosechadas de forma tardía. Con la incorporación de la estrobilurina Regnum 25 EC al tratamiento de manejo de la enfermedad con fungicidas, se obtuvo una disminución de la incidencia, severidad y caída de frutas antes de la cosecha, en comparación con el tratamiento tradicional. Estos resultados son de utilidad para el diseño de las estrategias de control de la enfermedad en las condiciones de Jagüey Grande.

Palabras clave: distribución, intensidad, control.

INDICE	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Generalidades sobre la mancha negra de los cítricos	3
2.1.1. Antecedentes y distribución mundial de la enfermedad.....	3
2.1.2. Informe de la mancha negra de los cítricos en Jagüey Grande	4
2.2. Sintomatología de la mancha negra de los cítricos	4
2.2.1. Síntomas foliares	4
2.2.2. Síntomas en frutos	5
2.2.3. Otras afectaciones causadas por el patógeno	8
2.2.4. Caracterización del patógeno	8
2.3. Susceptibilidad de cultivares y etapas del cultivo más susceptibles	11
2.3.1. Cultivares más susceptibles	11
2.3.2. Etapas del cultivo susceptibles al patógeno	12
2.3.3. Incidencia del clima en el desarrollo de la mancha negra.....	13
2.4. Epidemiología de la mancha negra de los cítricos	13
2.4.1. Ciclo primario de la enfermedad	14
2.4.2. Ciclo secundario de la enfermedad.....	15
2.4.3. Análisis espacial.....	17
2.4.4. Análisis temporal.....	19
2.5. Estrategias de manejo de la mancha negra de los cítricos.....	22
2.5.1. Exclusión	23
2.5.2. Erradicación.....	23
2.5.3. Terapia.....	24
2.5.4. Regulación.....	24
2.5.5. Protección.....	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	30
3.2. Características generales de las plantaciones	30
3.3. Distribución espacio-temporal de la MNC en Jagüey Grande.....	31
3.3.1. Distribución espacial en el campo de plantas con MNC	31
3.3.2. Distribución espacial en el árbol de frutos con MNC	32
3.3.3. Dinámica temporal de la MNC	33
3.3.4. Relación incidencia - severidad de la MNC.....	34
3.4. Aspectos básicos para desarrollar estrategias de manejo de la MNC.....	35
3.4.1. Crecimiento de los frutos y susceptibilidad a la MNC	35

3.4.2. Relación del momento de la cosecha con la incidencia de MNC	35
3.4.3. Integración del tratamiento con estrobilurinas al control de MNC	36
3.5. Programas estadísticos utilizados.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1. Distribución espacio-temporal de la MNC en Jagüey Grande.....	38
4.1.1. Distribución espacial en el campo de plantas con MNC	38
4.1.2. Distribución espacial en el árbol de frutos con MNC	40
4.1.3. Dinámica temporal de la MNC	42
4.1.4. Relación incidencia - severidad de la MNC	44
4.2. Aspectos básicos para desarrollar estrategias de manejo de la MNC.....	46
4.2.1. Crecimiento de los frutos y susceptibilidad a la MNC	46
4.2.2. Relación del momento de la cosecha con la incidencia de MNC	48
4.2.3. Integración del tratamiento con estrobilurinas al control de MNC	50
5. CONCLUSIONES	54
6. RECOMENDACIONES	55
7. BIBLIOGRAFÍA	56
8. ANEXOS	68

1. INTRODUCCIÓN

Los rendimientos de los cítricos pueden estar limitados por un conjunto de factores, bióticos y abióticos tales como: clima, suelo, potencial genético de los cultivares, uso de los patrones, nutrición, riego, control de malezas; así como la presencia de plagas y enfermedades (Pérez, 1995). Durante la Reunión General de Coordinadores de la Red Interamericana de Cítricos (RIAC), celebrada en La Habana, Cuba, en octubre del 2006, se incluyó entre sus actividades, el taller factores restrictivos de la citricultura en el continente, en el que se debatieron temas medulares como el cambio climático, los factores económicos y la situación fitosanitaria (RIAC, 2007).

En el año 2007 la enfermedad fungosa, mancha negra de los cítricos (MNC) se detectó en frutos de naranjo Valencia de la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón (EAIVG), durante su comercialización al mercado europeo; esto fue confirmado con muestreos a las plantaciones y diagnóstico de laboratorio, convirtiéndose en una problemática fitosanitaria de especial atención, sumado a las enfermedades ya establecidas.

La MNC causada por el patógeno *Guignardia citricarpa* Kiely, provoca daños cualitativos y cuantitativos, los primeros, como consecuencia de los síntomas de la enfermedad sobre la corteza de las frutas, que los torna menos atractivos a los consumidores del mercado de frutas frescas y restringen las exportaciones a países donde la enfermedad no está presente, como es el caso de los países de la UE. Los daños cuantitativos están relacionados con la caída prematura de los frutos que reducen la productividad de las plantas afectadas (Da Silva *et al.*, 2016).

Ante la presencia de estas enfermedades fungosas de difícil control y que afectan significativamente al cultivo de los cítricos con limitaciones a la calidad de los frutos y los rendimientos, es necesario establecer el comportamiento epidemiológico de la enfermedad y una estrategia de manejo eficiente, que tenga en cuenta entre otros aspectos, la tecnología del cultivo y la distribución e intensidad de las afectaciones en cada plantación.

Problema

La necesidad de profundizar en el conocimiento epidemiológico de la mancha negra de los cítricos y de aplicar medidas de control eficientes, en plantaciones de naranja Valencia para disminuir las afectaciones a los rendimientos y calidad de los frutos en la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón en Jagüey Grande.

Hipótesis

Si se determinan aspectos epidemiológicos de la mancha negra de los cítricos en la naranja Valencia y se establecen estrategias de manejo eficientes de la enfermedad, entonces se podrán reducir los daños por esta enfermedad en la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón en Jagüey Grande.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar aspectos epidemiológicos, manejo de cosecha y efectividad de fungicidas para el control de la mancha negra de los cítricos en la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón en Jagüey Grande.

Objetivos específicos

- Determinar aspectos epidemiológicos de la mancha negra de los cítricos en plantaciones de naranja Valencia en Jagüey Grande.
- Establecer la relación del momento de la cosecha con la incidencia de la enfermedad y desarrollo de los frutos.
- Evaluar la integración de tratamientos fungicidas en las estrategias de control de la enfermedad.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades sobre la mancha negra de los cítricos

2.1.1. Antecedentes y distribución mundial de la enfermedad

La mancha negra de los cítricos (MNC) fue descrita por primera vez en Australia en el año 1895, causando daños en frutos de naranjo 'Valencia', con pérdidas considerables tanto en la etapa de pre como de poscosecha (Sutton y Waterston, 1966). En 1925 se informa en África del Sur (Doige, 1929), donde se convirtió en un grave problema fitosanitario para el cultivo de los cítricos en ese país (Shutte *et al.*, 1997).

En la actualidad, la enfermedad se encuentra distribuida en varios países de África (Mozambique, Zimbabwe, África del Sur), en Asia (China, Corea, Hong-Kong, Filipinas, Taiwán, Japón), Oceanía (Australia) y América de Sur (Argentina, Perú, Uruguay y Brasil). Entre estos países, las mayores pérdidas han sido registradas en África del Sur, Japón, Argentina y, principalmente en Brasil (Feichtenberger, 1996).

Esta enfermedad fue detectada en frutos de la región de Brasil a fines de la década del 80. Es posible que haya estado presente desde años anteriores y haya pasado inadvertida o confundida con otras afecciones. Una vez detectada, pudo constatarse que su incidencia era elevada solo en plantas de limoneros. Desde entonces, todos los años se registran nuevos focos. Sin embargo, excepto en limoneros, tanto en naranjas como en mandarinas y pomelos, las infecciones se presentan restringidas a pequeños sectores o focos dentro de los lotes (Goes *et al.*, 2004).

A pesar de la baja incidencia y severidad que presentó esta enfermedad en Brasil, representó serios perjuicios económicos para los propietarios de los lotes afectados puesto que implicó la imposibilidad de registrar esos lotes para la exportación, por ser una enfermedad cuarentenada para los países de la Unión Europea y el mercado de los EEUU. Como ha ocurrido en otras regiones cítricas del mundo, esta se caracteriza por tener un prolongado período de incubación a nivel epidemiológico y

finalmente, más temprano o más tarde, termina por alcanzar altos niveles de incidencia y severidad (Goes *et al.*, 2004).

A escala global la MNC nunca fue informada en regiones productoras de cítricos de clima mediterráneo donde los inviernos son fríos y lluviosos y los veranos calientes y secos como en Europa Meridional (España, Italia y Grecia), el estado de California en los EU, al suroeste de África del Sur (Región del Cabo) y al suroeste de Australia. (Da Silva *et al.*, 2016).

2.1.2. Informe de la mancha negra de los cítricos en Jagüey Grande

La presencia de la MNC fue informada en las condiciones de Jagüey Grande a finales del año 2007, durante la comercialización de frutos de naranja Valencia en Europa. Esta enfermedad y la presencia del patógeno se confirmó por muestreos y análisis de laboratorio realizados por los laboratorios de sanidad vegetal. Su establecimiento en las plantaciones de la empresa constituyó una limitante para la exportación de frutos frescos de naranja hacia Europa, y se inició el establecimiento de estrategias de manejo de esta enfermedad (EAIVG., 2009).

2.2. Sintomatología de la mancha negra de los cítricos

2.2.1. Síntomas foliares

Los síntomas de la mancha negra de los cítricos, se observan con poca frecuencia en las hojas y en el pedúnculo de los frutos; no obstante, cuando se ha observado en estos órganos, ha sido en limones verdaderos y en mandarinos, donde los síntomas se caracterizan por la presencia de lesiones necróticas pequeñas, con centro grisáceo y bordes bien definidos, de coloración marrón-oscuro (Kotzé, 1981).

En diferentes especies cítricas las hojas de plantas debilitadas, también pueden mostrar los síntomas típicos de la enfermedad, no obstante, de forma general aunque estén infectadas, raramente manifiestan síntomas durante sus tres años de vida útil (McOnie, 1967).

En observaciones preliminares realizadas en Corrientes, Argentina, no se ha observado en hojas caídas, el estado ascospórico del hongo. Sin embargo, sí se

observa con frecuencia ese estado del hongo en el Noroeste. Este factor determina diferencias fundamentales en la epidemiología de la enfermedad (Canteros, 2000).

Según Goes *et al.* (2004) los síntomas en hojas son menos frecuentes y la colonización final y fructificación sobre las mismas se da recién cuando éstas se desprenden y caen pasando a formar parte de la hojarasca. Es allí, en la hojarasca, donde tiene lugar la producción de la principal fuente de inóculo, las fructificaciones sexuales, los peritecios (produciendo ascos y éstos el inóculo, las ascosporas). Las ascosporas se diseminan por la acción del viento.

Los síntomas de la mancha negra, aunque pueden ser observados en hojas y en el pedúnculo de los frutos son poco frecuente en estos tejidos (Kotzé, 1981). No obstante, cuando se han observado en hojas y pedúnculos, ha sido en hojas de limones verdaderos y en mandarinos.

Los síntomas se caracterizan por la presencia de lesiones necróticas pequeñas, con centro grisáceo y bordes bien definidos, de coloración marrón-oscuro. Las hojas de plantas debilitadas, de diferentes especies cítricas, pueden también exhibir síntomas típicos de la enfermedad, pero aunque estén infectadas, raramente, manifiestan síntomas durante su tiempo de vida útil, el cual es, aproximadamente, de tres años (McOnie, 1967).

2.2.2. Síntomas en frutos

Los síntomas de la MNC se pueden encontrar en frutos, hojas y tallos, pero son vistos comúnmente en frutos próximos a la cosecha cuando comienzan el cambio de color (Dewdney *et al.*, 2013). Se plantea que esta enfermedad afecta casi exclusivamente a los frutos (Kotzé, 1981); y se describen varios tipos de síntomas: mancha negra o dura, falsa melanosis, mancha pecosa, y mancha virulenta (Herbert, 1989).

En frutos de diferentes cultivares se presentan síntomas diferentes (anexo 1), por ejemplo en naranja las manchas que más inciden son: manchas "duras" típicas con picnidios; moteado tipo melanosis; manchas extendidas color castaño; moteado

rojizo poscosecha y manchas virulentas en fruta caída; en mandarina predominan las manchas típicas y en limón las manchas típicas y el moteado tipo melanosis. Esta enfermedad produce caída prematura de frutos maduros de naranja y defoliación en limón (Canteros, 2000).

En prospecciones realizadas en Jagüey Grande por Gómez y Valdés (2009), observaron la presencia de los síntomas conocidos como mancha dura, falsa melanosis, mancha virulenta, mancha pecosa y mancha agrietada. En el anexo 1 se muestran los síntomas que caracterizan cada tipo de mancha.

Manchas duras (“Hard spots”) o manchas marrón. En general aparecen cuando los frutos inician el cambio de coloración. Las lesiones presentan un centro necrótico deprimido de color marrón-claro y los bordes salientes de coloración marrón oscuro. En frutos verdes las lesiones son circundadas por un halo amarillo. En frutos maduros las lesiones son circundadas por un halo verde. Una característica de estas lesiones es la presencia de puntos negros en su interior, los cuales no son más que los picnidios que producen las esporas asexuales o picnidiosporos.

Manchas de falsa melanosis (“false melanose”, “Speckled Blotch”). Son oscuras y pequeñas, de cerca de 2mm de diámetro, sin la presencia de picnidios, suelen encontrarse dispersas o agregadas a través de grandes áreas de la corteza. Estas lesiones generalmente comienzan a aparecer cuando los frutos están verdes todavía.

Manchas pecosas (“freckle spots”). Son deprimidas y pequeñas, miden aproximadamente 1mm de diámetro, de coloración rojiza, en general aparecen en frutos maduros o en la post-cosecha, principalmente, cuando los frutos son almacenados a temperaturas superiores a 25°C. Existen manchas rojizas en limón verdadero que bajo las condiciones de Argentina son similares a la mancha pecosa producida por *G. citricarpa*, sin embargo. Fogliatta *et al.* (2006) lograron demostrar que estas manchas a diferencia de la mancha pecosa, nunca llegan a desarrollar fructificaciones como se observan cuando está presente *G. citricarpa*.

Manchas virulentas (“virulent”, “spreading”, galloping spots”). Estas son grandes, oscuras, de forma irregular y bordes salientes de color marrón oscuro o rojo oscuro, pueden o no presentar un centro deprimido. Estas lesiones ocurren por lo general durante el final de la maduración de los frutos o en la post-cosecha, y aparecen como resultado de la fusión de lesiones de varios tipos, como las de manchas duras y las pecosas. En Brasil fueron observados y descritos seis síntomas diferentes en frutos relacionado con la mancha negra, cuatro de los cuales ya se describieron anteriormente; los otros dos síntomas están referidos a la mancha agrietada y a la mancha en forma de red (Fundecitrus, 2003).

Mancha agrietada (trincada), (“cracked spot”). Estas manchas se caracterizan por ser grandes y superficiales, sin cuerpos fructíferos del hongo; en general se presentan en frutos verdes, pudiendo ocupar pequeñas o grandes áreas de la corteza. Con el tiempo, estas lesiones pueden presentar rajaduras o grietas en su superficie. Las manchas agrietadas generalmente aparecen en asociaciones con el ácaro del moho o del tostado (*Phyllocoptrupta oleivora* Ashmead). (Fundecitrus, 2003).

Manchas en forma de red. Estas lesiones se caracterizan por ser superficiales que afectan grandes áreas de los frutos cuando estos aún están verdes. Estos daños no presentan cuerpos de fructificación. La mancha negra manifiesta diferentes tipos de síntomas que incluso pueden evolucionar con posterioridad a la cosecha de las frutas (Kotzé, 2000).

El síntoma típico, hard spot o tipo A puede estar acompañado por la formación de picnidios del hongo, se lo observa en precosecha y generalmente se desarrolla en el sector de la fruta expuesto hacia la luz solar. Otros síntomas pueden manifestarse, aún en fruta sin madurar, como falsa melanosis o tipo B aunque este tipo de síntoma no desarrolla picnidios; o aquellos que producen manchas virulentas (síntomas tipo D) encontrados en lotes muy infectados, y que suelen desarrollar al final de la temporada o en poscosecha con un gran número de picnidios por frutas (Timmer, 2004).

Durante la poscosecha se pueden desarrollar manchas rojizas en frutas a sintomáticas al momento de cosecha, y que según el tiempo que transcurra pueden evolucionar a síntomas de tipo A pero generalmente no llegan a desarrollar picnidios (Agostini *et al.*, 2007). Paralelamente esta enfermedad es considerada cuarentenaria para la exportación de frutas al mercado europeo.

Hasta el momento no se conocen los procesos fisiológicos que conllevan a la formación de los diferentes síntomas de la enfermedad y su expresión en los diferentes períodos de desarrollo del fruto (Spósito, 2003). Aunque Baldassari *et al.* (2007), demostraron que las conidias son capaces de producir síntomas de mancha dura y de falsa melanosis.

2.2.3. Otras afectaciones causadas por el patógeno

Esta enfermedad además de afectar la apariencia de los frutos, ocasiona la caída prematura de los mismos y cuando las condiciones son favorables, puede llegar a un 80% del total de los frutos de la planta. Dada la posibilidad de contaminación microbiológica, normalmente estos frutos caídos se descartan por la industria, aumentando significativamente los perjuicios (Goes *et al.*, 2000).

