The background of the cover is a close-up photograph of citrus leaves and flowers. The leaves are green and have a prominent vein structure. The flowers are white with yellow centers. The overall lighting is bright, highlighting the textures of the leaves and petals.

**Universidad de Matanzas
"Sede Camilo Cienfuegos"**

Facultad de de Ciencias Agropecuarias

**SINTOMATOLOGIA DE LA MANCHA NEGRA DE LOS FRUTOS
CÍTRICOS (*Guignardia citricarpa* Kiely) Y ESTRATEGIA
DE CONTROL EN JAGÜEY GRANDE.**

Autor: Ulises Ramírez Díaz

**Tutores: Dr.C. Miguel Aranguren González
Dr.C. Ramón Liriano González**

**Trabajo de Diploma presentado en opción al
Título de Ingeniero Agrónomo**

**Matanzas
2016**

UNIVERSIDAD DE MATANZAS
"SEDE CAMILO CIENFUEGOS"



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TRABAJO DE DIPLOMA

Título: SINTOMATOLOGIA DE LA MANCHA NEGRA DE LOS FRUTOS CÍTRICOS (*Guignardia citricarpa* Kiely) Y ESTRATEGIA DE CONTROL EN JAGÜEY GRANDE.

Autor: Ulises Ramírez Díaz

Tutores: Dr. C. Miguel Aranguren González
Dr C. Ramón Liriano González

Matanzas

2016

NOTA DE ACEPTACION

Presidente del Tribunal

Tribunal

Tribunal

Tribunal

Evaluación

DECLARACION DE AUTORIDAD

Declaro que yo, *Ulises Ramírez Díaz* soy autor de este Trabajo de Diploma por lo que autorizo a la Unidad Científico Tecnológica de Base Jagüey Grande del Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, la Empresa Agroindustrial “Victoria de Girón” de Jagüey Grande y la Facultad de Agronomía de la Universidad de Matanzas, a hacer uso del mismo con la finalidad que se estime conveniente.

Firma: _____

DEDICATORIA

A mi familia por su apoyo

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores Dr. C. Miguel Aranguren González y Dr. C. Ramón Liriano González por sus valiosas orientaciones y su ocupación constante por lograr un trabajo de diploma de calidad.

A los MSc. Roberto Casamayor Barrios de la CUM municipal y Eugenio Alonso Oliva de la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón de Jagüey Grande, por su apoyo en la redacción del documento, diseño del experimento y evaluaciones.

A todos los compañeros que me apoyaron en mis estudios y en la confección de este trabajo de diploma.

A todos los profesores por sus enseñanzas.

A todos muchas gracias

OPINION DEL TUTOR

La temática abordada en el trabajo de Diploma en opción al Título de Ingeniero Agrónomo titulado: SINTOMATOLOGIA DE LA MANCHA NEGRA DE LOS FRUTOS CÍTRICOS (*Guignardia citricarpa* Kiely) Y ESTRATEGIA DE CONTROL EN JAGÜEY GRANDE, presentado por el alumno Ulises Ramírez Díaz, es básico para el desarrollo de las estrategias de manejo de esta enfermedad fungosa de los cítricos que causa la caída de frutos, reducción de la producción y limita la comercialización por las medidas de cuarentena establecidas por los países receptores de frutas cítricas en el mercado.

La implementación de estrategias de manejo de la enfermedad incluye el empleo de fungicidas como una alternativa viable para reducir sus efectos y lograr el aumento de la producción. En este trabajo se exponen resultados importantes sobre la influencia positiva de las aplicaciones de diferentes fungicidas, número de aplicaciones y momentos, sobre la producción y la calidad de los frutos en plantas de naranjo Valencia.

Durante el desarrollo del trabajo el estudiante participó en conjunto con el grupo de investigación de nuestra institución y de la empresa Agroindustrial Victoria de Girón, en evaluaciones, procesamiento y análisis de datos; mostró gran preocupación, entusiasmo y dedicación para lograr los resultados obtenidos y cumplir con los objetivos propuestos. Con este trabajo se crean las bases para la recomendación de una estrategia de manejo y control de la mancha negra de los cítricos en plantaciones de naranjo Valencia de Jagüey Grande.

Por todo lo planteado considero que el estudiante Ulises Ramírez Díaz, ha alcanzado las habilidades esperadas y cumple con los requisitos exigidos para que se le otorgue el título de Ingeniero Agrónomo.

Tutores: _____

Dr. C. Miguel Aranguren González

Dr. C. Ramón Liriano González

RESUMEN

La presencia de la mancha negra de los cítricos en la Empresa de Cítricos “Victoria de Girón” de Jagüey Grande, obstaculiza el comercio y limita la producción, por lo que se hace necesario establecer una adecuada estrategia de manejo de la enfermedad. En muestreos a las plantaciones de naranjo ‘Valencia’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], se caracterizaron los tipos de síntomas causados por *Guignardia citricarpa* Kiely, causante de la mancha negra de los cítricos, se evaluaron ocho variantes de tratamiento con fungicidas y un testigo sin aplicación. Se determinó la incidencia por tipo de síntomas. Se precisó que la variante de control más efectiva resultó aquella donde se realizaron cuatro tratamientos; Cuproflow SC 37.75; Mancozeb PH 80; Mancozeb PH 80; Benomyl PH 50, cada 30 días entre aplicación, a partir de la caída del 75% de los pétalos. Se evaluaron los resultados obtenidos con el programa establecido para el control de la mancha negra de los cítricos y se estableció una estrategia de manejo de la enfermedad.

Palabras clave: Mancha negra de los cítricos, tratamientos, incidencia, severidad.

INDICE	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Generalidades sobre la mancha negra de los cítricos (MNC).....	5
2.2. Epidemiología de la mancha negra de los cítricos.....	10
2.3. Incidencia de las variables climáticas en el desarrollo de la enfermedad	14
2.4. Métodos de manejo de la enfermedad	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. Localización de la investigación y manejo de las plantaciones.....	22
3.1.1. Ubicación de la investigación	22
3.1.2. Manejo agronómico general de las plantaciones.....	22
3.2. Identificación de síntomas de MNC e incidencia en Jagüey Grande	23
3.2.1. Tipos de síntomas de la MNC en naranjo ‘Valencia’	23
3.2.2. Incidencia de la MNC por tipos de síntomas	23
3.3. Incidencia de la MNC según fecha de cosecha y tratamientos fitosanitarios.....	24
3.3.1. Incidencia de la MNC según las fechas de cosecha.....	24
3.3.2. Incidencia y severidad de la MNC según los tratamientos de control	25
3.4. Valoración económica de la estrategia de control con fungicidas.....	28
3.5. Análisis y programa estadístico empleado	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1. Identificación de síntomas de MNC e incidencia en Jagüey Grande	29
4.1.1. Tipos de síntomas de la MNC en naranjo ‘Valencia’	29
4.1.2. Incidencia de la MNC por tipos de síntomas	32
4.2. Incidencia de la MNC según fecha de cosecha y tratamientos fitosanitarios.....	36
4.2.1. Incidencia de la MNC según las fechas de cosecha.....	36
4.2.2. Incidencia y severidad de la MNC según los tratamientos de control	39
4.3. Valoración económica de la estrategia de control con fungicidas.....	45
5. CONCLUSIONES	48
6. RECOMENDACIONES	49
7. BIBLIOGRAFÍA	50
8. ANEXOS	60

1. INTRODUCCIÓN

Conocidos con diferentes nombres según el país donde se cultivan, los cítricos pertenecen a los géneros *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunella*. Según datos históricos el cultivo se practicaba en China y la India 2400 años a.n.e. La manzana China nombre que se le dio a la naranja hacia finales del siglo XVIII, fue traída a Europa por Alejandro Magno en sus incursiones por Asia (RIAC, 2007).