Aunque la abscisión de los frutos pueda estar relacionada al aumento endógeno del tenor de etileno, de acuerdo con Fagan y Goes (1999), existe una alta correlación entre los niveles de severidad de la enfermedad y el porcentaje de caída de los frutos. Se ha observado que, a veces aunque los frutos presenten pocas lesiones, puede ocurrir la caída prematura de los mismos, lo cual lleva a sospechar del efecto de infecciones sistémicas (Smith, 1996) o de infecciones ocurridas en el pedúnculo de los mismos (Kotzé, 1981).

2.2.4. Caracterización del patógeno

Según Kotzé (1996) el agente causal de la mancha negra de los cítricos, el hongo *Guignardia citricarpa* Kiely, posee tres tipos de esporas: ascosporas producidas en pseudotecios (fase teleomorfo); espermacios producidos en espermogonios (fase

esperamacial *Leptodotiorella citricarpa*) y picnidiosporas producidas en picnidios (*Phyllosticta citricarpa* o fase anamorfa).

La primera descripción del género *Guignardia* fue en el año 1892 por Viala y Ravaz y comprende las formas teleomorfas de *Phyllosticta* y de algunos otros géneros relacionados de hongos imperfectos (Sivanesan, 1984). El estado teleomorfo de *Guignardia citricarpa*, fue descrito por Kiely en 1948. La morfología de *G. citricarpa* es muy variable y da lugar a la posibilidad de confusión con otras especies de *Guignardia* (Mc Onie, 1967; Baayen *et al.*, 2002 e Hidalgo y Pérez, 2010).

El hongo, produce pseudotecios y ascosporas solamente en hojas en descomposición en el suelo. Estos son aislados o agregados, globosos-piriformes, inmersos, marrón oscuro a negro, miden 125 - 360 μm de diámetro, presentan un ostiolo circular papilado (10-17,5 μm de diámetro), no presentan paráfisis. Las ascas son cilíndricas-clavadas, bitunicadas (40 - 65 x 12-15 μm de diámetro), con un estípite corto, con ocho ascosporas en su interior. Estas son asentadas, hialinas, multigotuladas, cilíndricas pero abultadas en el medio, con los extremos obtusos, cada uno con apéndices descoloridos (12,5-16 x 4,5-6,5 μm de diámetro) (Sutton y Waterston, 1966; Van der Aa, 1973)

La fase anamorfa del patógeno fue descrita como *Phoma citricarpa* McAlp. en 1899, permaneciendo con ese nombre hasta 1953, cuando fue renombrada *Phyllostictina citricarpa* McAlp, Petrak, 1966, (Sutton y Waterston, 1966; Alexopoulos, 1979) y en 1973, fue reclasificado, como *Phyllosticta citricarpa* Van der Aa (Van der Aa 1973). Actualmente, ambas designaciones son usadas. (Kotzé, 1981; Kotzé, 1989; Goes *et al.*, 1990; Garrán, 1996; Rodríguez y Mazza, 1996; Shutte *et al.*, 1997).

La fase asexual conocida como *P. citricarpa* produce picnidios en lesiones de hojas, ramas y frutos cítricos y, ocasionalmente, en el pedúnculo de los frutos. Los picnidios también se producen, abundantemente, en las hojas en descomposición bajo la copa del árbol. Los picnidios de *P. citricarpa* son aislados o agregados, globosos, de color marrón oscuro a negros, miden 70-330 μm de diámetro y presentan un ostiolo levemente papilado y circular (10-15 μm de diámetro).

Las conidias (picnidiósporas) producidas en el interior de los picnidios, son hialinas, unicelulares, multigotuladas, de forma ovoide, miden 9,4-12,7 x 5,0-8,5µm de diámetro. Estas conidias están rodeadas por un halo visible (<1,5µm de ancho), incoloro y gelatinoso y se forman a partir de los conidio foros unicelulares cilíndricos de 9 µm de largo (12,5-16 x 4,5-6,5 µm de diámetro) (Sutton y Waterston, 1966; Van der Aa, 1973; Baayen *et al.*, 2002 e Hidalgo y Pérez, 2010).

El estado microconidial, *Leptodotiorella* Höel sensu Sydan descrito por Van Der aa, (1973) es encontrado en especies de *Guignardia*, y se desarrolla tanto en plantas hospedantes como in vitro. Sus cuerpos de fructificación son similares al estado conidial y éstos pueden ser distinguidos cuando ambos están presentes. Las conidias y micro conidias se pueden formar simultáneamente en la misma cavidad picnidial, particularmente en los estados iniciales del desarrollo.

Los espermacios de *L. citricarpa* son producidos en espermogonios. La función de estas estructuras es desconocida aún, a pesar que se cree que están relacionados con el ciclo sexual del hongo, puesto que aparecen antes de la formación y maduración de los pseudotecios de *G. citricarpa*. Los espermacios son hialinos, de forma cilíndrica o de huso y miden 5 - 8 x 0,5 - 1µm. Ellos no presentan importancia epidemiológica, pues no consiguen infectar el tejido del hospedante (12,5 - 16 x 4,5 - 6,5 µm de diámetro) (Sutton y Waterston, 1966; Baayen *et al.*, 2002).

En plantas asintomáticas de cítricos habían sido informadas razas endofíticas de *G. citricarpa* (McOnie, 1964a); (Sutton y Waterston., 1966) consideraron que era una forma o raza saprofita de *G. citricarpa* (Kotzé, 2000). Sin embargo Baayen *et al.*, (2002) al caracterizar un grupo de aislados mediante descripciones morfológicas, morfométricas, fisiológicas y genéticos, demostraron que se trataba de dos especies diferentes, donde *Guignardia mangiferae*, saprofita, anamorfo de *Phyllosticta capitalensis* y la patogénica, *G. citricarpa*.

2.3. Susceptibilidad de cultivares y etapas del cultivo más susceptibles

2.3.1. Cultivares más susceptibles

Mancha negra causada por *G. citricarpa* produce manchas en frutas cítricas de distintas cultivares; como así también una temprana caída de las mismas y la consiguiente disminución de la producción. Según Goes *et al.* (2004) y (Wickert *et al.*, 2009), *G. citricarpa*. Se puede encontrar en hojas y frutos cítricos. Con excepción del naranjo agrio (*Citrus aurantium*) y sus híbridos, prácticamente todos los cultivares de naranjos dulces, especialmente los de maduración tardía son susceptibles a la enfermedad (Feichtenberger, 1996).

Dewdney *et al.* (2013) indican que todos los cítricos son susceptibles a la MNC pero los cultivares tardíos como el naranjo Valencia son más susceptibles. Los síntomas se observan en el lado del árbol expuesto al sol debido al calor y la luz que estimulan la manifestación de la enfermedad.

Los cultivares de cítricos tienen diferentes grados de susceptibilidad a la mancha negra siendo los limones y las naranjas tardías los más susceptibles, mientras que las mandarinas en general son menos susceptibles, mientras que a la lima Tahití se puede considerar como resistente ya que no se han observado síntomas de la enfermedad en ninguna ocasión (Feichtenberger, 1996).

El naranjo agrio (*C. aurantium*) no es susceptible, pero las naranjas de maduración tardía, limones, mandarinas y pomelos son los más susceptibles. El limón puede ser utilizado como indicador durante actividades de monitoreo de la enfermedad por ser el hospedante preferencial (EPPO, 2012).

Teniendo en cuenta que los cítricos tienen varias brotaciones al año, se considera que en la copa de los árboles siempre hay hojas en estado sensible. Según la variedad y la zona geográfica, el período de susceptibilidad de los frutos puede oscilar entre cuatro y siete meses después del cuajado (Kotzé, 1981; Aguiar *et al.*, 2012; Brentu *et al.*, 2012).

2.3.2. Etapas del cultivo susceptibles al patógeno

Entre los aspectos importantes a tener en cuenta dentro de la epidemiología de cualquier enfermedad son el período de susceptibilidad del hospedante y el período de incubación del patógeno. Para este grupo de enfermedades, los estudios que prioricen la identificación de la época más favorable para la ocurrencia de la infección es más importante que evaluaciones simples de la expresión de la enfermedad. (Bergamin y Amorim, 2002).

Las investigaciones en este sentido, ofrecen grandes oportunidades de avance académico y aplicado, especialmente en lo concerniente a la elaboración de sistemas de manejo no disponibles todavía (Bergamin y Amorim 2002). Según estos autores, existen enfermedades donde la expresión de los síntomas está en función principalmente del estado fenológico del órgano afectado con poca relación con el momento de infección y señalan que la MNC es un ejemplo típico de este tipo de enfermedad.

El período de susceptibilidad informado en estudios desarrollados en África del Sur y Brasil, se corresponde desde la caída de los pétalos hasta cerca de 20 a 24 semanas después (Klotz, 1978 y Baldassari, 2001). Posteriormente los frutos se tornan resistentes (Kelleman y Kotzé, 1977). Estudios más recientes han demostrado que para las condiciones de Brasil, este período puede extenderse por más de 24 semanas (Reis *et al.*, 2006; Baldassari *et al.*, 2009).

Bergamin Fihlo y Amorim (1996) plantean que el período de incubación no es más que el tiempo comprendido entre la deposición del patógeno sobre el hospedante y la aparición de los síntomas. Una característica importante de la MNC es su largo período de incubación.

Normalmente los síntomas aparecen cuando los frutos se encuentran en la fase de transición verdes/maduros, que está en correspondencia con el cultivar cítrico que invada y las condiciones ambientales existentes lo cual puede demorar hasta 10 ó 12

meses después de la caída de los pétalos (Kiely, 1948a; McOnie, 1967 y Kotzé, 1981). Reis *et al.* (2006) y Spósito (2003) encontraron una relación directa y proporcional entre los estadios de maduración de los frutos y los niveles de los síntomas de la mancha negra de los cítricos.

2.3.3. Incidencia del clima en el desarrollo de la mancha negra

Una de las enfermedades más influidas por las condiciones climáticas tropicales es la MNC. Según Feichtenberger (1996), además de los aspectos biológicos del agente causal, la rápida diseminación del patógeno puede ser favorecida por la existencia de condiciones de ambiente propicias para la multiplicación del hongo, como son elevada luminosidad, temperaturas entre 24 y 27°C y alta humedad relativa (Noronha, 2002; Mendes, 2005). Se conoce que la producción de las ascosporas está estrechamente relacionada con las alternancias entre períodos de humedad y sequedad (Kiely, 1948b; Kotzé, 1963).

Los mecanismos en el proceso de formación de las infecciones no son del todo conocidos. Pero hay evidencias que los síntomas a niveles más severos, normalmente, están asociados a la elevación de la temperatura por la acción de la maduración del fruto, por la mayor incidencia de rayos solares en los frutos más expuestos, estrés hídrico y debilidad en las plantas (Kotzé, 1981; Feichtenberger, 1996; Feichtenberger y Spósito, 2003).

Timmer *et al.* (2003) plantearon que el desarrollo de la MNC, se favorece con la disponibilidad del inóculo durante la primavera y el verano, a causa de condiciones ambientales favorables como el calor, los períodos abundantes de humedad foliar, alta humedad relativa, fase fenológica de los frutos y grado de susceptibilidad del cultivar.

2.4. Epidemiología de la mancha negra de los cítricos

La epidemiología de la mancha negra de los cítricos es influenciada por la disponibilidad de inóculo, condiciones climáticas óptimas para que ocurra la infección, estado fenológico del cultivo y edad de los frutos y puede estar

influenciada por los patrones de floración y fructificación de las diferentes especies de cítricos (SENASICA, 2013). Según Kranz (1974), citado por Bergamin Filho y Amorim (1995) la epidemiología es el estudio de las poblaciones de patógenos en poblaciones de hospederos y de la enfermedad resultante de esta interacción influenciado por el ambiente y la interferencia del hombre.

En el anexo 2 se muestra el ciclo de la MNC; esta es una enfermedad que presenta dos fases, una sexual representada por las ascosporas de *G. citricarpa* también conocida como ciclo primario de la enfermedad; y una fase asexual representada por los picnidiosporos de *P. citricarpa* conocida como ciclo secundario de la enfermedad. Así tenemos que *G. citricarpa* es responsable por la introducción del patógeno en nuevas áreas y *P. citricarpa* por el incremento de la enfermedad en la planta o a su alrededor (Kiely, 1948a; Goes *et al.*, 2000 y Feichtenberger y Spósito, 2003).

Un aspecto importante de destacar es el largo período de incubación presentado por el hongo (Bergamin Filho y Amorim, 2002). Los mecanismos de desarrollo de las lesiones no son completamente conocidos, pero se sabe que síntomas en niveles más severos normalmente están asociados con el aumento de las temperaturas, intensidad de los rayos solares, más el estrés hídrico y la debilidad de la planta (Kotzé, 1996).

2.4.1. Ciclo primario de la enfermedad

Las hojas infestadas en descomposición sobre la superficie del suelo constituyen una fuente primaria de inóculo. Las ascosporas del hongo son producidas en estas hojas cuando hay alternancias de períodos lluviosos con períodos secos. Estas son liberadas de los pseudotecios formados en las hojas en descomposición y pueden diseminar la enfermedad horizontalmente y verticalmente por las corrientes de aire en flujo y las ascendencias. La maduración de las ascosporas dura entre 40 y 180 días, contando desde la caída de las hojas (Kotzé, 1981; Dewdney *et al.*, 2013).

Las ascosporas se fijan a la superficie de los tejidos vegetales gracias a la sustancia mucilaginosa existente en sus extremidades. Germinan en presencia de agua

produciendo apresorios; a partir del cual se desarrolla una delgada hifa de infección que penetra a través de la cutícula y se desarrolla formando una pequeña masa de micelio entre la cutícula y la epidermis. (Kotzé, 1981).

En la forma de micelio subcuticular quiescente, el hongo puede permanecer en estado de dormancia en la planta por más de 12 meses. Este período de dormancia puede ser interrumpido cuando el fruto llega a su tamaño normal y comienza la maduración, o cuando las condiciones ambientales se tornan favorables. El hongo crece entonces a partir de un micelio subcuticular, llegando a los tejidos más internos y provocando los síntomas típicos de la enfermedad. (Kotzé, 1981).

Las esporas sexuales presentan relativa resistencia a la desecación y elevada infectividad. Nunca fue observada la producción de ascos porras del hongo en material vegetal vivo. Estas esporas sexuales solamente son formadas en los tejidos en descomposición. (Kotzé, 1981).

2.4.2. Ciclo secundario de la enfermedad

Las lesiones originadas de infecciones por ascosporas en frutos, ramas y hojas, permiten la formación de los picnidios y las picnidiosporas que constituyen el inicio del ciclo secundario de la enfermedad. Las picnidiosporas, emergen a través del ostiolo del picnidio envueltos en una masa mucilaginosa. Estas se diseminan por salpicaduras de lluvias desde partes de los árboles enfermas. Los frutos solamente son diseminados a cortas distancias. (Kotzé, 1988).

El agua solubiliza esta sustancia mucilaginosa y carga los conidias en suspensión hasta la superficie de los órganos susceptibles próximos, donde pueden ocurrir nuevas infecciones. Los picnidios y picnidiosporas también pueden ser formados en hojas en descomposición en el suelo. Las picnidiosporas son importantes en la epidemiología de la MNC, cuando en la misma planta coexisten frutos infectados y frutos jóvenes susceptibles de hasta 5 ó 6 meses de edad, que pueden entonces ser infectados (Kotzé, 1988).

La literatura internacional, especialmente aquella oriunda de Australia y de África del Sur, atribuye a las ascosporas de *Guignardia citricarpa* la responsabilidad exclusiva por las epidemias (Kiely, 1948b; McOnie, 1964b; McOcnie, 1967; Kotzé, 1989 y Shutte, 1997). Estos autores no atribuyen a las picnidiosporas importancia epidemiológica significativa.

La visión de los sudafricanos y los australianos sobre la enfermedad es que esta es monocíclica, es decir que durante el ciclo del cultivo ocurre un solo ciclo de infección primario a partir de ascosporas y desprecian el posible papel de diversos ciclos asexuales recurrentes secundarios en el desarrollo de la epidemia. (Kotzé, 1981)

Este ciclo epidemiológico propuesto para la MNC es justificado, por lo menos en parte, por dos características que prevalecen en esos países: (i) florecimiento y fructificación uniformes (típicos de plantaciones irrigadas), que permiten la cosecha de una determinada zafra antes que el florecimiento y la fructificación de la zafra siguiente se hayan iniciado (Kotzé, 1981); (ii) descarga de ascosporas concentrada totalmente durante el estadio fenológico más susceptible del hospedero, o sea, la formación de los frutos (McOnie, 1967). La primera característica contribuye en la disminución del potencial epidémico de la enfermedad; la segunda contribuye para aumentarlo.

Estudios realizados en Brasil, han demostrado que la ocurrencia de varias floraciones y la coexistencia simultánea de frutos de diferentes tamaño y edades asociados a lluvias frecuentes en los períodos de susceptibilidad de los frutos, contribuyen al incremento de la enfermedad por ambas fuentes de inóculo (Feichtenberger, 1996).

El movimiento de frutos y plántulas enfermas es además sin embargo en la práctica, la principal vía de diseminación de la enfermedad entre sitios con presencia de la enfermedad y libres de su presencia. En conclusión, la importancia relativa entre un tipo de espora u otro estará dada en gran medida por el tipo de clima predominante en la región que se trate. (Feichtenberger, 1996).

Otros de los aspectos importantes a tener en cuenta dentro de la epidemiología de cualquier enfermedad es el período de incubación del patógeno y el período de susceptibilidad. El período de incubación no es más que el tiempo comprendido entre la deposición del patógeno sobre el hospedero y la aparición de los síntomas. Existen enfermedades donde la expresión de los síntomas está en función principalmente del estado fenológico del órgano afectado y tiene poca relación con el momento de infección. La MNC es un ejemplo típico de este tipo de enfermedad (Bergamin Filho y Amorim, 2002).

Se informa que en África del Sur y Brasil, que el período de incubación se corresponde con la caída de los pétalos, hasta cerca de 20-24 semanas después (Klotz, 1978 y Baldassari, 2001), posteriormente los frutos se tornan resistentes (Kelleman y Kotzé, 1977).

Para este grupo de enfermedades los estudios que prioricen la identificación de la época más favorable para la ocurrencia de la infección son más importantes que las evaluaciones simples de la expresión de la enfermedad. Los estudios en este sentido sin duda, ofrecen grandes oportunidades desde el punto de vista académico y aplicado, en lo concerniente a la elaboración de sistemas de manejo no disponibles todavía como para el CVC (Laranjeira *et al.*, 2005) y la MNC (Baldassari, 2001). Para estas enfermedades la aplicación de modelos de control a partir de un nivel crítico de incidencia y severidad no son adecuados (Bergamin Filho y Amorim, 2002).

2.4.3. Análisis espacial

El análisis espacial de una enfermedad, tiene como objetivo determinar el patrón de dispersión de la enfermedad en el espacio o sea, la forma en que se distribuyen las plantas enfermas en la población total. El conocimiento de las interacciones espacio-temporales es imprescindible no solo para la comprensión de la enfermedad, sino principalmente para la elaboración de estrategias de control que buscan interferir el ciclo de la enfermedad (Bergamin Filho y Amorin, 1996).

Este análisis proporciona datos que pueden ser utilizados para el esclarecimiento de la etiología de la enfermedad y establecer el papel de posibles vectores (Gottwald *et al.*, 1995; Laranjeira *et al.*, 1998) o de otros agentes, como el viento y la lluvia (Agostini *et al.*, 1993) en su diseminación y posibilita el desarrollo de hipótesis biológicas y ambientales plausibles, asociando esa distribución con la presencia de propágulos del patógeno o microclima favorable (Campbell y Madden, 1990).

La distribución espacial de una enfermedad puede seguir tres tipos de patrones: aleatorio, regular o agregado. En enfermedades causadas por patógenos de plantas, los resultados aleatorios y agregados son más comunes, siendo rara la presencia de resultados regulares (Campbell y Madden, 1990).

Los patrones de distribución están estrechamente relacionados a las formas y mecanismos de la dispersión de las esporas de los patógenos. La distribución aleatoria de una enfermedad indica que no hay correlación entre la localización de individuos sintomáticos dentro de un área, la distribución agregada de una enfermedad indica que hay una correlación entre individuos sintomáticos, o sea, hay una alta probabilidad de que individuos sintomáticos estén cerca uno de otros (Madden, 1989).

Entre los métodos de análisis de patrones espaciales, el estudio de la secuencia ordinaria de plantas enfermas y sanas, así como, el análisis por cuadrantes dispuestos por mallas en un área, son muy utilizados (Campbell y Madden, 1990).

El patrón espacial de una enfermedad, o sea, la distribución de plantas enfermas unas en relación a otras, proporciona datos que pueden ser utilizados para escoger adecuados métodos de muestreos, el esclarecimiento de la etiología de la enfermedad y el papel de los posibles vectores (Gottwald *et al.*, 1995; Laranjeira *et al.*, 1998) o de otros agentes, como el viento y la lluvia (Agostini *et al.*, 1993) en su diseminación.

Muchos son los índices y algoritmos que ofrecen una visión acertada del tipo de distribución de los organismos que parten de la relación que se establece entre la

media y la varianza de la media. El cociente entre ambos parámetros, el índice de dispersión (ID), es el modo más simple de cálculo; para arreglos regulares, el cálculo de la distribución normal; Poisson, para distribuciones aleatorias y binomial negativa, para la agregada, a través del índice k de agregación (Sharov, 2003).

Para el estudio de la dispersión de plagas, se emplea cada vez más la ley de Potencia de Taylor, que tiene la característica de ser invariante a la densidad (Taylor 1961). El coeficiente b de Taylor se considera específico. La ecuación descrita fue demostrada para trabajar con amplia gama de densidades de la especie. Por supuesto, es duro contar con que b sea constante en cualquier clase de ambiente, pero para las poblaciones en ambientes similares es generalmente estable (Sharov, 2003).

El empleo de métodos geostáticos es otra de la vertiente para este tipo de análisis que consiste en relacionar la variación espacial entre las densidades demográficas con el retraso de la distancia. Las herramientas que emplea es un sistema de funciones y variogramas de la covariación (Sharov, 2003).

2.4.4. Análisis temporal

La esencia de un sistema el análisis temporal, es entender el sistema de la enfermedad a lo largo del tiempo, y junto al análisis espacial son utilizados como herramientas epidemiológicas (Spósito, 2003) para desarrollar hipótesis biológicas y ambientales al asociar la distribución con la presencia de propágulos del patógeno o microclimas favorables (Campbell y Madden, 1990).

Se entiende por análisis temporal como la evaluación de la interacción entre los componentes del pato sistema, establecida por los datos acumulados de incidencia y severidad representada por la curva de progreso de la enfermedad (Spósito, 2003), y revelado por la curva de progreso de la enfermedad en relación al tiempo transcurrido de desarrollo de la epidemia (Kranz, 1974).

El análisis de las epidemias a través de curvas de progreso de la enfermedad constituye a penas un segmento en la especialidad más amplia. La curva de

progreso de la enfermedad, usualmente expresada por la evolución de la enfermedad contra el tiempo, es la mejor representación de una epidemia, y puede ser desarrollada para cualquier pato sistema (Bergamin Filho y Amorim, 1995b).

La curva de progreso de la enfermedad expresa la proporción de la enfermedad con relación al tiempo y se puede caracterizar, de acuerdo con el modelo ajustado, a través de sus parámetros: época de inicio de la epidemia, cantidad de inóculo inicial (x_0), tasa de aumento de la enfermedad (r), forma de la curva, área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), cantidad máxima (x_{max}) y final (x_f) de la enfermedad y duración de la epidemia (Bergamin, 1995; Spósito, 2003).

Algunos modelos matemáticos más utilizados en el ajuste de los datos referentes al progreso de la enfermedad son: modelo exponencial, modelo logístico, modelo Gompertz y modelo monomolecular (Spósito, 2003).

En la actualidad se utilizan modelos matemáticos para interpretar las curvas de progreso, aunque éstos sean simplificaciones de la realidad, los parámetros y ecuaciones utilizados ofrecen buena aproximación al proceso epidemiológico (Sharov, 2003). Existen los modelos de crecimiento (empíricos) y los de simulación; entre los primeros los más utilizados son el exponencial, logístico, monomolecular y de Gompertz (Bergamin Filho y Amorim, 1996; Spósito *et al.*, 2008). Otros modelos como el de Richards y el de Weibull. Son muy flexibles y suelen ajustarse mejor a un conjunto de epidemias, pero tienden a carecer de sentido biológico Spósito *et al.*, 2008).

El modelo exponencial tiene como característica que el incremento de la velocidad de aumento de la enfermedad es directamente proporcional al aumento de la enfermedad en el tiempo, es decir que la epidemia aumenta infinitamente debido a que no existen limitaciones para el desarrollo de la epidemia (Campbell y Madden, 1990) y (Bergamin Filho y Amorin, 1996). Este modelo se expresa por la ecuación diferencial: $dx/dt = r_0x$, en que dx/dt es la velocidad de la enfermedad, x la cantidad de enfermedad y r_0 la tasa de incremento de la enfermedad.

Esta ecuación cuando es integrada describe la variación de la enfermedad (x) en el tiempo (t), o sea $x = x_0 \exp (ret)$, donde x es la cantidad de enfermedad en el tiempo t , x_0 la cantidad de enfermedad en el tiempo t_0 y re la tasa de aumento de la enfermedad. Este modelo por su simplicidad es utilizado en las fases iniciales de las epidemias, para cantidades de enfermedad inferiores a una proporción del 5% del tejido disponible total o del total de individuos de la población de plantas susceptibles de ser infectados (Spósito, 2003).

El modelo logístico, originalmente propuesto por Verhulst en 1838, citado por (Bergamin Filho y Amorin, 1996), ha sido el modelo más empleado para describir el progreso de las epidemias. Vanderplank (1963), propuso este modelo cuando se trata de una enfermedad o epidemia en la cual el inóculo se incrementa en la estación y es limitado por la disponibilidad de tejido o individuos de la población susceptibles de ser infectados.

La ecuación diferencial del modelo descrita por Vanderplank (1963), se presenta como: $dx/dt = rLx (1-x)$, donde rL es la tasa de aumento específica para el modelo logístico y 1 , la cantidad máxima de enfermedad. El factor de corrección $(1-x)$ representa la cantidad de tejido sano. La interpretación biológica de la ecuación indica que la velocidad de aumento de la enfermedad dx/dt es proporcional a la propia cantidad de enfermedad x y a la cantidad de tejido sano disponible $(1-x)$. Cuando esta ecuación se plotea contra el tiempo, al inicio ocurren incrementos crecientes, con una tasa absoluta máxima, llegando a un punto de inflexión cuando $x=50\%$, el cual va seguido de incrementos decrecientes que tienden a cero.

En el modelo monomolecular, fue propuesto por Campbell y Madden (1990) propusieron este modelo para los casos cuando no ocurre multiplicación del inóculo durante la estación. En este modelo la velocidad de aumento de la enfermedad es proporcional al inóculo inicial y a una tasa conocida como R y Q , respectivamente. Ambos supuestos constantes, la ecuación puede ser descrita como $dx/dt=QR(1-x)$.

El modelo de Gompertz ha sido también ampliamente utilizado en epidemiología y se diferencia del modelo logístico en que el gráfico de la proporción de enfermedad

contra el tiempo, presenta un crecimiento más acentuado en su inicio, originando una curva sigmoide inclinada hacia la izquierda, con punto de inflexión $x = 37\%$. Este modelo tiene la ecuación diferencial $dx/dt = rG x (\ln(1) - \ln(x))$, donde rG es la tasa de incremento de la enfermedad (Bergamin Filho y Amorin, 1996; Llácer *et al.*, 1996).

Existen además otros modelos no paramétricos que permiten explicar estos fenómenos. El modelo de Richards, es el más flexible o sea el único que puede tomar varias formas, en correspondencia con la tasa de progreso representada por R , el cual se calcula mediante la ecuación diferencial $dx/dt = rR x(1-x^{m-1})/(m-1)$. (Bergamin Filho y Amorin, 1996; Llácer *et al.*, 1996).

El desarrollo de modelos de previsión de epidemias se justifica para enfermedades que mantengan estas cuatro condiciones. (i) La enfermedad causa reducción significativa en la cantidad o calidad de la producción; (ii) la intensidad de la enfermedad varía de año para año o de local para local; (iii) hay medidas de control disponibles; (iv) hay informaciones suficientes sobre la influencia del clima en la ocurrencia de la enfermedad. La mancha negra de los cítricos mantiene todas las condiciones antes mencionadas.

Otra forma de describir el progreso de una epidemia es mediante el modelo dependiente del tiempo, el cual a diferencia de los modelos antes discutidos, donde la cantidad de tejido sano disponible es la que limita el crecimiento de una epidemia, en éste el límite está dado por la disminución de la susceptibilidad del hospedante o por la falta de condiciones climáticas favorables (Hau *et al.*, 1993; Bergamin Filho y Amorin, 1996).

2.5. Estrategias de manejo de la mancha negra de los cítricos

Los principios desarrollados para el control de la mancha negra de los cítricos, según Kimati y Bergamin Filho (1996) son:

- Exclusión (evitar la introducción del patógeno en áreas donde no está la enfermedad).

- Erradicación (reducción de la población del patógeno a niveles aceptables de la enfermedad).
- Terapia (reducción de la población del patógeno con aplicaciones de productos curativos y tratamientos culturales).
- Regulación (modificaciones en las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad).
- Protección (uso de fungicidas protectores).

2.5.1. Exclusión

En una evaluación realizada por APHIS, EE.UU., de las enfermedades de mayor riesgos para la citricultura, ubican al HLB como la de mayor importancia con un valor de 100%, en segundo lugar la mancha negra con 75%, por encima de cancro cítrico con solo 22% de riesgo y la clorosis variegada de los cítricos (CVC) con 23% (Agostini *et al.*, 2005).

El riesgo de que la mancha negra pueda ser introducida por el hombre a través de la importación de frutas o de material vegetativo enfermo, desde áreas donde la enfermedad es endémica, a otras en un mismo país o hacia otros países que no poseen la enfermedad, ha propiciado la aplicación del control legal, que establece las medidas cuarentenarias necesarias para evitar su introducción en áreas libres de la enfermedad y evitar el impacto económico que esta representa.

Spósito (2003) señala que la exclusión tiene como problema que las hojas de naranjo dulce son asintomáticas y se carece de una metodología confiable para el muestreo en los viveros, para reducir la posibilidad de introducción. El productor debe adquirir plantas de regiones donde la enfermedad aún no está presente.

2.5.2. Erradicación

Para la reducción de la población del patógeno a niveles aceptables de la enfermedad en áreas afectadas, la estrategia utilizada es la eliminación de restos vegetales (hojas y frutos) de las plantaciones, para evitar la reinfección de la

siguiente cosecha, además de la eliminación de las plantas depauperadas por otras enfermedades y plagas, o por causas abióticas que pueden ser fuente de inóculo.

Canteros (2009), plantea que se debe realizar el monitoreo de los lotes destinados a la cosecha para exportación y la observación debe ser sobre la fruta de la temporada previa, pues los síntomas tardan en manifestarse, y generalmente aparecen cerca de la maduración y en frutos sobremaduros.

Fundecitrus (2005) plantea utilizar plantas libres del agente causal para establecer las nuevas plantaciones. Las yemas de plantas infestadas pueden diseminar el patógeno, sean de plantas infestadas asintomáticas o con infecciones quiescentes, por lo tanto se deben utilizar en la producción de las plantas injertadas, yemas sanas provenientes de áreas libres de la enfermedad.

2.5.3. Terapia

La reducción de la población del patógeno con tratamientos como la poda y el manejo de plantas indeseables con herbicidas post-emergentes o con chapeadoras en las plantaciones, antes del período de florecimiento de las plantas, para permitir la formación de cobertura muerta (“mulching”) sobre las hojas en descomposición en el suelo, reduciendo así la fuente de inóculo de la fase sexual del hongo (Fundecitrus, 2005).

2.5.4. Regulación

Las modificaciones en las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad, constituyen una estrategia preventiva de la incidencia e intensificación de síntomas y de la diseminación de la enfermedad. Las principales medidas de manejo en áreas donde la MNC ya está presente según Feichtenberger y Spósito (2003) son:

Mantener las plantas en buenas condiciones de nutrición y sanidad, pues las plantas estresadas que están más sujetas a infecciones son más severamente afectadas. La expresión de síntomas también es favorecida en estas plantas, pues los frutos y otros órganos infectados de la planta están más expuestos a los rayos solares.

Irrigación controlada de las plantas, principalmente durante los períodos de prolongada sequía para evitar la caída excesiva de hojas, reduciendo así la producción de ascosporas del hongo en hojas infestadas en descomposición en la superficie del suelo.

Cuidados en las operaciones de cosecha, transporte, almacenamiento y principalmente comercialización, evitando el transporte de hojas y frutos conteniendo pedúnculos y hojas adheridos. La diseminación del patógeno durante el transporte y la comercialización se da, principalmente, por medio de hojas, ramas y pedúnculos de frutos infestados.

Fundecitrus (2005) plantea como medida de prevención adelantar la cosecha en los lotes en que este presente la enfermedad. Los frutos pueden caer reduciendo la productividad de las plantas. Los frutos infestados conteniendo picnidios, no representan grandes riesgos en la diseminación a medias y largas distancias. Las picnidiosporas presentan baja infectividad, reducida capacidad de sobrevivencia, y no son diseminados por el viento.

Canteros (2009) plantea como medida de manejo cosechar más temprano en los lotes afectados para evitar la aparición de síntomas y la caída de frutas. Los vehículos utilizados en la transportación de frutos deben ser inspeccionados y limpiados después de cada viaje, y todo el residuo proveniente de esa limpieza debe ser inmediatamente destruido en un local distante de las plantaciones de cítricos.

2.5.5. Protección

Una alternativa de control de la mancha negra de los cítricos es la protección del fruto durante su período susceptible (entre cinco y seis meses de edad), con fungicidas sistémicos (Bencimidazoles), Estrobilurinas, o fungicidas de contacto como los cúpricos y el Mancozeb (Ditiocarbamatos) y mezclar estos fungicidas con aceite para mejorar su eficacia en el control de la enfermedad.

Como el hongo puede desarrollar resistencia a los Bencimidazoles y a las Estrobilurinas, se recomienda que estos fungicidas sean utilizados en mezclas con

los cúpricos o el Mancozeb o que las aplicaciones sean hechas alternándose con fungicidas de diferentes grupos químicos. Otros autores, como Schutte *et al* (2003), han estudiado el efecto de moléculas como el Azoxystrobin para reducir la resistencia de *G. citricarpa* a los Bencimidazoles.