En cuanto a su llegada a América, varias fuentes coinciden en que lo hicieron vía Islas Canarias, con el segundo viaje de Colón en 1493. Tras su plantación en La Española, se supone que colonizadores e indios los hayan introducido en Cuba por la parte más oriental de la isla, donde aún existen formas silvestres de los mismos (Casamayor, 1990).

La llegada de los cítricos a Jagüey Grande se ubica en la segunda mitad del siglo XIX, estableciéndose inicialmente en pequeñas plantaciones con una tecnología muy rudimentaria. En 1959, ya existían alrededor de 631 ha de cítricos en manos de propietarios privados que producían cerca de 7000 t de frutas (Gromás y Mederos, 2007).

La Empresa Agroindustrial "Victoria de Girón" fue fundada el 14 de junio de 1967 como parte del programa nacional de desarrollo citrícola emprendido por el gobierno revolucionario. El fomento de nuevas plantaciones multiplicó rápidamente la producción y tan temprano como en 1969 se inicia la exportación de importantes volúmenes de frutas (Gromás y Mederos, 2007).

La experiencia acumulada y el aprovisionamiento técnico y científico adquirido van transformando la tecnología agrícola por la del manejo integral del cultivo, constituyendo un marco importante para ello, la estrategia de la reposición de las plantaciones para lograr árboles de mayor calidad genética, producción más temprana, que rinden el doble de los existentes. Las siembras hoy se realizan con marcos más estrechos (Gromás y Mederos, 2007).

La campaña 2000–2001 significó para la agroindustria cítrica de Jagüey Grande una campaña histórica desde el punto de vista productivo al cosecharse medio millón de toneladas de frutas (toronjas y naranjas) de las cuales la industria procesó más de 420 000 TM (Mederos y Abreu, 2007).

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).

Como ejemplo de nuevas enfermedades de los cítricos que obstaculizan el comercio y limitan la producción se señalan: Huanglongbing, Clorosis variegada de los cítricos, Leprosis de los cítricos, Mancha negra de los cítricos y Cancro de los cítricos (FAO 2003).

Durante la Reunión General de Coordinadores de la Red Interamericana de Cítricos (RIAC), celebrada en La Habana, Cuba, del 4 al 6 de 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 mancha negra de los cítricos (*MNC*) afectó a los frutos de naranjo Valencia [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] , en áreas de la Empresa "Victoria de Girón". La presencia del patógeno se confirmó por muestreos y análisis de laboratorio realizados por los laboratorios estatales de sanidad vegetal.

La mancha negra de los cítricos provoca manchas oscuras en la corteza de los frutos que reducen su valor comercial y los hace inviabil para su exportación como fruto fresco, hacia países donde no esté presente la enfermedad. Se señala que la mancha negra de los cítricos, causada por *Guignardia citricarpa*, es una enfermedad cuarentenaria que afecta la exportación de fruta fresca principalmente a países de la Comunidad Económica Europea (Rivadeneira *et al.*, 2016 b).

Esta enfermedad provoca también la caída prematura de los frutos antes que estos completen su maduración, causando elevadas pérdidas en la productividad de las plantas, de ahí que se encuentre entre las enfermedades más importantes del cultivo de los cítricos (Kotzé, 1981; Timmer *et al.*, 2000).

En el contexto de la ampliación del comercio mundial de cítricos, se implementaron sistemas que entrañan reglamentaciones y la aplicación de medidas fitosanitarias de manera transparente y abierta como la mejor forma de afrontar las cuestiones relacionadas con esta enfermedad. El país exportador ha de adquirir el compromiso permanente de proteger el lugar que ocupa su industria de los cítricos en el mercado mundial. El país importador debe utilizar sus recursos para aplicar medidas de exclusión siempre que sea posible (FAO, 2003).

Con la presencia creciente en el territorio de la mancha negra de los cítricos, la empresa se propone establecer mejores las estrategias de manejo de la enfermedad de modo que se reduzcan las pérdidas y daños causados por este patógeno en las condiciones de Jagüey Grande.

Problema

La presencia creciente de la mancha negra de los cítricos, en las plantaciones de naranjo 'Valencia' [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] en la Empresa Agroindustrial "Victoria de Girón" en Jagüey Grande, constituye una nueva problemática a resolver. Es necesario ante esta situación profundizar en el conocimiento de la enfermedad y definir ¿Cómo influyen diferentes programas de manejo en el control de la mancha negra de los frutos cítricos en Jagüey Grande?

Hipótesis:

A partir de la caracterización de los síntomas y la evaluación de diferentes variantes de cosecha y aplicación de fungicidas, se puede establecer una adecuada estrategia de manejo y control de la mancha negra en las condiciones de Jagüey Grande.

Objetivo general

Caracterizar los síntomas y establecer una estrategia de manejo de la mancha negra de los cítricos en plantaciones de naranjo 'Valencia' de Jagüey Grande.

Objetivos específicos

- Caracterizar los síntomas de la mancha negra de los cítricos causados por *Guignardia citricarpa* Kiely sobre frutos de naranjo 'Valencia' en Jagüey Grande.
- Evaluar la influencia de las fechas de cosecha en la incidencia de la mancha negra de los cítricos para las condiciones de Jagüey Grande.
- Definir los tratamientos fitosanitarios más adecuados para el control en campo de los daños de la mancha negra de los cítricos.
- Realizar una valoración económica de los mejores tratamientos de control de la mancha negra de los cítricos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades sobre la mancha negra de los cítricos (MNC)

2.1.1. Ocurrencia e importancia de la enfermedad

La mancha negra o 'citrus black spot' es la principal enfermedad fúngica de los cítricos a nivel mundial. La mayoría de las especies de cítricos cultivadas son sensibles a la enfermedad, siendo los limones y las naranjas tardías especialmente susceptibles. La mancha negra está ampliamente distribuida en los países citrícolas de Sudamérica, como Brasil, Argentina y Uruguay así como en Australia, China y en diferentes regiones del continente africano como Sudáfrica, Ghana y Uganda entre otras. La enfermedad se detectó en el año 2010 en Florida (EE UU), siendo ésta la primera cita en Norteamérica (Vicent y García-Jiménez, 2014).