Fundecitrus (2005) plantea realizar cuatro aplicaciones: la primera, cuando dos tercios de los pétalos estén caídos, la segunda, cuatro a cinco semanas de la primera, luego aplicar cuatro semanas después y finalmente la cuarta aplicación, de cuatro a cinco semanas después con una mezcla de productos bencimidazoles, cúpricos, ditiocarbamatos y aceite.

Entre los aspectos importantes a considerar en el empleo de fungicidas como parte de los tratamientos para el control de la mancha negra en Brasil, están la época de aplicación (Spósito *et al.*, 2000; Reis, 2002). y el intervalo entre las aplicaciones (Feichtenberger y Spósito, 2003).

Referido al control químico, Fundecitrus (2005) establece asperjar los lotes que presenten plantas con síntomas de mancha negra, independientemente de la intensidad de la enfermedad. El número de aplicaciones y los productos que serán aplicados, debe considerar la intensidad de la enfermedad en el área y el destino de la producción.

El número de aplicaciones puede variar de dos a cinco por año, iniciando el control siempre después de la caída de pétalos de las flores, y entre los fungicidas recomendados para el control de la enfermedad. Fundecitrus (2005) recomienda utilizar:

- Protectores o de contacto, productos a base de Cobre y Ditiocarbamatos.
- Sistémicos del grupo de los Bencimidazoles.
- Estrobirulinas.
- Todos los fungicidas deben ser aplicados en mezcla con aceite mineral al 0,5%.

En Brasil para mitigar los efectos de esta enfermedad FUNDECITRUS (2008) citado por SENASICA (2013), incluye como parte del control químico el uso de fungicidas a base de cobre (sulfato de cobre, hidróxido de cobre, oxiclورو de cobre y óxido de cobre) y ditiocarbamatos (Mancozeb y Propined). Los fungicidas sistémicos utilizados son benzimidazoles (carbendazin, tiofanatometil) y estrobilurinas (piraclostrobina, azoxistrubina, tryfloxistrubin). Sin embargo, una vez que la enfermedad se establece en una nueva área, la erradicación es imposible.

Según la Lista de Plaguicidas del Registro Central (2016), entre los productos comerciales con posibilidades de formar parte de la estrategia de manejo de la MNC se encuentran los siguientes fungicidas comerciales:

Argenfrut RV CE 86, tiene como ingrediente activo Aceite Mineral Emulsionable y el tipo químico es una mezcla de hidrocarburos.

Cuproflow SC 37,75, tiene como ingrediente activo Oxiclورو de Cobre y el tipo químico es compuesto inorgánico.

Mancozeb PH 80, tiene como ingrediente activo Mancozeb y el tipo químico ditiocarbamato.

Benomyl PH 50, tiene como ingrediente activo Benomilo y el tipo químico bencimidazol.

Supreme EW 40, tiene como ingredientes activos Tebuconazol + Procloraz y el tipo químico triazol + imidazol.

Regnum EC 25, tiene como ingrediente activo Piraclostrobina y el tipo químico estrobilurinas.

Según Garrán *et al.* (2011) el manejo de la MNC está basado en métodos químicos (aplicación de fungicidas) y el uso de otras alternativas de control, hasta el presente solo ha tenido limitada eficacia. El empleo de fungicidas, tanto de acción preventiva (cúpricos, ditiocarbamatos, estrobilurinas) como curativa (bencimidazoles).

En un compendio de la firma Bayer (2010), se plantea que la manera más efectiva para reducir el desarrollo de síntomas post-cosecha de MNC, es la aplicación preventiva de fungicidas durante la época de crecimiento del fruto. Por muchos años el Cobre y el Mancozeb, han sido los productos utilizados para el control de la mancha negra y otros patógenos de los cítricos. Los Bencimidazoles muestran un control satisfactorio al comienzo de su utilización, pero el hongo puede desarrollar resistencia.

En tratamientos realizados por Goes (1998) en naranjo dulce con 12 años de edad y antecedentes probados de niveles altos de la enfermedad en años anteriores, la aplicación del fungicida Oxiclورو de Cobre (500 g. de cobre elemental por kg) a dosis de 200 g por 100 L de agua más 500 ml. de Aceite Mineral en 100 L. de agua, logró un 52,7% de frutas exportables cuando realizó cuatro aplicaciones y un 46,1% cuando realizó tres aplicaciones.

El mejor resultado lo alcanzó con dos tratamientos de Benlate 500 más Manzate 800 (50 g. de producto comercial de Benlate 500 + 100 g. de producto comercial de Manzate 800 por 100 L. de agua) aplicados a los 60 días entre el primer y segundo tratamiento, logrando 78,2% de las frutas exportables. En el testigo sin aplicación se obtuvo 0,5% de frutos comercializables (Goes, 1998).

En tratamientos aplicando Benlate 500 más Manzate 800 más Aceite Mineral (50 g. de producto comercial de Benlate 500 + 200 gr de producto comercial de Manzate 800 + 500 ml. de Aceite Mineral por 100 L. de agua), realizando dos a intervalo de 50 días, logró un eficiente control de la mancha negra con un 77,6% de frutas exportables. En el testigo sin aplicación no se obtuvo frutos con calidad exportable.

En tratamientos realizados por Paradela, *et al* (2000) en naranjo dulce con 10 años de edad, realizando cuatro aplicaciones con Manzate 800 (200 g. de producto comercial por 100 L. de agua) más aceite mineral (500 ml. de aceite mineral en 100 L. de agua) logró obtener un 59% de daños en frutos. Utilizando Oxiclورو de Cobre, a dosis de 200 g. por 100 L. de agua más 500 ml. de Aceite Mineral en 100 L. de agua realizando cuatro aplicaciones logró obtener un 58% de incidencia de daños.

Aplicando Benlate 500 más Manzate 800 más Aceite Mineral(50 g. de producto comercial de Benlate.500 + 100 g. de producto comercial de Manzate 800 + 500 ml. de Aceite Mineral por 100 L. de agua) logró obtener un 20,3% de incidencia de daños en frutos con tres aplicaciones. En el testigo sin aplicación se obtuvo un 71,5% de incidencia de daños (Paradela, *et al.* 2000).

Canteros (2009), expone que no debe hacerse más de una aplicación de fungicida del grupo bencimidazol para el control de la mancha negra de los cítricos por año para prevenir la aparición de razas resistentes. Ensayos realizados en las últimas temporadas determinaron que el aceite emulsionable aplicado solo, es efectivo para el control, aunque su efecto es menor que en la mezcla con Benomyl y se recomienda el uso de aceite emulsionable en los lotes destinados a la industria.

Fogliata *et al.* (2006), informaron que la mancha negra de los cítricos, causada por *Guignardia citricarpa* (*Phyllosticta citricarpa*) y la mancha rojiza o moteado, causada por *G. mangiferae* (*P. capitalensis*), se controlan con fungicidas cúpricos, estrobilurinas, Mancozeb y bencimidazoles.

Garrán *et al.* (2011) plantean que la mancha negra es una de las enfermedades potencialmente más limitantes de la rentabilidad del cultivo cítrico en la región del río Uruguay. Si bien, la enfermedad afecta tanto la calidad como los rendimientos al causar manchas en frutos y, en casos de infecciones severas, caída prematura de los mismos, el principal perjuicio que ocasiona es la de limitar el acceso a los mercados de la Unión Europea por su carácter de cuarentenaria.

El programa basado exclusivamente en pulverizaciones cúpricas afectó negativamente la calidad comercial de los frutos, mientras que el uso del carbendazim está restringido solo a mercado interno y a ciertos mercados de exportación. Es por ello que solo quedaría disponible la opción basada en la combinación de una a dos aplicaciones de estrobilurina con fungicidas protectores. Si los niveles de control de ambos tratamientos continúan siendo similares, se aconseja una sola aplicación de estrobilurina, para reducir la presión de selección sobre los biotipos resistentes (Garrán *et al.*, 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El trabajo se desarrolló en la Empresa Agroindustrial “Victoria de Girón”, municipio Jagüey Grande, provincia de Matanzas, que se localiza entre los 22°41'55,73N - 22°30'46,77 de latitud norte y los 80°42'53,61W - 81°51'23,44 de longitud oeste y altitud entre tres y 25 msnm. Esta región se ubica en el grupo II a de la clasificación edafoclimática de las áreas cítricas de Cuba (Lima *et al.*, 1988).

Según la información meteorológica histórica para una serie de 23 años (1981-2016) en el mes de enero se presentó la temperatura media mensual más baja (14,4 °C) y la más cálida (33,4 °C) en el mes de julio. Los meses más secos se encuentran entre diciembre-febrero, y los más lluviosos entre mayo-octubre. La precipitación media anual es de 1 494 mm, la humedad relativa media de 80 % y la duración media de la luz solar es de 7,6 horas/día (Aranguren, 2009).

Los suelos son del tipo Ferralítico Rojo Típico con rocosidad y profundidad entre mediana y alta, según la nueva clasificación genética de los suelos de Cuba, catalogados como Ferralsol Rhodic en correlación con el “World Reference Base” (Hernández *et al.*, 2004).

3.2. Características generales de las plantaciones

Como material vegetal se utilizaron plantaciones de naranjo [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cv. 'Valencia', injertados sobre el patrón naranjo 'Agrio' (*Citrus aurantium* L.) y edades entre 20 y 25 años.

Los campos donde se realizaron las evaluaciones de epidemiología, cosecha y las aplicaciones de los tratamientos fungicidas, se mantenían bajo la tecnología establecida para el cultivo de los cítricos en la empresa, que incluyen el control de malezas con herbicidas, riego por aspersión, fertilización edáfica y foliar con microelementos (EAIVG., 2017).

En las plantaciones de la empresa se aplica por sanidad vegetal, un plan de medidas, para el enfrentamiento de la enfermedad mancha negra de los cítricos, que incluye:

- Erradicación de plantas no económicas.
- Recogida de frutas quedadas en las plantas y el suelo después de la cosecha.
- Aplicación de urea al lecho de hojas para acelerar su descomposición.
- Brindar a las plantaciones las atenciones agrotécnicas adecuadas para lograr una floración uniforme.
- Desinfección de los medios de chapea, cosecha y transportación con formol al 2% cada vez que salgan del área.
- Limpieza de cajas de campo e incineración de hojas y ramas que llegan a los centros de beneficio e industria.
- Aplicación de fungicidas para el control de la enfermedad.

Las plantaciones utilizadas para la prueba de fungicidas no recibieron las aplicaciones de estos productos, ni las medidas de saneamiento indicadas en el programa de manejo para el control de la mancha negra, para poder valorar la efectividad de las variantes propuestas.

3.3. Distribución espacio-temporal de la MNC en Jagüey Grande

3.3.1. Distribución espacial en el campo de plantas con MNC

Los estudios de distribución espacial en el campo se realizaron en seis plantaciones con diferentes niveles de incidencia de mancha negra de los cítricos. En cada área se evaluaron 1520 plantas de naranjo 'Valencia' injertadas sobre naranjo Agrio, con un marco de plantación 4 x 8m para un total de 5.3 hectáreas por cada campo.

Se evaluó la presencia o ausencia de MNC en la totalidad de las plantas en las áreas seleccionadas (plantas con al menos un fruto enfermo fue considerada como infectada) en el período de pre cosecha. Los resultados generados fueron analizados

para la interpretación de patrones espaciales de plantas sintomáticas, según el índice de dispersión binomial (D), el cual tuvo como finalidad indicar el patrón de agregación, aleatoriedad o regularidad de plantas sintomáticas distribuidas en las áreas evaluadas. En los análisis del patrón de distribución según el índice de dispersión, las áreas muestreadas fueron divididas en cuadrantes de 2x2, 3x3, 4x4, 5x5, 6x6, 7x7 y 8x8 y se determinó el índice de dispersión binomial.

La incidencia de árboles sintomáticos fue estimada por $p = \sum Xi/nN$ donde, Xi es el número de árboles con síntomas en el isimo cuadrante, n es el número de árboles por cuadrantes y N es el número total de cuadrantes. La varianza binomial fue determinada como:

$$V_{bin} = p(1-p)$$

Y la varianza observada fue calculada:

$$V_{obs} = \sum (Xi-np)^2/n^2(N-1)$$

La dispersión binomial(D) fue obtenida como:

$$D = V_{obs} / V_{bin}$$

La significación estadística de la dispersión binomial fue calculada usando la prueba de X^2 (chi cuadrado) a un nivel de significación de 0.05%.

Cuando $D=1$ Aleatorio, $D>1$ Agregado, $D<1$ regular.

3.3.2. Distribución espacial en el árbol de frutos con MNC

La presencia de MNC fue evaluada antes de la cosecha en 1440 frutos provenientes de 20 plantas de cuatro campos con incidencia de la enfermedad. Los campos evaluados fueron de naranjo Valencia los cuales tenían como promedio 25 años de plantados, en un marco de plantación de 4m x 8m.

En cada planta fueron evaluados 18 frutos ubicados en cuatro cuadrantes del árbol y se determinó la varianza de la distribución binomial (V_{bin}) según $V_{bin} = I(1-I)/n$, donde: (I) es la incidencia de frutos enfermos en la planta y (n) la cantidad de frutos en cada cuadrante.

El índice de dispersión se determinó como $ID=S^2/V_{bin}$, y para los valores de ID de cada planta fue aplicado el test de X^2 (chi cuadrado) con la ayuda del paquete estadístico Ecological Methodology “Índices de Dispersión” versión 5.1 (Krebs, 2002), con el objetivo de verificar si el valor calculado fue mayor o igual que uno al nivel de significación de 0.05%, si $D=1$ (patrón espacial aleatorio), $D>1$ (patrón espacial agregado), $D<1$ (patrón espacial regular).

La forma binaria de la Ley de Potencia de Taylor (LPT), relaciona la varianza observada (V_{obs}) y la varianza binomial esperada (V_{bin}), para una distribución al azar de datos binarios según la fórmula $\log(V_{obs}) = \log A + b \log(V_{bin})$, donde A y b son parámetros. La regresión lineal fue aplicada al conjunto de datos considerando la varianza binomial como la variable independiente y la varianza observada como la variable dependiente. La significación entre estas dos variables fue verificada con la ayuda del test F y la adecuación del ajuste por el coeficiente de determinación R^2 y por el análisis de la distribución de residuos.

La distribución al azar de frutos con síntomas es inferida cuando $b=A=1$. Existe un nivel constante de agregación cuando $b=1$ y $A>1$. Cuando $b>1$ el nivel de agregación varía con la incidencia.

3.3.3. Dinámica temporal de la MNC

La dinámica temporal de la enfermedad se determinó por el ajuste de las curvas de progreso a modelos matemáticos basados en regresiones no lineales (Verhulst, 1938; Bergamin Filho y Amorin, 1996; Llácer *et al.*, 2000 citado por Spósito *et al.*, 2008):

Logístico: $\{y=b_1/[1+b_2 \cdot \exp(-rt)]\}$,

Gompertz: $\{y= b_1 \cdot \exp[-b_2 \exp(-rt)]\}$,

Monomolecular: $\{y=b_1 \cdot [1-b_2 \cdot \exp(-rt)]\}$ y

Dependiente del tiempo: $\{y= i \exp[rt(1-t/2T)]\}$

Donde:

$y = x$, incidencia o severidad de la enfermedad

$b_1 = i_{max}$, asíntota máxima estimada por el modelo

$b_2 =$ constante de integración igual a $1 - i_0$ ($i_0 =$ inóculo inicial)

$r =$ tasa de progreso de la enfermedad

$t =$ tiempo de inflexión de la curva

El mejor modelo fue seleccionado a partir de los valores del coeficiente de determinación (R^2) de la regresión no lineal entre la enfermedad y el tiempo y la ausencia de patrón de residuos.

3.3.4. Relación incidencia - severidad de la MNC

La relación incidencia - severidad de los síntomas de MNC se estableció a partir de la regresión entre ambas variables, donde: la incidencia es la variable independiente y la severidad la variable dependiente. Los datos se obtuvieron del muestreo realizado en diferentes áreas de la empresa a un total de 489 plantas y 60 frutos por planta para una muestra general de 29340 frutos. La relación de dependencia entre la incidencia (variable independiente) y severidad (variable dependiente) se estableció mediante un análisis de regresión lineal, donde se determinó el coeficiente de determinación y la significación.

Los análisis cuantitativos de las variables concomitantes incidencia y severidad se realizaron según (Bergamin Filho y Amorim, 1996; Spósito *et al.*, 2008).

Donde:

Incidencia = (frutos con síntomas / total de frutos evaluados)*100.

Severidad = \sum (grado de la escala * total de frutos en ese grado) / (Número total de muestras*grado máximo de la escala)*100.

Para los análisis del grado de severidad de los síntomas de MNC en los frutos, se utilizó una escala visual de seis grados, establecida por el porcentaje del área de la fruta lesionada por el patógeno según Da Silva *et al.* (2016).

Donde: Grado 1 = 1.2%, Grado 2= 4.5%, Grado 3= 15%, Grado 4= 31%, Grado 5 = 53% y Grado 6= 68% del área total dañada, como se muestra en la Figura 1.