La mancha negra de los cítricos fue descrita por primera vez en 1895, causando pérdidas considerables en frutos de naranjo 'Valencia', tanto en fase de pre, como en post-cosecha en Australia (Sutton y Waterston, 1966). En 1925 fue observada en África del Sur (Doige, 1929), donde rápidamente se tornó el principal problema fitosanitario de la citricultura en ese país (Schutte *et al.*, 1997).

En la actualidad, esa enfermedad se encuentra en varios países de África (Mozambique, Zimbabwe, África del Sur), 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).

La mancha negra de los cítricos (MNC) provoca manchas oscuras en la corteza de los frutos que reducen el valor comercial de los mismos, por no ser viable para su exportación como fruto fresco, hacia países donde no esté presente la enfermedad, principalmente países de la Comunidad Económica Europea. Provoca también la caída prematura de los frutos antes que estos completen su maduración, causando elevadas pérdidas en la productividad de las plantas, de ahí que se encuentre entre

las enfermedades más importantes del cultivo de los cítricos (Kotzé, 1981; Timmer et al., 2000).

Con excepción del naranjo 'Agrio' [*Citrus aurantium* (L.)] y sus híbridos, prácticamente todas las variedades de naranjos dulces, especialmente los de maduración tardía son susceptibles a la enfermedad (Feichtenberger, 1996).

Según Aguilar-Vildoso et al (2002), los daños cualitativos en Brasil han conllevado a grandes pérdidas por la depreciación de los frutos en el mercado interno y por reducir las exportaciones hacia países donde la enfermedad es considerada como cuarentenada de tipo A1. Según Fagan y Goes (2000), la MNC no modifica la calidad del fruto, pudiendo éstos ser utilizados en la producción de jugo concentrado (Timmer et al., 2000).

Esta enfermedad disminuye el valor comercial de la fruta porque afecta la calidad externa por los distintos tipos de síntomas (manchas de diferente forma y tamaño) que provoca y que pueden desarrollarse incluso después de la cosecha. También provoca pérdidas económicas al producir caída prematura de la fruta afectada cuando el nivel de infección es alto. El mayor daño es debido a su carácter de enfermedad cuarentenada (Canteros, 2009).

En Sudáfrica se han notificado pérdidas de hasta el 80% de la producción (Kotzé, 1981). En Brasil, el costo de producción de cítricos ha aumentado considerablemente, al encarecerse por el uso de productos sistémicos y protectores, que es de 0.16 USD/caja, de modo que si se hiciera el control de la enfermedad en todas las áreas dañadas tendrían que disponer de 26 millones de dólares (Agriannual, 2001).

2.1.2. Sintomatología

El patógeno *Guignardia citricarpa* Kiely es específico de cítricos (Baayen et al., 2002), causa lesiones en ramas, hojas y frutos. Sin embargo, los síntomas solamente son visibles en los naranjos dulces y problemáticos en los frutos (McOnie, 1967 y

Cardoso Filho, 2003), depreciándolos para la comercialización en el mercado de fruto fresco, reduciendo las exportaciones.

Tres tipos de esporas del hongo ya fueron observados y correlacionados con su ciclo vital; una espora sexual o teleomorfa (*G. citricarpa*), caracterizada por la producción de pseudotecios y uno asexual en el cual se diferencian dos tipos de fructificaciones y esporas, picnidios que producen picnidiosporas (*Phyllosticta citricarpa*) y los espermogonios que producen espermacios (*Leptodotiorella citricarpa*) (Kotze, 1964).

El estado teleomorfo del agente causal de la mancha negra es conocido como *Guignardia citricarpa*, y fue descrito por (Kiely, 1948). 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).

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 (Sutton y Waterston, 1966; Alexopoulos, 1979). Posteriormente, en 1973, fue reclasificado, como *Phyllosticta citricarpa* Van der Aa (Van der Aa, 1973). Actualmente, ambas designaciones han sido usadas (Garrán, 1996; Goes *et al.*, 1990; Kotze, 1981; Kotze, 1989; Rodríguez y Mazza, 1996; Schutte *et al.*, 1997).

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. En éstos, 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).

La mancha negra es una enfermedad casi exclusivamente de los frutos (Kotzé, 1981). Son descritos cuatro tipos de síntomas designados como la mancha negra o dura, falsa melanosis, mancha pecosa y mancha virulenta (Herbert, 1989).

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”): son 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).

Mancha en forma de red son lesiones superficiales que afectan grandes áreas de los frutos cuando estos aún están verdes. Estas lesiones no presentan cuerpos de fructificación.

Esta enfermedad además de afectar la apariencia de los frutos, ocasiona grandes perjuicios, al provocar la caída prematura de los mismos que, cuando las condiciones son favorables, puede llegar a ser de 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 o de infecciones ocurridas en el pedúnculo de los mismos (Kotzé, 1981).

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.

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. Epidemiología de la mancha negra de los cítricos

2.2.1. Fases epidemiológicas

La mancha negra de los cítricos 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 las picnidiosporas de *P. citricarpa*, conocida como ciclo secundario de la enfermedad. Así tenemos que *G. citricarpa* es responsable de la introducción del patógeno en nuevas áreas y *P. citricarpa* del incremento de la enfermedad en la planta o a su alrededor (Kiely, 1948; Goes *et al.*, 2000; Feichtenberger y Spósito, 2003).

El ciclo primario, ocurre en las hojas infestadas en descomposición sobre la superficie del suelo, por lo que constituyen la fuente primaria de inóculo. Las ascosporas del hongo son producidas en estas hojas cuando hay alternancias de períodos lluviosos con períodos secos. Estas esporas son producidas en el interior de las ascas formadas dentro de los cuerpos de fructificación (pseudotecios) del hongo (Kotzé, 1996).

Las esporas sexuales presentan relativa resistencia a la desecación y elevada infectividad. Ellas son expulsadas de manera forzada de las ascas, pudiendo ser transportadas por las corrientes de aire a grandes distancias. También se pueden dispersar por las salpicaduras de agua a cortas distancias. La capa gelatinosa de las extremidades de las ascosporas permite su fijación a la superficie de los órganos susceptibles de la planta (Kiely, 1948; Kotzé, 1996).

Nunca se ha observado la producción de ascosporas del hongo en material vegetal vivo. Estas esporas sexuales solamente son formadas en los tejidos en descomposición. Las lesiones originadas de infecciones por ascosporas en frutos, ramas y hojas, permiten la formación de los cuerpos de fructificación de la fase asexual del hongo, las picnidiosporas, considerado como el inicio del ciclo secundario de la enfermedad (Kotzé, 1996).

Las picnidiosporas se ubican en las lesiones de las hojas, ramas y frutos, dan lugar a los picnidios, dentro de los cuales se forman las esporas asexuales para cumplimentar el ciclo secundario de este patógeno. Los picnidiosporas son diseminadas por el agua a cortas distancias, los cuales emergen a través del ostiolo del picnidio envueltos en una masa mucilaginosa. El agua solubiliza esta sustancia mucilaginosa y carga las conidias en suspensión hasta la superficie de los órganos susceptibles próximos, donde nuevas infecciones pueden ocurrir (Feichtenberger, 1996).

Los picnidios y las picnidiosporas también pueden ser formados en hojas en descomposición en el suelo. Por salpicaduras de agua, las picnidiosporas pueden ser dispersadas a cortas distancia, hasta la superficie de órganos susceptibles de la parte inferior de la copa de las plantas, para provocar nuevas infecciones (Feichtenberger, 1996).

Las picnidiosporas son importantes en la epidemiología de la mancha negra de los cítricos, cuando en la misma planta coexisten frutos infestados produciendo estas esporas y frutos jóvenes susceptibles, de hasta 5 ó 6 meses de edad, que pueden entonces ser infestados (Kotzé, 1981). La infección de nuevas hojas, por esporas o por picnidiosporas, hace que el ciclo de la enfermedad se cierre. La caída de las hojas infestadas sintomáticas o no, y su descomposición conlleva la producción de nuevas esporas sexuales (ascosporas) del hongo, iniciando así un nuevo ciclo primario de la enfermedad.

La literatura internacional, especialmente aquella oriunda de Australia y de África del Sur, atribuye a las ascosporas de *G. citricarpa* la responsabilidad exclusiva de las

epidemias (Kotzé, 1989; McOnie, 1967; McOcnie, 1964; Schutte et al., 1997). A las picnidiosporas de la fase asexual (*P. citricarpa*) no se le atribuye importancia epidemiológica significativa, como afirmaron estos autores.

La visión de los sudafricanos y los australianos sobre la enfermedad es que esta especie de hongo es monocíclica, es decir que lo que ocurre, a penas, es el ciclo primario (infección a partir de ascosporas) y desprecian el posible papel del ciclo secundario (diversos ciclos asexuales recurrentes) en el desarrollo de la epidemia.

Ese comportamiento epidemiológico propuesto para la mancha negra está justificado en esos países por tres características que prevalecen en aquellas condiciones:

- Floración y fructificación uniformes (típicos de plantaciones irrigadas), que permite la cosecha de una determinada zafra, antes que el florecimiento y la fructificación de la zafra siguiente se hayan iniciado (Kotze, 1981).
- Descarga de ascosporas concentrada totalmente durante la fase fenológica susceptible del hospedante, es decir, la formación de los frutos (McOnie, 1967).
- Clima subtropical donde se cultivan los cítricos con condiciones agroclimáticas desfavorables para el desarrollo de infecciones durante determinados períodos del año. La primera característica contribuye en la disminución del potencial epidémico de la enfermedad y la segunda contribuye al aumento.

No obstante, estudios realizados en Brasil han demostrado que este comportamiento epidemiológico puede ser diferente. Feichtenberger (1996) planteó que, particularmente, en el estado de Sao Paulo, dada la ocurrencia de varias floraciones y la coexistencia simultánea de frutos de diferentes tamaños y edades, asociados a lluvias frecuentes en los períodos de susceptibilidad de los frutos hace que ambas fuentes de inóculo contribuyan al incremento de la enfermedad.

Entonces la importancia relativa entre un tipo de espora u otro estará dada en gran medida por el tipo de clima predominante en la región donde se encuentre. En lugares de clima tropical y tratándose de plantas perennes, Bergamin y Amorim, (1995) describen el ciclo infeccioso de la MNC con una vía sexual y la otra asexual,

completamente aditivas, es decir, que ambos tipos de esporas desempeñan papeles igualmente importantes pero con diferentes funciones en la epidemiología de la enfermedad.

2.2.2. Fases fenológicas del cultivo susceptibles al patógeno

Otro de los aspectos importantes a tener en cuenta dentro de la epidemiología de cualquier enfermedad es el período de susceptibilidad 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 simples evaluaciones de la expresión de la enfermedad. Las investigaciones en este sentido, sin duda, 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 y tiene poca relación con el momento de infección y apuntan que la mancha negra de los cítricos es un ejemplo típico de este tipo de enfermedad.

El período de susceptibilidad se corresponde con 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 (Dos Reis, 2002).

Bergamin 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 invade y las condiciones ambientales existentes lo cual puede demorar hasta 10 ó 12 meses después de la caída de los pétalos (Kiely, 1948; McOnie, 1967 y Kotzé, 1981).

Dos Reis (2002) 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. Incidencia de las variables climáticas en el desarrollo de la enfermedad

Una de las enfermedades influida 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 (Timmosi, 2000; Noronha, 2002; Mendez *et al.*, 2005).

Se conoce que la producción de las ascosporas está estrechamente relacionada con las alternancias entre períodos de humedad y sequía (Kotzé, 1964). Los mecanismos en el proceso de formación de las infecciones no son del todo conocidos, pero hay evidencias de 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 *et al.*, 1997; Feichtenberger y Spósito, 2003).

Timmer *et al* (2000) 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.

La relación entre la intensidad de la enfermedad y la reducción de la producción es conocida como función de daño. Ensayos que contengan parcelas con plantas sanas y parcelas con plantas exhibiendo diferentes niveles de la enfermedad son, generalmente, empleados para el establecimiento de la función del daño, al obtener un conjunto de variables independientes (nivel de la enfermedad) que pueda estar

relacionados con un conjunto de variables dependientes (nivel de daño). Los experimentos de este tipo exigen la integración de diferentes conocimientos, entre los cuales son indispensables la cuantificación de la enfermedad, la determinación del estado de desarrollo del hospedante y la estimación de la curva de progreso de la enfermedad. La cuantificación de la producción es tan importante en este tipo de análisis como la cuantificación de la enfermedad (Bergamin, 1995).

Desde el punto de vista epidemiológico, la incidencia expresa un porcentaje y puede ser utilizada en la elaboración de las curvas de progreso de la enfermedad. Cuando la epidemia está en su fase inicial, la incidencia es un parámetro satisfactorio para evaluar la mayoría de las enfermedades. (Bergamin y Amorin, 1996). Puede ser correlacionada con la severidad (Amorin, 1995).

Desde el punto de vista de evaluación de daños, la utilización del parámetro incidencia puede ser usada para enfermedades que afectan a toda la planta, o para aquellas, en que una única infección, es suficiente para impedir la comercialización del producto (Amorin, 1995).

Cuando la mayoría de las plantas presentan síntomas (incidencia elevada) prácticamente no habrá más crecimiento espacial. A partir de ahí, la evolución de la enfermedad en función del tiempo, depende exclusivamente del aumento de la severidad (Amorin, 1995).

2.4. Métodos de manejo de la enfermedad

Según Kimati y Bergamin (1996) los principios de Whetzel desarrollados en el control de la mancha negra son:

- Exclusión, que consiste en evitar la introducción del patógeno en áreas donde no está la enfermedad.
- Erradicación, a partir de la reducción de la población del patógeno a niveles aceptables de la enfermedad.

- Terapia, mediante la reducción de la población del patógeno con aplicaciones de productos químicos curativos y con tratos culturales como poda y manejo de plantas indeseables.
- Protección, mediante el uso de fungicidas protectores.
- Regulación, por modificaciones en las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

Spósito (2003) señala que de estos principios pocos ejecutables, la exclusión tiene como problema que las hojas de naranjo dulce son asintomáticas y porque se carece de una metodología confiable para el muestreo de los viveros. Para reducir la posibilidad de introducción, el productor debe adquirir posturas de regiones donde la enfermedad aún no está presente. La determinación de la época de la cosecha está determinada por contratos comerciales establecidos entre las industrias de jugos de naranja y los productores.