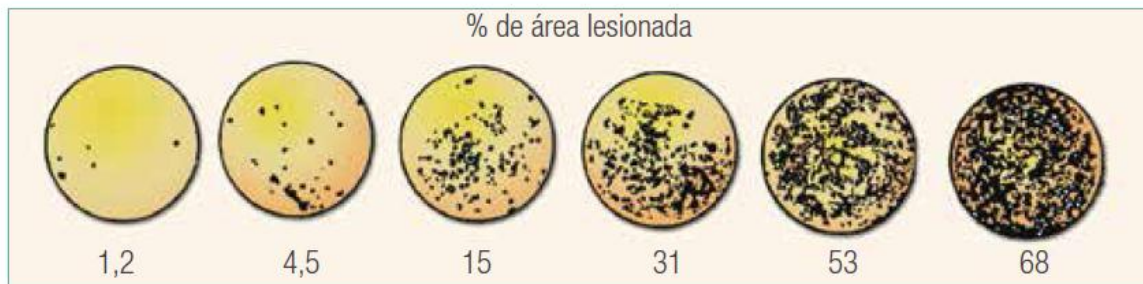


Figura 1. Escala de evaluación visual de síntomas de MNC utilizada para determinar la severidad de los daños. Según Da Silva *et al.* (2016).

Para el análisis estadístico los datos de incidencia y severidad se transformaron según la función $\arcsen\sqrt{\%}$.

3.4. Aspectos básicos para desarrollar estrategias de manejo de la MNC

3.4.1. Crecimiento de los frutos y susceptibilidad a la MNC

Para establecer el momento de mayor susceptibilidad de los frutos de naranjo Valencia a la MNC durante su desarrollo, se determinó la edad de los frutos a partir de la evaluación de la fecha de floración masiva en 10 plantas y durante su desarrollo se realizaron mediciones del diámetro ecuatorial en 20 frutos por planta (cuatro por punto cardinal del árbol), con frecuencia decadal hasta su cosecha. Se determinó en que edad del fruto es mayor su susceptibilidad a la MNC.

3.4.2. Relación del momento de la cosecha con la incidencia de MNC

Durante la evaluación de la efectividad del programa de manejo para el control de la mancha negra de los cítricos en plantaciones de naranjo "Valencia" de más de 25 años de edad, durante las cosecha de los años 2016 y 2017, se seleccionaron en la Granja 5 de la empresa, ocho campos con diagnóstico positivo y una baja incidencia.

En cuatro de los campos, se recolectaron sus frutos, antes de la caída del 75% de los pétalos, de la floración corresponde a la siguiente cosecha (mes de marzo), y en

otros cuatro campos la cosecha se realizó en el mes de mayo, dos meses después de la ocurrencia de la floración masiva, cuando los frutos se encontraban en la etapa de cuajado, crecimiento y maduración. En estos campos en los meses de enero y febrero, se contabilizaron las plantas con frutos afectados por la mancha negra y se determinó la incidencia según la fórmula correspondiente.

Para la comparación de la incidencia de plantas con frutos sintomáticos de MNC en los campos cosechados en diferentes momentos durante las dos cosechas analizadas, se realizó una comparación de medias por la Prueba t a un nivel de significación de $P \leq 0.05$. Los datos se transformaron en $\arcsen \sqrt{P}$.

3.4.3. Integración del tratamiento con estrobilurinas al control de MNC

El trabajo se desarrolló entre los años 2016 y 2017 en plantaciones de naranja Valencia criolla (*Citrus sinensis* (L) Osb.), sobre patrón Citrumelo Swingle (*Poncirus trifoliata* (L) Raf x *Citrus paradisi* Macf), de la Granja 3, Lote A-12, Cuadrante 1, Banda D. El área está plantada a un marco de plantación de 4 m x 7 m (357 plantas por hectárea), y es homogénea tanto en porte de la plantación, tipo de suelo, sistema de riego, producción por hectárea y afectaciones por mancha negra de los cítricos.

Se compararon dos variantes de tratamiento con cuatro réplicas (tabla 1), donde las aplicaciones se realizaron con asperjadora Teyme, antes de la cosecha y cada parcela de tratamiento estaba formada por cuatro hileras de 76 plantas.

Tabla 1. Tratamientos en naranjo Valencia para el control de mancha negra.

Variante	No aplic	Producto comercial	Conc. (ml-g/l)	Dosis (L-kg PC/ha)	Fechas de aplicación
Nueva (Regnum)	1	Cuproflow SC 37,75	2.500	2.937	(50% pétalos caídos) 26-02-2015
	2	Regnum CE 25	0.500	0.587	26-03-2016
	3	Regnum CE 25	0.500	0.587	29-04-2016
	4	Cuproflow SC 37,75	2.500	2.937	04-06-2016
	5	Supreme EW 40	0.750	0.881	03-07-2016
	6	Regnum CE 25	0.500	0.587	(50% lámina expandida) 22-9-2016
Tradicional (Mancozeb)	1	Cuproflow SC 37,75	2.500	2.937	(50% pétalos caídos) 26-02-2016
	2	Mancozeb PH 80	3.125	3.671	26-03-2016
	3	Mancozeb PH 80	3.125	3.671	29-04-2016
	4	Cuproflow SC 37,75	2.500	2.937	04-06-2016
	5	Supreme EW 40	0.750	0.881	03-07-2016
	6	Cuproflow SC 37,75	2.500	2.937	(50% lámina expandida) 22-09-2016

Las caídas de frutos se evaluaron en 20 plantas de la hilera del centro, por conteo de los frutos en el suelo en cada parcela. La incidencia y severidad de la mancha negra, se determinó en 20 frutos por planta (200 frutos por parcela). Los datos se distribuyeron en cinco repeticiones de cuatro plantas en cada tratamiento.

Se realizó la comparación de los porcentajes de frutos caídos, de incidencia y severidad de la mancha negra de los cítricos entre los tratamientos, con el empleo de la prueba t de comparación de medias.

3.5. Programas estadísticos utilizados

Los análisis de distribución espacial de la enfermedad entre plantas en el campo y dentro de las plantas, se realizaron con el programa estadístico Ecological Methodology “Índices de Dispersión” versión 5.1 (Krebs, 2002), para calcular la varianza observada (S^2) entre cuadrantes. Mientras que las diferencias entre tratamientos de los análisis bifactorial, varianza y prueba t de comparación de medias se realizaron con el programa STATISTICA, Versión 6.0, (StatSoft, Inc., 2003).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Distribución espacio-temporal de la MNC en Jagüey Grande

4.1.1. Distribución espacial en el campo de plantas con MNC

En el análisis de distribución espacial en el campo de la mancha negra de los cítricos (Tabla 2) se observa que en todas las áreas evaluadas, hubo agregación de plantas con síntomas de la enfermedad excepto en el área VI, donde solo se observó agregación en los cuadrantes 3x3, 5x5 y 8x8. Esta área se caracterizó por altos niveles de incidencia (81-84%), y se observó aleatoriedad en la mayoría de los cuadrantes estudiados, o sea, en cualquier área del campo hay la misma posibilidad de encontrar plantas con síntomas con independencia de la cercanía entre plantas.

Tabla 2. Incidencia de la MNC e índice de dispersión binomial de plantas con frutos sintomáticos en diferentes cuadrantes de seis áreas de naranjo 'Valencia'.

Plantaciones (campos)	Indicadores evaluados	Cuadrantes por campo (plantas x filas)						
		380 2X2	150 3X3	95 4X4	60 5X5	36 6X6	20 7X7	18 8X8
I	<i>Incidencia</i>	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01
	<i>Dispersión</i>	1.64*	1.77*	1.60*	1.52*	1.88*	1.55*	2.26*
II	<i>Incidencia</i>	0.025	0.026	0.026	0.027	0.025	0.03	0.03
	<i>Dispersión</i>	1.25*	1.56*	1.58*	1.91*	1.62*	2.05*	2.33*
III	<i>Incidencia</i>	0.026	0.027	0.026	0.03	0.028	0.02	0.02
	<i>Dispersión</i>	1.59*	1.17*	2.10*	2.07*	1.63*	2.30*	3.75*
IV	<i>Incidencia</i>	0.25	0.27	0.25	0.25	0.27	0.3	0.28
	<i>Dispersión</i>	1.38*	1.59*	2.47*	3.21*	2.26*	2.97*	2.77*
V	<i>Incidencia</i>	0.28	0.28	0.28	0.28	0.3	0.29	0.34
	<i>Dispersión</i>	4.51*	2.14*	3.19*	4.31*	5.11*	6.50*	6.4*
VI	<i>Incidencia</i>	0.82	0.81	0.82	0.82	0.82	0.84	0.83
	<i>Dispersión</i>	1.23 ^{ns}	1.30*	1.64 ^{ns}	1.53*	1.61 ^{ns}	1.03 ^{ns}	1.47*

(ns) patrón de aleatoriedad de plantas sintomáticas dentro del cuadrante.

(*) patrón de agregación dentro del cuadrante.

Las áreas I, II, III, IV y V, mostraron agregación en todos los cuadrantes evaluados, estas áreas se caracterizaron por presentar niveles de incidencia por entre el 1% y el 30%. Este resultado indica que se pueden encontrar plantas mostrando síntomas de

la enfermedad unas muy cercanas a otras, por lo que la dispersión ocurre a cortas distancias y sugiere que la fuente de inóculo responsable por este movimiento son los conidios producidos por *P. citricarpa*, los cuales se trasladan con presencia de agua libre (lluvia, riego, neblina fuerte y rocío).

Además se observó que en la medida que aumentó el tamaño del cuadrante se incrementó el índice de dispersión binomial, esto indica que existen focos dentro del área desde donde se disemina la enfermedad y aunque la incidencia sea baja, plantas enfermas infectan plantas vecinas. Estos resultados coinciden con Spósito (2003), quien encontró patrón de dispersión agregado en áreas de cítricos infectadas con MNC en el Estado de San Paulo en Brasil.

Van Leeuwen *et al.* (2000) citado por Spósito (2003) también encontraron agregación, cuando estudiaron el patrón de dispersión de la sarna del manzano y observaron la similitud entre ambas enfermedades, ya que las mismas son causadas por patógenos que tienen dos mecanismos de diseminación (conidios y ascosporas) en su ciclo de vida, con capacidad para infectar tejidos susceptibles.

Se plantea que la diseminación de la enfermedad a cortas distancias está relacionada con la acción de los conidios que determinan el patrón de agregación; no obstante en estos patosistemas Spósito (2003) no descarta la posibilidad de diseminación a corta distancia producto de la acción de las ascosporas. En este trabajo no se coincide con las observaciones de Spósito (2003) quien plantea que los índices de dispersión disminuyen con el aumento del tamaño del cuadrante, y que no existen focos dentro del área desde los cuales se disemina la enfermedad cuando la distribución es baja.

Los resultados obtenidos son de gran importancia para determinar en cada campo la mejor estrategia de manejo y control y de la enfermedad a seguir, a partir de que se conozca la incidencia de plantas con síntomas en cada área. Además, son la base para establecer métodos de muestreo diferenciados en función de la distribución espacial de la MNC en las plantaciones analizadas.

4.1.2. Distribución espacial en el árbol de frutos con MNC

En las plantas consideradas la distribución espacial en el árbol de frutos con síntomas de MNC, se encontró que la agregación de frutos enfermos fue constatada en 11 plantas de las 20 evaluadas (55.5 %). En las plantas que mostraron agregación se observó que en la medida que aumentó la incidencia de la enfermedad, también lo hizo el valor del índice de dispersión binomial (tabla 3), esto indica que en la mayoría de las planta los frutos enfermos estaban reunido en una determinada área (cuadrante de la copa). La presencia de varios frutos enfermos en una única rama rodeados con frutos sanos fue constatada en las áreas evaluadas.

Tabla 3. Incidencia y dispersión de frutos con síntomas de MNC en cuatro campos de naranjo ‘Valencia’ en Jagüey Grande.

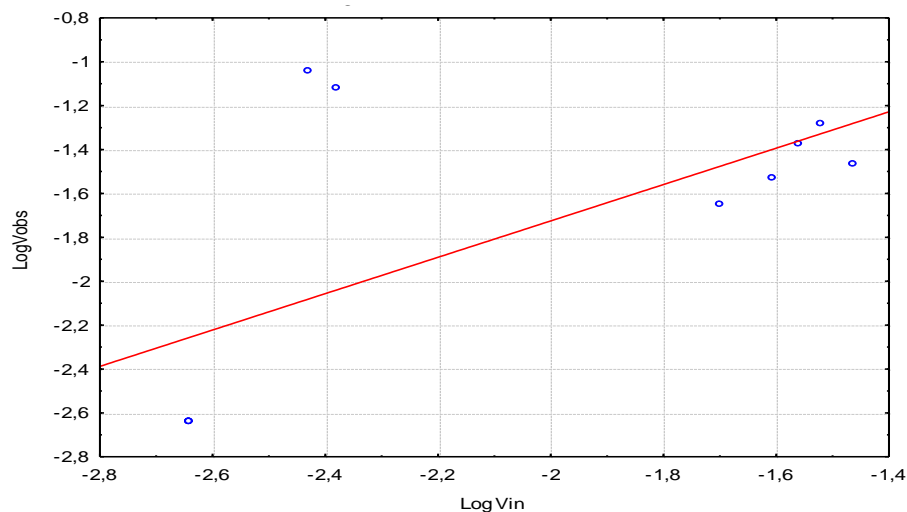
Plantaciones (campo)	Planta	Incidencia (proporción)	Índice de Dispersión
I	1	0.18	1.20*
	2	0.21	1.53*
	3	0.27	1.76*
	4	0.33	2.45*
	5	0.47	1.84*
II	1	0.01	1.01*
	2	0.01	1.01*
	3	0.04	0.64 ^{ns}
	4	0.06	0.64 ^{ns}
	5	0.21	0.47 ^{ns}
III	1	0.04	1.01*
	2	0.04	1.01*
	3	0.05	0.64 ^{ns}
	4	0.05	0.64 ^{ns}
	5	0.21	0.48 ^{ns}
IV	1	0.07	0.64 ^{ns}
	2	0.08	0.54 ^{ns}
	3	0.08	0.94 ^{ns}
	4	0.14	1.34*
	5	0.29	1.00*

(ns) patrón de aleatoriedad de frutos con síntomas en los cuadrantes de la planta.

(*) patrón de agregación dentro del cuadrante.

En plantas con incidencia de 0.01 hasta 0.08% fue imposible determinar cualquier tipo de agregación, pues apenas había un fruto infectado, lo que evidencia que a niveles de incidencia bajos, la agregación disminuye o se hace nula presentando un patrón de diseminación regular en las nueve plantas restantes, con índices de dispersión (D) menores que cero. Esto indica que se pueden encontrar frutos enfermos en cualquier cuadrante sin que estos tengan que estar agrupados.

Según Campbell y Madden (1990), en la dispersión espacial de enfermedades causadas por patógenos de plantas es rara la presencia de patrones regulares, en el trabajo que se presenta se evidenció este resultado y son corroborados por el análisis de regresión según la Ley de Taylor Modificada (figura 2) y su ecuación, la cual indica que la agregación depende de los niveles de incidencia y en correspondencia con estos se puede alcanzar la regularidad.



LogVin:LogVobs: $r^2 = 0,4240$; $r = 0,6511$, $p = 0,0300$; $y = -0,0682062082 + 0,828472457*x$

Figura 2. Índices de Taylor y ajuste de la recta de regresión de plantas agregadas con síntomas de MNC en naranjo Valencia.

Teniendo en cuenta que el patrón espacial de una enfermedad, proporciona datos que pueden ser utilizados para escoger adecuados métodos de muestreos y para el esclarecimiento de la etiología de la enfermedad y el papel en su diseminación de los posibles vectores (Gottwald *et al.*, 1995; Laranjeira *et al.*, 1998) o de otros agentes, como el viento y la lluvia (Agostini *et al.*, 1993).

Los resultados obtenidos en el patrón de dispersión de la MNC en las plantas de las áreas evaluadas en Jagüey grande sugieren que ambas fuentes de inóculo ascospórica y conidial intervienen en la diseminación de la enfermedad, por lo que la eliminación y/o disminución de estas esporas en el campo y sobre la planta favorece el manejo de la enfermedad.

Existen dos maneras de dispersión de *G. citricarpa*, tanto por el viento (ascosporas) como por la lluvia (conidios) y esto puede ser variable. La presencia en el campo de hojarasca y de frutos enfermos sobre el árbol se han mostrado como las principales formas de diseminación de la enfermedad (Spósito, 2003).

4.1.3. Dinámica temporal de la MNC

En la Tabla 4 se muestran los resultados del ajuste de los datos de distribución temporal de frutos con síntomas de MNC en las condiciones de Jagüey Grande a los modelos epidemiológicos más importantes. Se aprecia el progreso de la enfermedad tuvo un comportamiento muy similar al modelo Monomolecular que, con un R^2 de 0.98, y sin presencia de patrón de residuos.

En su investigación Campbel y Madden (1990), determinaron que uno de los aspectos más importante para el análisis temporal de la epidemia es seleccionar un modelo más adecuado para describir la curva de progreso de la enfermedad esta selección tiene como objetivo estimar parámetros que sean utilizados en análisis estadísticos para comprobarlos entre las curva de progreso de la enfermedad.

Tabla 4. Parámetros de las curvas de progreso de la MNC en el tiempo ajustadas a modelos monomolecular, logístico y gompertz.

Modelo	Incidencia			Varianza	Residuo ^z
	ii	r	R ²		
Monomolecular	-0.031323	0.002473	0,98338*	96.71	-
Logístico	0.057325	0.011738	0,95509	91.22	+
Gompertz	0.034903	0.006349	0,97360	94.79	+

*z*Presencia (+) o ausencia (-) de patrón de residuos. * mayor coeficiente de determinación.