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

Batista *et al* (2001), citando a Hughes y Gottwald (1998), expresó que los esquemas de muestreo deben ser prácticos en cuanto a los requerimientos de tiempo, fuerza de trabajo y costo. Este autor citando a Gottwald (1995) y Hughes y Gottwald (1998), recomienda diferentes tipos de muestreos como el regular, sistemático y jerárquico, para determinar la incidencia de plantas enfermas.

Fundecitrus (1998; 2003; 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.

Fundecitrus (2005) plantea que las principales medidas preventivas de control de la enfermedad de la MNC son:

- Plantar posturas libres del hongo agente causal. Las posturas infestadas, así sean asintomáticas o con infecciones quiescentes, pueden diseminar el patógeno a cortas distancias. Con las yemas también se puede diseminar el hongo. Es necesario utilizar en la producción de las posturas injertadas, yemas sanas provenientes de áreas libres de la enfermedad.
- 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. 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. 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.

Las principales medidas de manejo en áreas donde la MNC ya está presente según Feichtenberger y Sposito (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.
- Eliminación de las plantas depauperadas por otras enfermedades y plagas, o por causas abióticas.

- Irrigación controlada de las plantas, principalmente durante los períodos de prolongada sequía para evitar la caída excesiva de hojas, reduciéndose así la producción de ascosporas del hongo en hojas infestadas en descomposición en la superficie del suelo.
- Control de malezas en las plantaciones con herbicidas post-emergentes o con chapeadoras, antes del período de florecimiento de las plantas, para permitir la formación de cobertura muerta (“mulching”) sobre las hojas en descomposición en el suelo, reduciéndose así la fuente de inóculo de la fase sexual del hongo.
- Control químico para garantizar la protección del fruto durante su período susceptible (entre 5 y 6 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.

Canteros (2009) plantea como medida de manejo en los lotes afectados cosechar más temprano para evitar la aparición de síntomas y la caída de frutas.

Los fungicidas a utilizar en los tratamientos para el control de la mancha negra (Goes *et al.*, 1990; Aguilar-Vildoso *et al.*, 1999; Feichtenberger *et al.*, 2000; Goes, 2002), la época de aplicación (Spósito *et al.*, 2000; Dos Reis *et al.*, 2006) y el intervalo entre las aplicaciones (Feichtenberger y Spósito, 2003) ya están bien definidos para las condiciones de Brasil. 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.

Estimados confiables de los perjuicios causados por las enfermedades constituye un prerrequisito importante para el desarrollo de cualquier programa exitoso de control,

independientemente del método que se utilice: químico, variedades resistentes, prácticas culturales, organismos antagonistas o control integrado. Cuantificar el daño que una enfermedad puede causar, así como el costo de su control, es esencial para la adopción de métodos de manejo efectivos (Bergamin, 1995).

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. En lo referente al control químico, 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.

Se plantea que 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. Los fungicidas recomendados para el control de la enfermedad (Fundecitrus, 2005):

- 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%.

Según la Lista del Registro Central de Plaguicidas (2007), el producto comercial Argenfrut RV CE 86, tiene como ingrediente activo Aceite Mineral Emulsionable y el tipo químico es una mezcla de hidrocarburos. El producto comercial Cuproflow SC 37,75, tiene como ingrediente activo Oxiclورو de Cobre y el tipo químico es compuesto inorgánico. El producto comercial Mancozeb PH 80, tiene como ingrediente activo Mancozeb y el tipo químico es ditiocarbamato. El producto comercial Benomyl PH 50, tiene como ingrediente activo Benomilo y el tipo químico es bencimidazol. El producto comercial Supreme EW 40, tiene como ingredientes activos Tebuconazol + Procloraz y el tipo químico es triazol + imidazol.

En un compendio de la firma Bayer (2010), se plantea que la manera más efectiva para reducir el desarrollo de síntomas post-cosecha, 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 con antecedentes probados de niveles altos de la enfermedad en años anteriores, aplicando el 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 se alcanzó con dos tratamientos de Benlate 500 más Manzate 800 (50 g. de producto comercial de Benlate 500+100g. producto comercial de Manzate 800 por 100 L. de agua) aplicados a los 60 días entre el primer y segundo tratamiento, con un 78,2% de frutas exportables. En el testigo sin aplicación se obtuvo 0,5% de frutos comercializables (Goes, 1998).

En tratamientos realizados por Goes (1998) en naranjo con antecedentes probados de niveles altos de la enfermedad en años anteriores 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, con dos aplicaciones 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, empleando tratamiento 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) realizando cuatro aplicaciones logró un 59% de daños en frutos. Con Oxiclورو de

Cobre, a dosis de 200 g. por 100 L. de agua más 500 ml. de Aceite mineral en 100 L. de agua y cuatro aplicaciones logró un 58% de incidencia.

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. Recomienda el uso de aceite emulsionable en los lotes destinados a la extracción de jugos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización de la investigación y manejo de las plantaciones

3.1.1. Ubicación de la investigación

El estudio se desarrolló en la Empresa Agroindustrial "Victoria de Girón", localizada en el municipio Jagüey Grande en la provincia de Matanzas, Cuba, que se ubica entre los 22° 50´ de latitud norte y los 81° .12´ de latitud oeste, a una altitud entre los tres y 25 m.s.n.m. El clima de la zona se caracteriza por una temperatura media anual de 24°C con temperaturas inferiores a 14.4 °C y superiores de 33.4 °C. La precipitación media anual es de 1,494.2 mm y una humedad relativa media superior al 80 % (Aranguren, 2009).

Los suelos son del tipo Ferralítico Rojo Típico con rocosidad y profundidad entre mediana y alta, catalogados como Ferralsol Rhodic y Nitisol Rhodic en correlación con el "World Reference Base" (Hernández *et al.*, 2004).

3.1.2. Manejo agronómico general de las plantaciones

Se aplicó la tecnología establecida para el cultivo de los cítricos en la empresa, con atenciones como: control de malezas con herbicidas, riego por aspersión, fertilización foliar con microelementos (ECVG, 2014). En las áreas donde se presentó la mancha negra de los cítricos, se instrumentó un plan de medidas establecido por sanidad vegetal. Donde se realizaron las siguientes actividades:

- Erradicación de plantas no económicas.
- Aplicación de urea al lecho de hojas para acelerar su descomposición.
- Saneamiento poscosecha, recogiendo todas las frutas quedadas en las plantas y en el suelo.
- Brindar a las plantaciones las atenciones agrotécnicas adecuadas para lograr una floración uniforme.
- Desinfección de los medios de chapea y cosecha con formol al 2% cada vez que salgan del área.

- Limpieza de hojas y ramas y su incineración en los centros de beneficio e industria.
- Aplicación de fungicidas para el control de la enfermedad.

Los tratamientos con fungicidas para el control de la mancha negra de los cítricos se realizaron con asperjadoras Teyme, de fabricación española, con los siguientes parámetros de aplicación: Velocidad 3,5 Km x h, Solución final 1370 L x ha, Posición del ventilador segunda, Boquillas rojas 16, Boquillas verdes 12, Presión de trabajo 12 atmósferas.

3.2. Identificación de síntomas de MNC e incidencia en Jagüey Grande

3.2.1. Tipos de síntomas de la MNC en naranja 'Valencia'

A partir de marzo del 2014 se muestrearon campos de naranja 'Valencia' de la Empresa Agroindustrial 'Victoria de Girón' en Jagüey Grande, donde se colectaron muestras de frutos con manchas asociadas a *Guignardia citricarpa* Kiely, estas muestras se enviaron al laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, acreditado por sanidad vegetal y se caracterizaron los síntomas de la MNC según la descripción de Spósito (2003).

3.2.2. Incidencia de la MNC por tipos de síntomas

La incidencia de la MNC por tipos de síntomas en condiciones de campo se evaluó en el lote T-14, campo 42 de la Unidad Empresarial de Base No 1, durante el mes de marzo del año 2014, en el cultivar naranja 'Valencia' de 35 años de edad, plantada a 4m x 8m y con antecedentes de alta incidencia de *Guignardia citricarpa* Kiely, agente causal de la mancha negra de los frutos cítricos. Se evaluaron en el campo tres parcelas sin tratamiento (dos plantas de los dos surcos centrales en cada parcela para un total de cuatro plantas por parcela. Se muestrearon 50 frutas por planta evaluada, para un total de 200 frutas repetición y 600 frutas en total.

Se determinó en los frutos el tipo de síntoma predominante, así como el área afectada, usando la escala diagramática de seis grados (Anexo 1) expuesta por

Spósito *et al.*, (2003). Se determinó el porcentaje de incidencia de síntomas por tratamiento con el empleo de la fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = a/b \times 100.$$

Dónde:

a= Número de frutos con síntomas.

b= Total de frutos observados.

El análisis de los datos se realizó para cada variable crítica de forma independiente y para ello se consideró el grado de afectación como porcentaje de incidencia por tipo de síntoma en las áreas como tratamientos. Los datos se transformaron en \sqrt{x} y la comparación entre tratamientos y porcentaje de incidencia por tipo de síntoma, fue mediante análisis de varianza de clasificación simple para un 95% de confianza.

3.2.3. Incidencia de síntomas de MNC en diferentes unidades productivas

Se evaluaron 18 campos de naranjo 'Valencia', tres campos por cada Unidad Empresarial de Base Citrícola de la Empresa. Estos campos fueron evaluados planta a planta en enero-febrero del 2015, anotando las plantas con frutos afectados por la mancha negra por unidad y total de la empresa. Se determinó el porcentaje de incidencia con la fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = a/b \times 100.$$

Dónde:

a= Número de plantas con frutos con síntomas.

b= Total de plantas observadas.

3.3. Incidencia de la MNC según fecha de cosecha y tratamientos fitosanitarios

3.3.1. Incidencia de la MNC según las fechas de cosecha

La relación de la fecha de cosecha con la incidencia de la MNC se evaluó en plantaciones de naranjo 'Valencia' [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] de más de 25 años de edad, con incidencia probada de afectaciones de la enfermedad, como parte del

programa de manejo para el control de la mancha negra. Se evaluaron ocho campos, cuatro de ellos cosechados antes de la caída del 75% de los pétalos, pertenecientes a la Unidad Empresarial de Base No 5 y cuatro campos cosechados después de la caída del 75% de los pétalos pertenecientes a la Unidad Empresarial de Base No 4.

De los historiales de plantación, se tomaron los datos relativos a la fecha de cosecha del año anterior, la fecha de floración del año en curso y la incidencia estimada por la granja (anexo 2), así como los tratamientos fitosanitarios realizados en cada plantación para el control de la mancha negra de los cítricos (anexos 3). Los nombres comerciales e ingrediente activo de los productos aparecen en el anexo 4.

El número de frutos total con síntomas de MNC fue evaluado planta a planta en los diferentes campos entre enero y febrero de los años 2014 y 2015. Se determinó el porcentaje de incidencia por tratamiento con la fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = a/b \times 100.$$

Dónde:

a= Número de plantas con frutos con síntomas.

b= Total de plantas observadas.

El análisis de los datos de incidencia de la MNC se realizó teniendo en cuenta dos momentos de cosecha y los dos años evaluados. Se realizó por un análisis bifactorial con la base de datos obtenida de los ocho campos. Los datos se transformaron en \sqrt{x} y la comparación entre los porcentajes de incidencia por fechas de cosecha y años, fue mediante análisis de varianza bifactorial para un 95% de confianza. Se determinó la interacción años (factor1) y fecha de cosecha (factor 2).

3.3.2. Incidencia y severidad de la MNC según los tratamientos de control

En áreas de la Unidad Empresarial de Base No 1, en el lote T-14, campo 42, cultivar naranjo 'Valencia' [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] de 35 años de edad, marco de plantación 4m x 8m y con antecedentes comprobados de alta incidencia de la mancha negra de los frutos cítricos (*Guignardia citricarpa* Kiely). Se realizaron

durante el año 2014 tratamientos con fungicidas, distribuidos en un bloque al azar, con nueve variantes (Tabla 1) de productos, número de aplicaciones y momentos de aplicación, que fueron replicados en tres parcelas con un total de cuatro plantas por parcela en cada tratamiento. Las condiciones fueron con alta fuente de infección.

Tabla 1. Variantes de tratamientos para el control de la MNC (2014).

Tratamiento	Aplicación	Producto comercial (PC)	Dosis de PC en 100 L de agua.	Día y mes de aplicación
1	1	Cuproflow SC 37.75	250 ml	4/4
	2	Benomyl PH 50	50 g	5/5
	3	Mancozeb PH 80	300 g	2/7
	4	Supreme EW 40	75 ml	3/8
2	1	Cuproflow SC 37.75	250 ml	4/4
	2	Mancozeb PH 80	300 g	5/5
	3	Mancozeb PH 80	300 g	4/6
	4	Benomyl PH 50	50 g	2/7
3	1	Cuproflow SC 37.75	250 ml	4/4
	2	Mancozeb PH 80	300 g	5/5
	3	Benomyl PH 50	50 g	4/6
	4.	Supreme EW 40	75 ml	3/8
4	1	Cuproflow SC 37.75	250 ml	4/4
	2	Benomyl PH 50	50 g	5/5
	3	Supreme EW 40	75 ml	2/7
5	1	Cuproflow SC 37.75	250 ml	4/4
	2	Mancozeb PH 80	300 g	5/5
	3	Benomyl PH 50	50 g	4/6
6	1	Cuproflow SC 37.75	250 ml	4/4
	2	Mancozeb PH 80	300 g	5/5
	3	Supreme EW 40	75 ml	4/6
7	1	Benomyl PH 50	50 g	4/4
	1	Mancozeb PH 80	300 g	4/4
	2	Benomyl PH 50	50 g	4/6
	2	Mancozeb PH 80	300 g	4/6
8	1	Benomyl PH 50	50 g	5/5
	2	Supreme EW 40	75 ml	2/7
9	Testigo	Sin tratar		

En todos los tratamientos se empleó aceite mineral emulsionable (Argenfrut RV CE 86) 500 ml. de producto comercial por 100 litros de agua. La relación de los productos comerciales utilizados para el control de la mancha negra y su respectivo ingrediente activo aparecen en el Anexo 4. La cosecha en todos los casos se realizó el 29 de mayo del 2015 después de la caída del 75% de los pétalos que ocurrió en fecha 30 de marzo del 2015.