Como se demuestra en la figura 3, se encontraron patrones en el gráfico de residuos versus valores esperados para los modelos Logístico y Gompertz, no obstante, no se observaron patrones para la curvas del modelo Monomolecular.

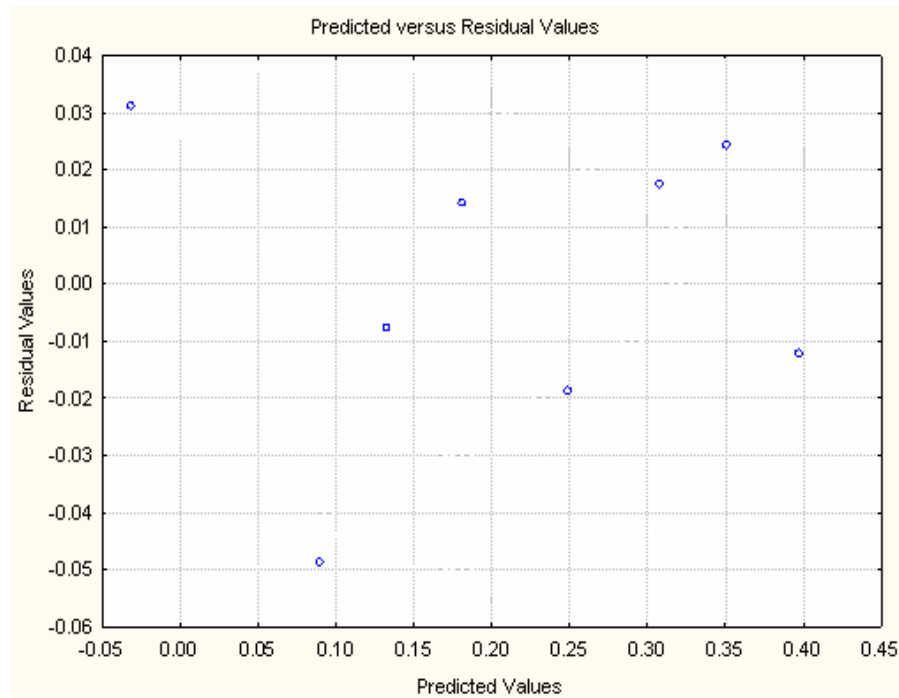


Figura 3. Relación entre valores pronosticados y los valores de residuos para el ajuste del progreso de la MNC al modelo monomolecular.

Esto coincide con los estudios realizados por Spósito *et al.*, (2004), quienes obtuvieron que los modelos Logístico, Gompertz y monomolecular, en estudios epidemiológicos de la MNC en tres cultivares de naranja dulce en Brasil. Estos mostraron coeficientes de determinación (R^2) muy similares y el modelo monomolecular no presentó patrón de residuo para las tres cultivares, como se encontró en los análisis realizados en naranja Valencia de Jagüey Grande, Cuba.

En la figura 4 se muestra la aproximación del ajuste de los datos a la curva del modelo Monomolecular que describe el progreso temporal de la proporción de frutos con síntomas de MNC en las plantas del área evaluada.

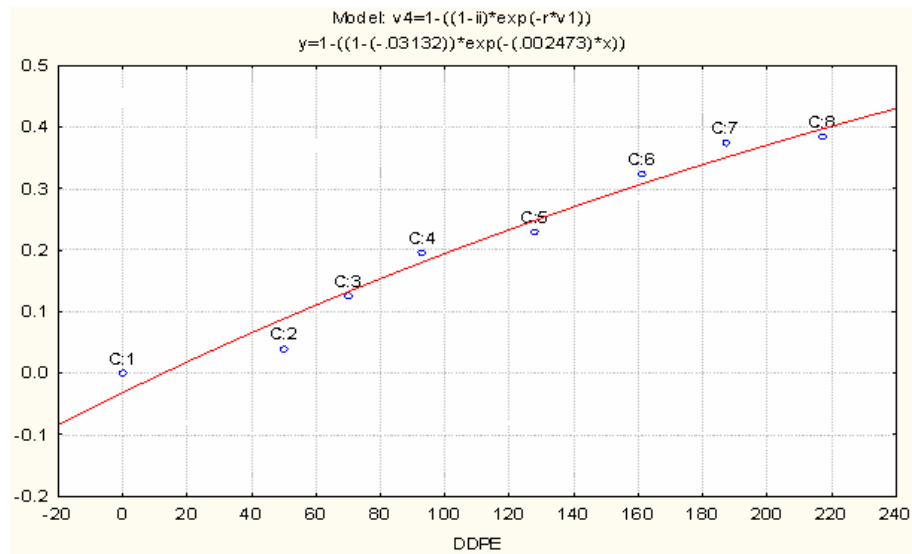


Figura 4. Curva de progreso temporal de la MNC, ajustada al modelo monomolecular para el naranjo Valencia en Jagüey Grande.

Spósito (2003) y Da Silva *et al* (2016) plantean que en diferentes cultivares de naranjo en Brasil, el mejor ajuste del progreso de la MNC se encontró al modelo monomolecular, lo que coincide con los resultados de este trabajo. En este sentido se ha indicado que este modelo se ajusta a epidemias donde el período de incubación es variable y esta depende más de la fenología del hospedero que del momento de infección (Spósito, 2003).

4.1.4. Relación incidencia - severidad de la MNC

Al establecer el ajuste de los datos de incidencia y severidad a los modelos matemáticos, se encontró que el modelo lineal ($R^2 = 0.94$), fue el que mejor describió la relación entre las variables analizadas (tabla 5), en comparación con el modelo exponencial.

Tabla 5. Parámetros de los modelos lineal ($S = a + b \cdot I$) y exponencial ($S = a \cdot \exp(b \cdot I)$) de la relación Incidencia - Severidad.

Modelo	a	b	R ²
Lineal	0.388	-0.0046	0.9422*
Exponencial	0.016	4.2109	0.9274

En Brasil Spósito (2003) encontró un coeficiente de determinación bajo ($R^2 = 0.38$) que se ajustó al modelo exponencial, sin embargo estos resultados no se corresponden con los de este trabajo, lo que se atribuye a que en Brasil la severidad de las afectaciones son altas en comparación con la encontrada en Jagüey Grande.

En el análisis de los datos se aprecia que algunas plantas se encontraron frutos afectados con una alta severidad, (figura 5), lo que se corresponde con una alta distribución, sin embargo, la mayoría de las plantas mostraron una severidad de baja a media (0-30%) que se corresponde con una distribución entre 0 y el 50%.

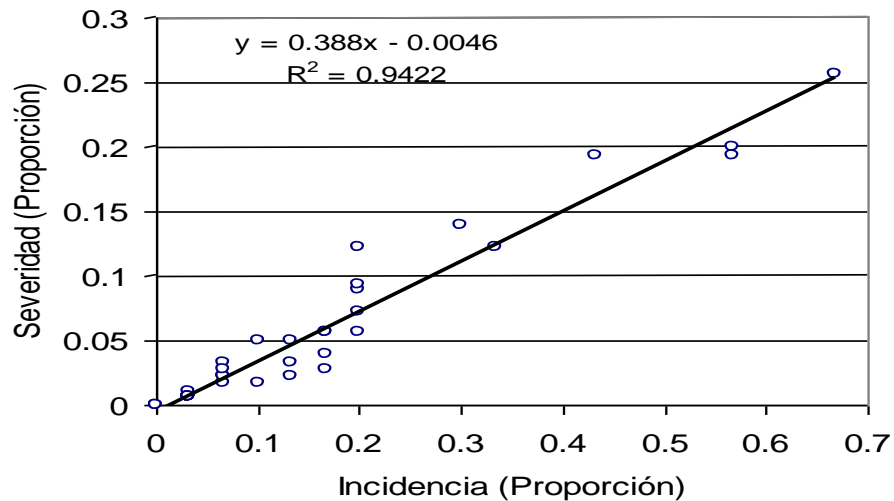


Figura 5. Relación de la proporción entre incidencia y severidad de síntomas de MNC en las plantas de naranjo Valencia en Jagüey Grande.

Los resultados indican que a medida que aumenta la incidencia aumenta la severidad, lo que puede estar relacionado a que aunque existen dos formas de dispersión, en el caso de la empresa la forma predominante es la dispersión por ascosporas.

Da Silva *et al* (2016) señala que los datos de incidencia y severidad de la MNC presentan una fuerte relación cuando la incidencia de los frutos afectados es inferior al 95%; mientras que en plantaciones de naranjas tardías muy afectadas por la MNC la incidencia de la enfermedad sin control químico, es alta la intensidad, lo que

indica que con una incidencia del 100% en las plantas la severidad media de frutos afectados aumenta hasta valores máximos del 5 a 15% en la cosecha.

4.2. Aspectos básicos para desarrollar estrategias de manejo de la MNC

4.2.1. Crecimiento de los frutos y susceptibilidad a la MNC

Existen enfermedades donde la expresión de los síntomas está en función principalmente del estado fenológico del órgano afectado con poca relación con el momento de infección y se ha señalado que la MNC es un ejemplo típico de este tipo de enfermedad (Bergamin Filho y Amorim, 2002).

En la figura 6 se muestran las curvas de crecimiento de los frutos y de la incidencia de síntomas de MNC. La incidencia de frutos sintomáticos se inició en el mes de noviembre a los 285 días después de la floración masiva y tuvo un incremento de una proporción de 0.06 a 0.54 entre noviembre y mayo. Se aprecia que con la maduración de los frutos a partir de noviembre es que se inicia la aparición de los síntomas, sin embargo, esto no quiere decir que en ese momento es que ocurrió la infección de los frutos.

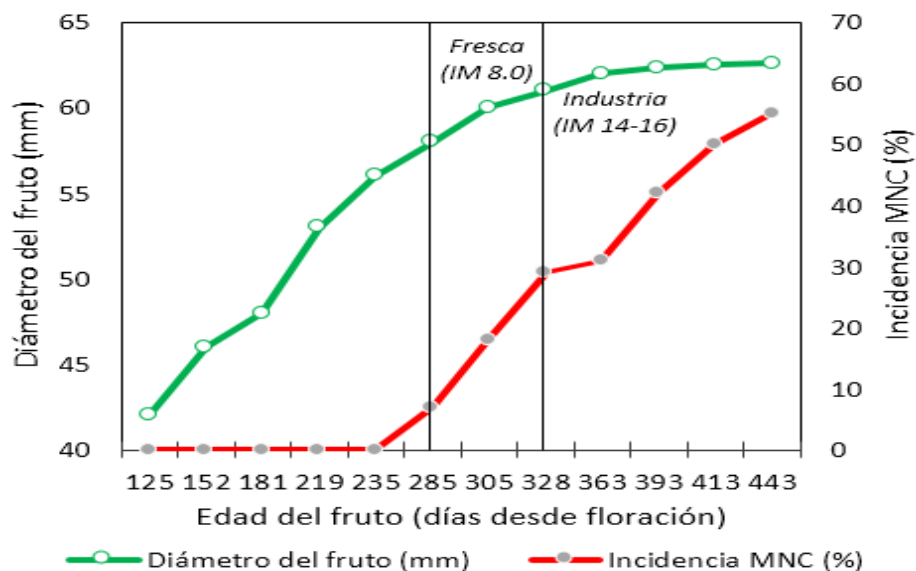


Figura 6. Crecimiento de los frutos de naranjo Valencia desde la floración y progreso de incidencia de frutos con síntomas de MNC. (Floración, febrero-marzo).

Según Aranguren (2009) al estimar en naranjo 'Valencia' los días desde la floración masiva, a la cosecha como frutos frescos, el índice de madurez mínimo de 8,0 se alcanza a los 250-470 días de edad, con un diámetro del fruto de 61 mm (segunda decena de noviembre), mientras, que el rango de madurez de 14-16 establecido como el óptimo de calidad para los frutos destinados a la industria se logra entre los 330-360 días de edad (segunda decena de enero-segunda de febrero).

Da Silva *et al.* (2016) indican que en naranjas dulces, desde el inicio de la expresión de los síntomas hasta la cosecha, la incidencia y la severidad de la enfermedad aumentan considerablemente independiente mente de la maduración precoz o tardía de los frutos. En las condiciones de Brasil con alta fuente de inóculo los primeros síntomas de la enfermedad se observan en frutos con cinco o seis meses de edad, aunque las infecciones ocurren en periodos variables los frutos permanecen susceptibles por largos períodos en el año y el aumento de la expresión de las lesiones hace que los síntomas sean más evidentes.

En Jagüey Grande bajo las condiciones analizadas la incidencia de frutos con síntomas de MNC se incrementó con la maduración y alcanzó valores desde 1.4 % en noviembre hasta 27.1 % en el mes de mayo cuando los frutos estaban maduros en el árbol. La intensidad de los síntomas se relaciona tanto al grado de maduración de los frutos como al aumento de la presencia de mayor número de frutos con síntomas en las plantas, que incrementa la fuente de inóculo.

Los resultados obtenidos en este trabajo, se corresponden con otros estudios relacionados con la susceptibilidad a MNC de diferentes cultivares, realizados en Brasil por Spósito (2003). En este trabajo se reflejan los primeros resultados relacionados con estudios epidemiológicos de la mancha negra de los cítricos en Jagüey Grande. No obstante, son necesarios estudios con un mayor período de tiempo, que permitan una mejor comprensión del fenómeno en el área evaluada.

4.2.2. Relación del momento de la cosecha con la incidencia de MNC

En el análisis donde se compara la incidencia de la mancha negra en función del momento de la cosecha durante dos años en Jagüey Grande (figura 7), se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de frutos con mancha entre las áreas cosechadas temprano (antes de la floración) en febrero y las cosechadas tardíamente (después de la floración) en mayo.

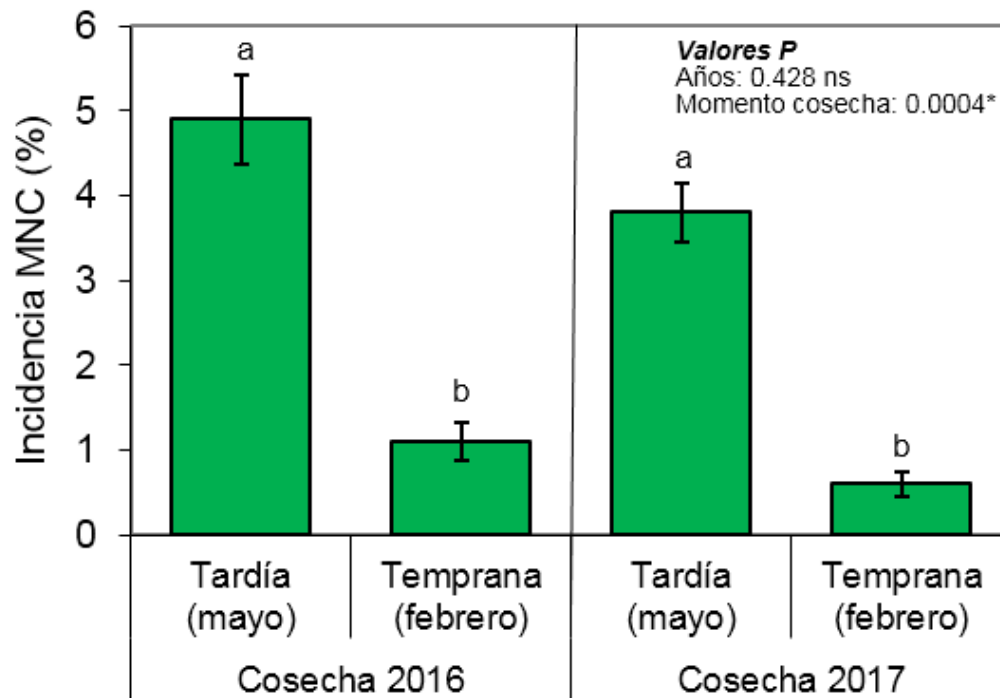


Figura 7. Incidencia de mancha negra de los cítricos en frutos de campos de naranjo 'Valencia' cosechados en diferentes momentos del año.

Sin embargo al comparar por años la incidencia de la enfermedad no se encontraron diferencias significativas, aunque la tendencia indica una ligera disminución de la incidencia de frutos afectados por la MNC en el año 2017 con respecto al anterior, a partir de la implementación de medidas de manejo de la enfermedad.

Estos resultados demuestran que *P. citricarpa* es responsable del incremento de la enfermedad en la planta lo que está de acuerdo con lo planteado por Kiely (1948b); Goes *et al.* (2000); Feichtenberger y Spósito (2003), Da Silva *et al.*, (2016) cuando en

la misma planta coexisten frutos infectados y frutos jóvenes susceptibles la presencia de picnidios y conidios favorecen las afectaciones a la nueva cosecha, aunque sean tratados con fungicidas, donde el tratamiento no resulta tan efectivo como en las áreas donde se cosecharon los frutos temprano.

Estos resultados refuerzan las observaciones de de Kotzé (1981), quien plantea que las picnidiosporas son importantes en la epidemiología de la mancha negra de los cítricos, ya que los frutos viejos infestados produciendo esporas pueden infestar a los frutos jóvenes susceptibles (cinco a seis meses de edad).