El esquema de experimentación usado fue Bloque al Azar, con nueve variantes de tratamiento y tres réplicas. Cada parcela estuvo representada por 48 plantas (seis surcos de ocho plantas cada uno). El análisis de los datos se realizó para cada variable incidencia y severidad de forma independiente.

Con los datos registrados del número de plantas con frutos afectados por la mancha negra de los cítricos se determinó el porcentaje de incidencia por tratamiento con la fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = a/b \times 100.$$

Dónde:

a= Número de plantas con frutos con síntomas.

b= Total de plantas observadas.

El porcentaje de severidad de daños por tratamiento se determinó con la fórmula de Townsend y Heuberguer, según Unterstenhoefer (1963) citado por Hernández y Gómez (1981). Dónde:

$$\text{Severidad de daños (\%)} = \sum(a \times b) / (n \times t) \times 100.$$

Dónde:

a= Grado de la escala.

b= Cantidad de frutos con síntomas en cada grado.

n= Grado mayor de la escala.

t= Total de frutos.

Los datos se transformaron en \sqrt{x} y la comparación entre tratamientos de los porcentajes de incidencia y severidad fue mediante análisis de varianza de clasificación simple a un 95% de confianza y las diferencias por el Test de Tuckey.

3.4. Valoración económica de la estrategia de control con fungicidas

Se determinó el costo que ocasionó instrumentar el programa de manejo de la MNC, teniendo en cuenta el costo de los fungicidas recomendados y número de aplicaciones para las plantaciones destinadas a la cosecha para fruta fresca y exportación, se incluye el gasto de petróleo y el de salario por la necesidad de incrementar el número de hectáreas a aplicar.

Se tuvieron en cuenta los daños ocasionados por la mancha negra, por no permitir la exportación de frutas para Europa y se valoraron los problemas organizativos, técnicos y de manejo de otras enfermedades que ocasionó la mancha negra de los cítricos en Jagüey Grande.

3.5. Análisis y programa estadístico empleado

Para establecer la normalidad de los datos y la homogeneidad de la varianza se utilizó la prueba de Cochran C., Hartley y Bartlett. Los datos que no cumplieran con esta condición fueron transformados con la función correspondiente. Se empleó el paquete estadístico STATISTICA, Versión 6.1, StatSoft, Inc. (2003).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Identificación de síntomas de MNC e incidencia en Jagüey Grande

4.1.1. Tipos de síntomas de la MNC en naranjo 'Valencia'

En las evaluaciones realizadas en plantaciones de naranjo 'Valencia' afectados por la MNC en las condiciones de Jagüey Grande, se observaron cinco tipos de manchas, coincidiendo con Gómez y Valdés (2009). Por el método de biología molecular, se determinó que todos los tipos de manchas descritos, se corresponden a los de la mancha negra de los cítricos.

Mancha dura. Las lesiones típicas descritas por Herbert (1989), presentan un centro necrótico deprimido de color marrón-claro y los bordes salientes de coloración marrón oscuro (figura 1). 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.



Figura 1. Tipos de mancha dura observados en las condiciones de Jagüey Grande.

Los síntomas de este tipo en la región de Jagüey Grande se caracterizan por ser de forma circular, con bordes irregulares, hacia la periferia se observa generalmente un halo verde, (aunque en ocasiones este halo no aparece), hacia el centro de la lesión se observan abultamientos de color pardo-oscuro que no son más que los cuerpos de fructificación, este mismo centro puede ser hendido o abultado, coincidiendo con

Gómez y Valdés (2009). Estas lesiones se diferencian de las encontradas en otros lugares, donde forman un cráter bien definido hacia la periferia, el centro es siempre hendido y de color grisáceo.

Mancha pecosa. Las lesiones son deprimidas y pequeñas, miden aproximadamente 1mm de diámetro, de coloración rojiza, en general aparecen en frutos maduros y en post-cosecha. Frutos sin síntomas aparentes pueden estar infestados y luego en condiciones óptimas en campo y después de la cosecha se hacen evidentes la presencia de manchas rojizas típicas de la enfermedad, constituyendo este el principal problema para la exportación, coincidiendo con Herbert (1989).

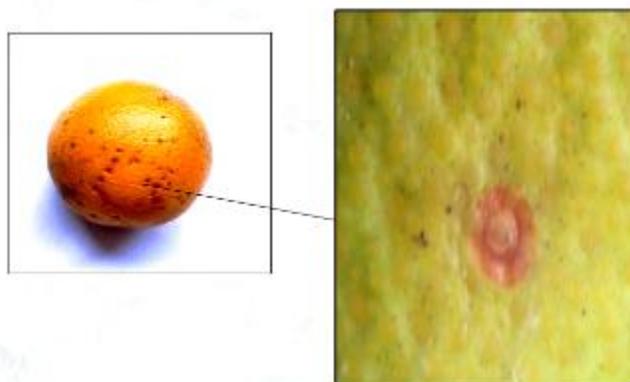


Figura 2. Tipo de mancha pecosa en las condiciones de Jagüey Grande.

Esta mancha muy común en las plantaciones de Jagüey grande se caracteriza por ser lisa, de color rosa–salmón, circular, con bordes irregulares y en el centro se pueden observar generalmente los cuerpos de fructificación del patógeno, coincidiendo con Gómez y Valdés (2009).

Mancha falsa melanosis. 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. Por la forma en que se presentan pueden ser confundidas con la melanosis.

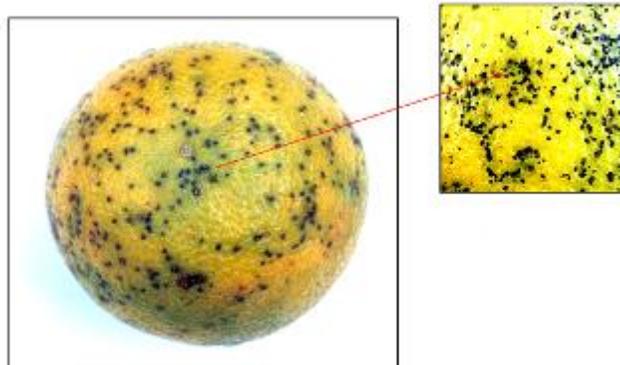


Figura 3. Tipo de mancha falsa melanosis en las condiciones de Jagüey Grande.