Al cosechar los frutos antes de la floración y sanearse el área, se baja significativamente la fuente de infección, por lo tanto las picnidiosporas no pueden jugar su papel de incrementar la enfermedad a nivel de planta o en las plantas aledañas. En los campos cosechados y saneados antes de la floración, aunque el porcentaje de incidencia de daños en las plantas es bajo, no se logró eliminar la enfermedad, lo que indica la importancia del ciclo primario, que ocurre en las hojas infestadas en descomposición sobre la superficie del suelo, que constituyen la fuente primaria de inóculo, coincidiendo con lo planteado por Kotzé (1963).

Otros autores atribuyen a las ascosporas de *G.citricarpa* la responsabilidad exclusiva de las epidemias Kiely (1948b), Kotzé (1989), McOnie (1967), McOcnie (1964a), Shutte *et al.* (1997). Los resultados en Jagüey Grande, no se corresponden con los de estos autores, pues la incidencia de la enfermedad está muy relacionada a la permanencia de frutos enfermos y jóvenes susceptibles sobre el árbol durante largos periodos de tiempo por una cosecha extendida, lo que demuestra la importancia de las picnidiosporas como fuente de infección.

En Cuba, la cosecha del naranjo 'Valencia' se realiza mayoritariamente después de la floración de la siguiente cosecha y en los periodos de mayor susceptibilidad del fruto por ocurren de lluvias y altas temperaturas, así como una alta luminosidad, por lo que tanto las ascosporas como las picnidiosporas contribuyen al incremento de la enfermedad, en coincidencia con lo planteado por Feichtenberger (1996) para las condiciones de Brasil.

Bergamin Filho y Amorim (1995a), plantean que en condiciones tropicales, el ciclo infeccioso de la mancha negra de los cítricos, hay que describirlo como la suma de la vía sexual y la asexual, ya que ambos tipos de esporas desempeñan papeles igualmente importantes, pero con diferentes funciones en la epidemiología de la enfermedad, corroborado esto por los resultados obtenidos.

En los campos de cosecha temprana la incidencia de daños es baja la disminución significativa de la fuente de infección de *P. citricarpa* al cosechar los frutos y a la aplicación de fungicidas durante el período de susceptibilidad del fruto. Fundecitrus (2005), recomienda la aplicación de cuatro tratamientos de fungicidas a partir de la caída del 75% de los pétalos y adelantar la cosecha en los lotes en que este presente la enfermedad, con lo que lograron disminuir significativamente los daños.

4.2.3. Integración del tratamiento con estrobilurinas al control de MNC

En la figura 8 se muestran los resultados una estrategia de control de la MNC con fungicidas que incluye la introducción de estrobilurinas (Regnum 25 EC) como parte de los tratamientos, donde se sustituyeron dos aplicaciones de Mancozeb PH 80 y una de Cuproflow SC 37,75 por el Regnum 25 EC.

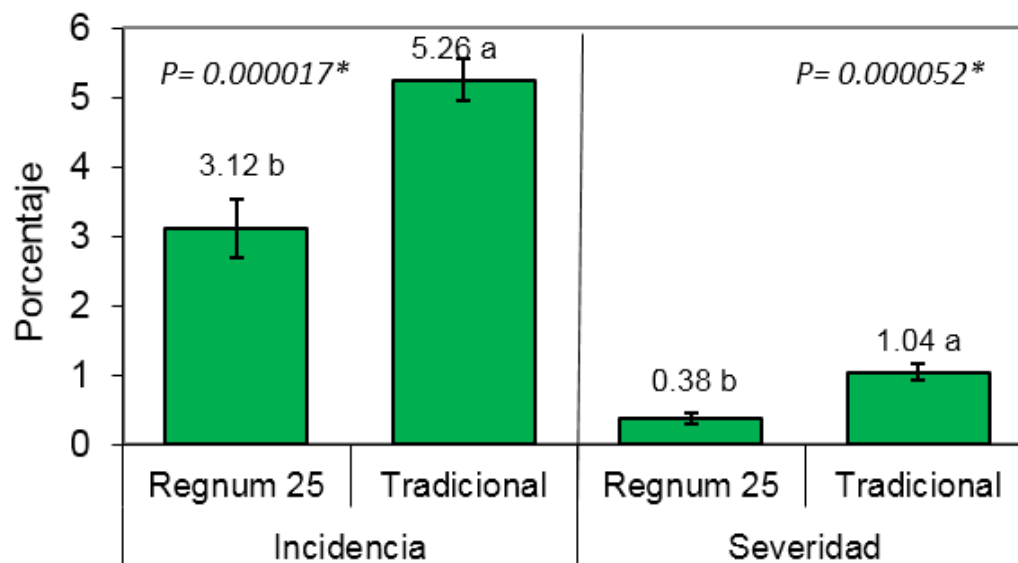


Figura 8. Resultados de la incorporación de estrobilurinas (Regnum 25 EC) en el control de la mancha negra en naranja Valencia en Jagüey Grande.

Se aprecian diferencias significativas en la incidencia de la MNC entre los tratamientos donde las plantas tratadas con Regnum 25 EC mostraron menor incidencia de MNC que las sometidas al tratamiento tradicional, con una reducción de la incidencia de la MNC del 2.14%. En la comparación de la severidad de los daños por MNC también se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos de control, con una disminución de la severidad en un 0.66% con la incorporación de Regnum 25 EC a la estrategia de manejo de la enfermedad con fungicidas.

Rodríguez *et al.* (2010) plantean que en Botucatu, Brasil, la mayor eficiencia en el control de MNC (95.5 % sin síntomas), se logra con la aplicación de 30 mL de pyraclostrobin en tres momentos, aunque debido al riesgo de aparición de resistencia a las estrobilurinas por tres aplicaciones por campaña, recomiendan dos aplicaciones tardías (noviembre y enero), para obtener entre 75 y 88% de frutos sin síntomas.

En Jagüey Grande, con las tres aplicaciones de Regnum 25 EC realizadas en sustitución de otros fungicidas, se lograron resultados de control de la MNC del 96.9% superiores a los informados para las condiciones de Brasil, con similar estrategia de control.

Fogliata *et al.* (2011), en ensayos para evaluar la eficacia de tres estrobilurinas, azoxistrobina, pyraclostrobin y trifloxistrobin, para controlar mancha rojiza y mancha negra en frutos de limón en Tucumán, Argentina, señalan que los tratamientos más eficaces fueron los que incluyeron una o dos aplicaciones de estrobilurinas, sin diferencias entre sí, superando al cúprico e igualando o superando a la mezcla cúprico-Mancozeb.

Da Silva *et al.* (2016) plantean que todas las estrobilurinas controlan eficientemente la enfermedad, con reducciones del hasta el 95% de la severidad de los síntomas en los frutos, y recomiendan aplicaciones a intervalos de 35 días a dosis de 4 g de i.a./100 L de caldo, ya que dosis superiores no incrementan la eficiencia del control.

Todos estos resultados se corresponden con los del trabajo realizado en Jagüey Grande, donde se demuestra la eficacia de las estrobilurinas para controlar mancha negra en estas condiciones. Aunque Dewdney y Burrow (2015) recomiendan no más de cuatro aplicaciones de estrobilurinas en un año para todas las enfermedades, y aplicaciones consecutivas no son recomendadas por el alto potencial de desarrollo de fungoresistencia.

La mancha negra de los cítricos provoca la caída prematura de los frutos durante la maduración y los frutos con severidades más altas caen en mayor proporción (Da Silva *et al.*, 2016). En la figura 9 se aprecian los resultados de las caídas de frutos en número y porcentaje de la producción estimada, en las plantas sometidas a los tratamientos tradicional y con incorporación del Regnum 25 EC en sustitución de otros fungicidas.

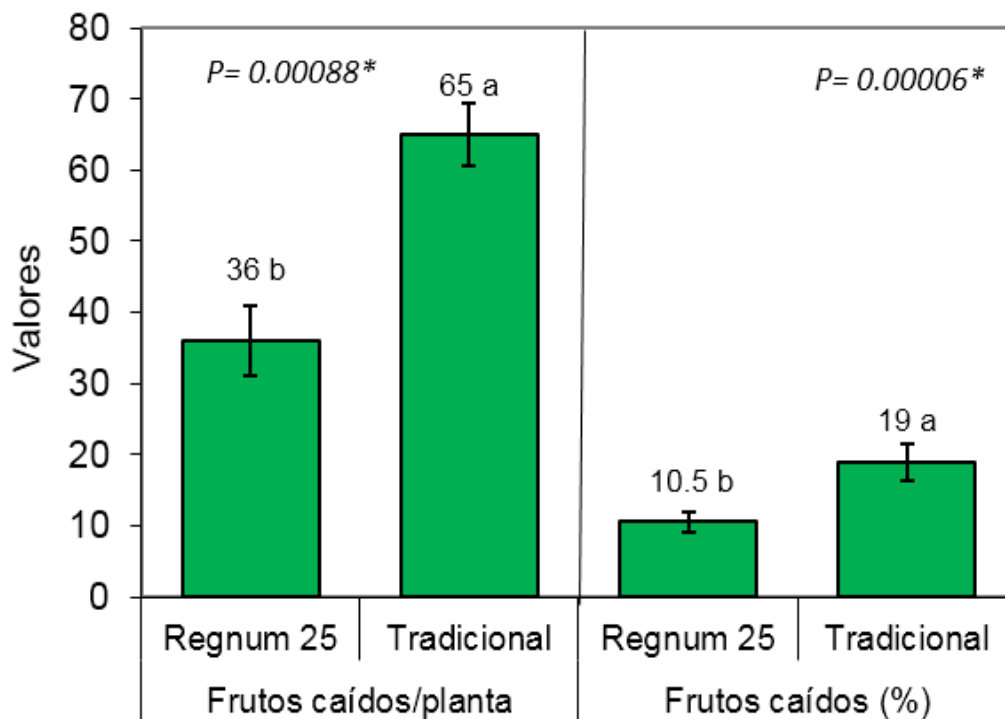


Figura 9. Caída de los frutos de naranja Valencia durante su desarrollo hasta la cosecha en los diferentes tratamientos. Peso medio de los frutos: 176 g.

La caída de frutos resultó con diferencias significativas entre tratamientos, con una mayor caída en número de frutos y porcentaje de caídas en el tratamiento tradicional en comparación con la variante que incorpora el Regnum EC 25, a la estrategia de manejo de la MNC, que mostró una reducción de la caídas en 8.5%.

En ausencia de control químico Da Silva *et al.* (2016) informan para naranjas dulces de maduración tardía con edades entre 10 y 22 años, una caída acentuada de frutos con una media del 46.4%. Mientras que en plantaciones con tratamiento de control químico en que se realizan aplicaciones a los intervalos correctos, dosis y productos recomendados, la caída prematura de frutos antes de la cosecha se reduce a una media del 12.1%.

La variante de control fitosanitario en que se incluyen tres aplicaciones del Regnum CE 25 en sustitución de las dos de Mancozeb PH 80 y una de las dos de Cuproflow SC 37,75, manteniendo la de Supreme EW 40, con aplicaciones cada 30 días entre aplicación, a partir de la caída del 50% de los pétalos, resultó adecuada para disminuir los daños de la mancha negra de los cítricos en plantaciones con alta fuente de infección.

5. CONCLUSIONES

- La distribución espacial en el campo de plantas con síntomas de MNC fue de forma agregada, lo que corrobora la presencia de focos durante la diseminación de la enfermedad.
- La distribución temporal de los síntomas de la mancha negra de los cítricos se ajustó al modelo monomolecular y la aparición de la enfermedad apareció a los 285 días de la floración masiva.
- En las plantaciones donde la cosecha se realizó de forma temprana (febrero) la incidencia de frutos con mancha negra resultó más baja (1.2-0.7%), que en las cosechadas de forma tardía (mayo) con una incidencia entre el 4.9 y el 3.8%.
- La integración del El Regnum 25 EC (estrobirulina) a la estrategia de control de la MNC con fungicidas resultó efectivo en el control de la enfermedad y reducción de las caídas de frutos.
- Estos resultados son básicos para el diseño de las estrategias de manejo de la MNC y minimizar las pérdidas por esta enfermedad en las condiciones de la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón en Jagüey Grande.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar evaluaciones de fungoresistencia a los fungicidas utilizados en la estrategia de manejo de la MNC en Jagüey Grande.
- Utilizar los resultados de este trabajo para el diseño de las estrategias de manejo integrado y de control de la enfermedad.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agostini, J. P. 2007. Manejo Integrado de enfermedades de los frutales cítricos. En: Árboles frutales. Ecología, Cultivo y Aprovechamiento. Eds. O. Sozzi. Ed. 1ª . Editorial. Fac. de Agronomía. UBA. p. 481- 528.

Agostini, J. P.; Acuña, L. E.; Dummel, D. M. y Haberle, E. 2005. Determinación del índice de riesgo de sobrevivencia de *Guignardia citricarpa* agente causal de mancha negra en frutas cítricas para exportación. Citrusmisiones Boletín Informativo del Departamento Frutales. 31(4) :10-18.

Agostini, J. P.; Gottwald, T. R and Timmer, I. W. 1993. Temporal and spacial dynamics of post bloom fruit drops of citrus in Florida. Phytopathology. 83 : 485-490.

Aguiar, R. L.; Scaloppi, E. M. T.; Goes, A. y Spósito, M. B. 2012. Periodo de incubacao de *Guignardia citricarpa* em diferentes estadios fenologicos de frutos de laranja Valencia. Tropical Plant Pathology. 37: 155-158.

Alexopoulos, C. J. 1979. Introductory mycology. 3. Ed. New York. Editorial John Wiley and Sons, Inc. 632 p.

Aranguren, M. 2009. Pronósticos de madurez y otras especificaciones de calidad para el ordenamiento de la cosecha en los cítricos de Jagüey Grande. Habana. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical.

Baayen, R. P.; Bonants, P. J.; Verkley, G.; Carroll, G. C.; Vander A. A.; Deweerdt, M.; Maccheroni, W.; De Blanco, G. y Azevedo, J. L. 2002. Non pathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa* Kiely, identified as cosmopolitan endophyte of woody plants, *Guignardia mangiferae* (*Phyllosticta capitalensis*). Phytopathology. 92(5): 464-477.

Baldassari, R. B. 2001. Influência de frutos sintomáticos de uma safra na incidência da *Guignardia citricarpa* Kiely na safra subsequente e período de suscetibilidade de frutos de laranjeiras 'Natal' e 'Valência'. Jaboticabal. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. 72 p.

Baldassari, R. B.; Brandimarte, I.; Andrade, A. G.; Cestari, D. G.; Moretto, C. E. y Goes, A. 2007. Indução de expressão precose de sintomas de *Guignardia citricarpa* Kiely em frutas de Laranjaeira "Pera-Rio". Brasileira de Fruticultura. 29(2): 269-275.

Baldassari, R. B.; Reis, R. F. y 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.

Bayer crop science. 2010. Crop Compendium. *Guignardia citricarpa* Kiely [en línea]. Disponible en: <http://compendium.bayercropscience.com/bayer/CropScience/CropCompendium/BCSCrop>. [Consulta: enero, 18 2018].

Bergamin Filho, A. y Amorim, L. 1995. Sistemas de previsão e avisos. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (ed.). Manual de Fitopatología. ed. Piracicaba. Ceres. p. 627-646.

Bergamin Filho, A. y Amorim, L. 1995a. Avaliação de danos e perdas. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (ED.). Manual de Fitopatologia. V.1, 3a. ed. Piracicaba. Ceres. p. 672-690.

Bergamin Filho, A. y Amorim, L. 1995b. Curvas de progreso da enfermedad, In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (ed.). Manual de Fitopatologia. V.1, 3a. ed. Piracicaba. Ceres. p. 602-626.

Bergamin Filho, A. y Amorim, L. 1996. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. São Paulo: Ediciones Agronômica Ceres. p. 229-234.

Bergamin Filho, A. y Amorim, L. 2002. Doenças com períodos de incubação variável em função da fenologia do horpedeiro. *Fitopatología Brasileira*. 27 : 561-565.

Brentu, F. C.; Oduro, K. A.; Offei, S. K.; Odamtten, G. T.; Vicent, A.; Peres, N. A.; Timmer, L. W. 2012. Crop loss, etiology, and epidemiology of citrus black spot in Ghana. *European Journal of Plant Pathology*. 133 : 657-670.

Campbell, C. L. y Madden, L. V. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York, Wiley. 532 p.

Canteros, B. I. 2000. Inta Bella Vista (Corrientes), el futuro de esta en la tierra. Identificación y manejo del moteado negro (Black spot) en citrus. *Alternativa – Fruticultura* [en línea]. Disponible en: comp.nsf/id/EN_Guignardia_citricarpa?open&ccm. [Consulta: diciembre 9, 2017].

Canteros, B. I. 2009. Guía para la identificación y el manejo de las enfermedades fúngicas y bacterianas en Citrus. 1ª Edición. p. 62-64.

Da Silva, G. J.; Feichtenberger, E.; Bellato, M.; Amorim, L.; Bassanezi, R. B.; Goes, A. 2016. *Pinta preta dos citros: a doença e seu manejo*. 1a Edição – Araraquara, SP: Fundecitrus. 208 p.

Dewdney, M. and Burrow, J. D. 2015. Citrus Black Spot Management Timing Schedule [en línea]. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu>. [Consulta: mayo 15, 2017].

Dewdney, M.; Ritenour, M.; Roberts, P.; Peres, N.; Burrow, J. y Gomez, H. 2013. Información sobre la Mancha Negra de los Cítricos. ¡El primer paso hacia una buena

estrategía de manejo es una identificación adecuada! [en línea]. Disponible en: <http://citrusblackspot.org>. [Consulta: diciembre 9, 2017].

Doige, E. M. 1929. Some disease of citrus prevalent in South Africa. South Africa Journal of science. 26: 320-325.

EAIVG. 2016. Tecnología para el cultivo de los cítricos EAIVG, 2016 - 2017. Dirección de producción EAIVG. 98 p.

EAIVG. 2009. Informe al Grupo de expertos EAIVG. Consideraciones sobre la presencia de la Mancha negra en áreas de la empresa. Dirección de desarrollo EAIVG. 18 p.

EPPO. 2012. European and Mediterranean Plant Protection Organization Reporting Service. Paris, France: EPPO [en línea]. Disponible en: http://archives.eppo.org/EPPORreporting/Reporting_Archives.html. [Consulta: marzo 18, 2017].

Fagan, C. y Goes, A. 1999. Efeito da severidade da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* Kiely na queda prematura de frutos de laranja 'Natal'. Fitopatologia Brasileira. 24 : 278-282.

Feichtenberger, E. 1996. Mancha-preta dos citros no Estado de São Paulo. Naranja. 17: 93-108.

Feichtenberger, E. y Bellato–Spósito, M. 2003. Mancha negra de los cítricos. Red Interamericana de cítricos. 21: 16-27.

Fogliata, G. M.; Ploper, D. I.; Muñoz, L. M.; Cantón, N. y Acosta, E. 2006 “Mancha rojiza” en frutos de limonero en Tucuman: se determinó que no es causada por *Guignardia citricarpa* Kiely, el agente causal de la mancha negra de los cítricos. Avance agroindustrial. 27(4): 4-9.

Fogliata, G.; Muñoz, L.; Rojas, A. y Ploper, L. D. 2011. Eficacia de tres estrobilurinas para el control de mancha rojiza (*Guignardia mangiferae*) y mancha negra (*Guignardia citricarpa* Kiely) en frutos de limón, en Tucumán, República Argentina. *Ind. agric.* 88(1): 32-44

Fundecitrus. 2003. Manual técnico sobre pinta preta. Araraquara: Fundo Paulista de Defesa da Citricultura. (Boletim Técnico). 10 p.

Fundecitrus. 2005. Manual técnico sobre pinta preta. Araraquara: Fundo Paulista de Defesa da Citricultura, (Boletim Técnico). 10 p.

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

Garrán, S. M.; Mousqués, J. A.; Burdyn, L.; Mika, R.; Kulczycki, C.; Sosa, A.; Pérez, E. 2011.

Goes, A. 1998. Efeito da associação entre fungicidas sistémicos y protetores no controle da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* Kiely. Jaboticabal/SP. Folleto técnico. 6 p.

Goes, A.; Graca, J.; Barros, J. C. S. M. y Pinheiro, J. E. 1990. Controle da pinta preta em frutos de tangerina 'Rio' (*Citrus deliciosa*) ocasionada por *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa* Kiely). *Fitopatologia Brasileira.*15: 73-75.

Goes, A.; Andrade, A. G. y Moretto, K. C. K. 2004. Effect of different oil types on the benomyl + mancozeb mixture on the control of *Guignardia citricarpa* Kiely, the causal agent of citrus black spot. *Summa Phytopathologica.* 26 : 233-236.

Goes, A.; Baldassari, R. B.; Feichtenberger, E.; Aguilar-Vildoso, C. I. y Spósito, M. B. 2000. Cracked spot, a new symptom of citrus black spot in Brazil. *Proceedings of the International Society of Citriculture.* 2: 1001-1002.

Gómez, A. y Valdés, L. A. 2009. Mancha negra de los cítricos: Caracterización, diagnóstico y manejo. Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical. p. 7-10.

Gottwald, T. R. 1995. Spatio-Temporal analysis and isopath dynamics of citrus scab in nurcery plants. *Phytopathology*. 85: 1082-1092.

Hau, B., Amorim, L. and Bergamin Filho, A. 1993. Mathematical functions to describe disease progress curves of double sigmoid pattern. *Phytopathology* 83: 928-932.

Herbert, J. A. 1989. Citrus black spot. Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, Nelspruit. Citrus. 30 p.

Hernández, A.; Ascanio, M.; Cabrera, A.; Morales, M. y Medina, N. 2004. Correlación de la nueva versión de clasificación genética de los suelos de cuba con World Reference Base. En: Conferencia en Postgrado de Clasificación de suelo. 14 p.

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.

Kellerman, C. R. y Kotzé, J. M. 1977. The black spot disease of citrus and its control in South Africa. *Proceedings International Society Citriculture*. 3: 992-996.

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

Kiely, T. B. 1948b. Preliminary studies on *Guignardia citricarpa* Kiely n. sp. the ascigenous 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.

Kimati, H. y Bergamin Filho, A. 1996. Princípios gerais de controle. En: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Ed.). Manual de fitopatologia: princípios e controle. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 693-716.

Klotz., L. J. 1978. Fungal, bacterial, and nonparasitic diseases and injuries originating in the seedbed, nursery, and orchard. En: Reuther, W.; Calavan, E. C. y Carman, G. E. Ed. The Citrus Industry. Riverside, University of California. p. 1-66.

Kotzé, J. M. 1963. Studies on the black spot diseases of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely, with particular reference to its epiphytology and control at Labata. Pretoria. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Fitopatología. University of Pretoria, South Africa.

Kotzé, J. M. 1981. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. Plant Disease. 65: 945-500.

Kotzé, J. M. 1988. Black spot. En: Whiteside, J. O., Garnsey, S. M., Timmer, L. W. (Ed.). Compendium of Citrus Diseases. St. Paul: APS Press. p. 10-12.

Kotzé, J. M. 1989. Black spot. En: Whiteside, J. O., Garnsey, S. M., Timmer, L. W. (Eds.). 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. Proc. Int. Soc. Citriculture. p.1296-1299.

Kotzé, J. M., 2000. Black spot. En: Timmer, L. W., Garnsey, S. M., Graham, J. H. (Ed.). Compendium of Citrus Diseases. 2a ed. St. Paul: APS Press. p. 23-25.

Kranz, J. 1974. Comparison of epidemics. Annual Review of Phytopathology. 12: 355-374. 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 Agronomico e Fundag. p. 509-566.

Krebs, 2002. Ecological Methodology. Software system for dispersal index dataanalysis. Versión 5.1.

Laranjeira, F. F.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Berger, R. D. and Hau, B. 1998. Análise especial do amarelecimento fatal do dendezeiro como ferramenta para elucidar sua etiologia. Fitopatologia Brasileira. 23: 397-403.

Lima, H.; Cornide, M. T.; Álvarez, M. y Frómata, E. 1988. Clasificación edafoclimática de las localidades cítricas en Cuba. Agrotecnia de Cuba. 20 (2) : 63-74.

Llácer G., M.M. López, A. Trapero, A. Bello. 1996. Patología Vegetal. Sociedad Española de Fitopatología. MundiPrensa. Phytoma España, 1165p.

Madden, L. V. 1989. Dynamic nature of within-field disease and pathogen distribution, En: Jerger, M.J. (Ed.). Advances in plant pathology. London. Academic press. p.39-79.

McOcnie, K. C. 1964a. The latent occurrence in citrus and other hosts of a *Guignardia* easily confused with *G. citricarpa*, the citrus black spot pathogen. Phytopathology. 54 : 40-43.

McOcnie, K. C. 1964b. Source of inoculum of *Guignardia citricarpa* Kiely, the citrus black spot pathogen. Phytopathology. 54: 64-67.

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

Mendez, D.; Reis, R. F.; Montes de Oca, A. G.; Pereira, G. T.; Goes, A. De. 2005. Aspectos nutricionales e físicos no crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *Phyllosticta citricarpa* (= *Guignardia citricarpa* Kiely), agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. *Summa Phytopathologica*. 31: 349-352.

Noronha, M. de A. 2002. Escala diagramática para a avaliação da mancha preta em folha de citros e efeito da temperatura e da duração do molhamento na pré-penetração de conídio de *Guignardia citricarpa* Kiely (*Phyllosticta citricarpa* (McAlp.) Vander Aa). São Paulo. Tese para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidad de São Paulo.

Paradela Filho, O.; Luis da Silva, C.; Freitas Batista, M.; De Almeida Alvarez, J. A.; Luis Paradela, A. 2000. Eficiencia de alguns fungicidas no controle da pinta preta (*Guignardia citricarpa* Kiely) em citros (citrus sp). Campinas-SP. Secretaria de agricultura e abastecimento. 9 p.

Pérez, M. C. H. 1995. Fenología de la Citricultura en Cuba. Curso Integral de Citricultura. Instituto de Investigaciones de Cítricos. 109 p.

Registro central de plaguicidas. 2016. Lista oficial de plaguicidas autorizados. 333 p.

Reis, R. F. 2002. Influencia dos factores climáticos na produção de ascósporos de *Guignardia citricarpa* Kiely empomares de laranjeiras “Natal” e “Valencia”. Jaboticabal. Tese (Maestrado), Facultad de Ciências Agrárias y Veterinárias. Universidade Estadual Pualista “Julio de Mesquita Filho”.

Reis, R. F.; Goes, A. y Timmer, L. W. 2006. Effect of temperature, leaf wetness, and rainfall on the production of *Guignardia citricarpa* Kiely ascospores and on black spot severity on sweet orange. *Fitopatología Brasileira*. 31: 029-034.

RIAC. 2007. Resumen del análisis de los principales factores restrictivos de la citricultura en el continente americano efectuado en la Reunión General de Coordinadores de la Red Interamericana de Cítricos. Carta Circular RIAC. 1: 38-40.

Rodríguez, V. A. y Mazza Gaiad, S. M. 1996. The effects of fungicide and fertilization on the control of black spot of citrus (*Guignardia citricarpa* Kiely). Proceedings International Society Citriculture. Sun City. 1: 482-484.

Rodríguez, V. A.; Avanza, M. M.; Mazza S. M.; Giménez, L. I. 2010. Efecto del pyraclostrobin en el control de mancha negra de los cítricos. Summa phytopatholy. Botucatu. 36 (4): 32-40.

Schutte, G. C.; Mansfield, R. I. y Beeton, K. V. 2003. Application of azoxystrobin for control of Benomyl – resistant *Guignardia citricarpa* Kiely on “Valencia” oranges in South Africa. Plant Disease. 87: 784-788.

SENASICA. 2013. Mancha negra de los cítricos (*Guignardia citricarpa*) Kiely. Dirección General de Sanidad Vegetal - Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D.F. Ficha Técnica No. 36. 24 p.

Sharov, A. 2003. Distribución Espacial de Organismos [en línea]. Disponible en: <http://www.ento.vt.edu/~sharov/alexei.html>. [Consulta: mayo, 15 2017].

Shutte, G. C.; Beeton, K. V. y 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.

Sivanesan, A. 1984. The bitunicate ascomycetes and their anamorphous. J. Cramer. Germany. 701 p.

Smith, J. H. 1996. A study of the effect of various disease control programs on spore releases of the citrus black spot pathogen *Guignardia citricarpa* Kiely. Proceedings International Society Citriculture. 1: 351-352.

Spósito, M. B. 2003. Dinâmica temporal e espacial da Mancha Preta (*Guignardia citricarpa* Kiely) e quantificação dos danos causados à cultura dos citrus. São Paulo. Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia, Área de Concentração: Fitopatologia à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Spósito, M. B.; Aguilar-Vildoso, C. I.; Moraes, M. R. y Feichtenberger, E. 2000. Época de aplicação de fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa* Kiely) em laranjeira “Pera”. Summa Phytopathologica. 26(1): 119.

Spósito, M. B.; Amorim, L.; Belasque, J.; Bassanezi, R. B. y Aquino, R. 2004. 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., Bassanezi, R.B., BergaminFilho, 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.

Statistic, 2003. Data analysis software system, Version 6.1. StatSoft, Inc. www.statsoft.

Sutton, B. C. y Waterston, J. M. 1966. *Guignardia citricarpa* Kiely, Kew: C.M.I., (Descriptions of Pathogenic fungi and bacteria. CAB International, Wallingford (GB). 85 p.

Taylor, L. R. 1961. Aggregation, variance and the mean. Nature. 189: 732-735.

Timmer, L. W. 2004. Evaluating the risks of introduction of citrus black spot into the U.S. En: 2004 Annual Report. Visalia, CA, Estados Unidos, California Citrus Research Board. p. 36-38

Timmer, L. W.; Garnsey, S. M. y Broadbent, P. 2003. Diseases of citrus. En: Ploetz, R.C. (Ed.) Timmosi, A. J. 2000. Influência de fatores físicos no desenvolvimento do teleomorfo de *Guignardia citricarpa* Kiely, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. Jaboticabal. Trabalho Graduação. Universidade Estadual Paulista. 163 p.

Van der Aa, H. A. 1973. Studies in *Phyllosticta* I. Studies in Mycology. 5: 1-110.

Vanderplank, J. E. 1963. Plant diseases: epidemics and control. New York. Academic Press. 349 p.

Verhulst, P. F. 1938. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. Corr. Math. Phys. 10: 113-121.

Wickert, E.; Goes, A.; Lemos, E. G. M.; Souza, A.; Silveira, E. L.; Pereira, F. D. y Rinaldo, D. 2009. Relacoes filogeneticas e diversidade de isolados de *Guignardia* spp. oriundos de diferentes hospedeiros nas regioes ITS1-5,8S-ITS2. Brasileira de Fruticultura 31: 360-380.

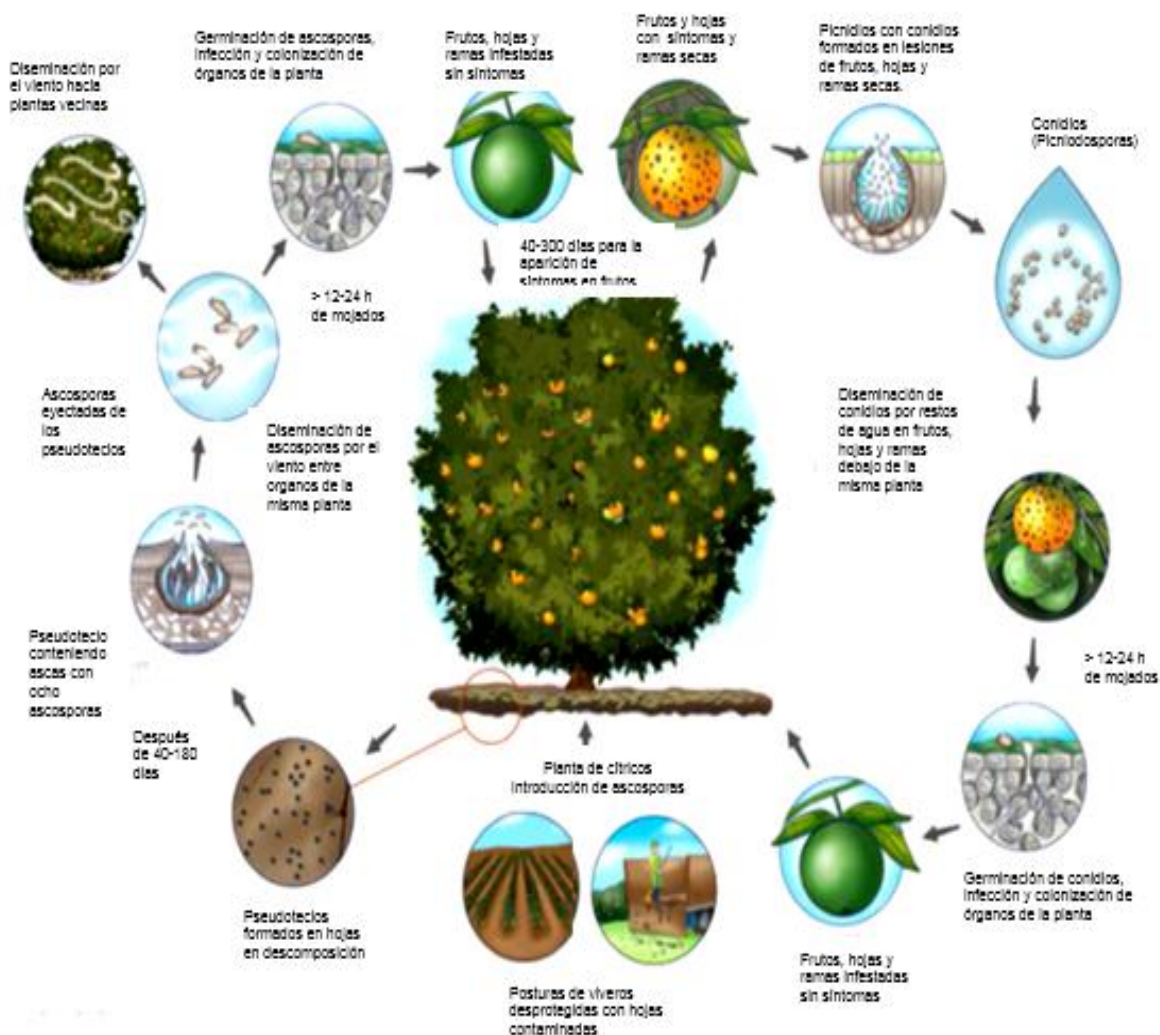
8. ANEXOS

Anexo 1. Tipos de manchas con síntomas asociados a *Guignardia citricarpa* Kiely.



Según Feichtenberger (1996).

Anexo 2. Ciclo biológico de la Mancha negra de los Cítricos.



Según Da Silva *et al.* (2016).