Estas manchas se diferencian en que las lesiones de melanosis son ásperas y las de la falsa melanosis son lisas y presentan pequeños puntos envueltos los que generalmente se observan cuando se utiliza el estereomicroscopio o una lupa coincidiendo con Herbert (1989) y Gómez y Valdés (2009).

Mancha virulenta. Estas son grandes, oscuras, de forma irregular y bordes salientes de color marrón oscuro o rojo oscuro, pueden o no presentar un centro deprimido.

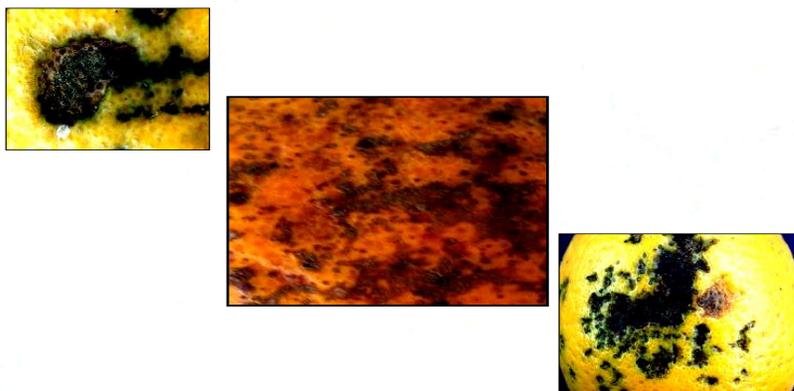


Figura 4. Tipo de mancha virulenta en las condiciones de Jagüey Grande.

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. Ellas pueden tomar grandes áreas de la cáscara del fruto, coincidiendo con Herbert (1989) y Gómez y Valdés (2009).

Mancha agrietada (trincada), (“cracked spot”): 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.



Figura 5. Tipo de mancha agrietada en las condiciones de Jagüey Grande.

Las manchas agrietadas generalmente aparecen en asociaciones con el ácaro del moho o del tostado (*Phyllocoptruta oleivora* Ashmead) coincidiendo con Herbert (1989) y Gómez y Valdés (2009).

4.1.2. Incidencia de la MNC por tipos de síntomas

En las evaluaciones realizadas en campo de naranjo ‘Valencia’ con diferentes variantes de tratamiento, afectado por la MNC en las condiciones de Jagüey Grande, se observaron cuatro tipos de manchas: Mancha dura, mancha pecosa, mancha falsa melanosis y mancha virulenta coincidiendo con Herbert (1989). No se observó la mancha agrietada, ya que estas lesiones generalmente aparecen en asociaciones con el ácaro del moho o del tostado (*Phyllocoptruta oleivora* Ashmead). Este campo no presentó afectaciones por este ácaro.

En el análisis estadístico donde se compara de forma general en el campo la incidencia de MNC por tipos de mancha en los frutos de naranjo ‘Valencia’ (Tabla 2.), se encontraron diferencias estadísticas significativas entre la mancha dura y el resto de las manchas, siendo esta la predominante sobre los frutos. La mancha dura se presentó en el 27,9 % de los frutos, siendo mayor su afectación, que la suma del total de las manchas restantes presentes en los frutos.

Tabla 2. Incidencia de MNC por tipos de mancha en campo de naranjo 'Valencia' en plantaciones de la Unidad Empresarial de Base No 1.

Tipos de manchas	Incidencia (%)
Sin manchas	56,9 a
Mancha dura	27,9 b
Mancha pecosa	6,8 c
Falsa melanosis	4,8 cd
Mancha virulenta	3,5 d
E.S	0,65
CV (%)	11,6

Letras iguales no hay diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$ $N=36$

En segundo lugar apareció la mancha pecosa que afectó al 6,8 % de los frutos, con diferencia estadísticamente significativa con la mancha virulenta, y no existe diferencia estadísticamente significativa con la falsa melanosis.

La mancha falsa melanosis, se ubicó en la tercera posición en importancia y afectó al 4,8% de los frutos, sin diferencia estadísticamente significativa con respecto a la mancha virulenta, que afectó al 3,5% de los frutos y se encuentra en menor distribución.

Se coincide con lo planteado por Kiely (1948), McOnie (1967) y Kotzé (1981) en que normalmente los síntomas aparecen cuando los frutos se encuentran en la fase de transición verdes/maduros, lo cual puede demorar hasta 10 ó 12 meses. En las evaluaciones que se realizaron en los campos objeto de estudio, así como en otros campos de la empresa, cuando los frutos estaban verdes, no se observaron síntomas de mancha negra.

Los síntomas aparecieron a inicios de diciembre, siendo más significativos cuando la fruta maduró completamente, a finales de febrero, fecha en que se realizó la evaluación. Dos Reis (2002) 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, cuestión que se corroboró, en las

observaciones realizadas. Se observó un incremento significativo de las manchas con la maduración de los frutos.

Según Kotzé (1981), Feichtenberger (1996), Feichtenberger y Spósito (2003) 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. Se observó, que los frutos más expuestos a la luz directa del sol y frutos de plantas debilitadas, presentaron síntomas más severos según los muestreos que se realizaron.

4.1.3. Incidencia de síntomas de MNC en diferentes unidades productivas

En la tabla 3 se muestran los porcentajes de incidencia de MNC en naranjo 'Valencia' en las diferentes unidades citrícolas de la Empresa Victoria de Girón en Jagüey Grande. Se encontraron valores en un amplio rango de incidencia entre las diferentes unidades agrícolas en que se realizó el muestreo.

Tabla 3. Incidencia de MNC en granjas de naranjo 'Valencia' y la empresa

Granjas (Unidades productivas)	Incidencia (%)
1	60,6
2	4,0
3	0,0
4	48,0
5	2,0
6	9,3
Empresa	20,7

Se observó baja incidencia de la enfermedad en las Granjas o Unidades Empresariales de Base 2, 3, 5, 6 y alta incidencia en las Unidades Empresariales de Base 1 y 4. Al parecer la mayor incidencia de la MNC en las Unidades Empresariales de Base 1 y 4, se debió a que la infección se vio favorecida por el grado de envejecimiento de las plantaciones en estas áreas.

Kotzé (1981), Feichtenberger *et al.* (1997) y Feichtenberger y Spósito (2003), Esto coinciden en plantear que los síntomas 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 por envejecimiento.

En las áreas de las Unidades Empresariales de Base 1 y 4, comenzó la demolición para la replantación, trayendo esto como consecuencia el movimiento de material vegetal, personas y equipos. Estas áreas son de libre circulación, no poseen cortinas de protección, por lo que la diseminación de hojas infestadas, en descomposición sobre el suelo, constituyeron la fuente primaria de inóculo de *G. citricarpa* responsable de la introducción del patógeno en nuevas áreas (Kotzé, 1996).

Otro factor que influyó en el incremento de la incidencia de la mancha negra en las Unidades Empresariales de Base 1 y 4, lo representó la cosecha tardía en sus áreas. Se presentaron las condiciones para que las picnidiosporas jugaran su papel incrementando la enfermedad en la planta y a su alrededor.

Se está de acuerdo con Kiely (1948), Goes *et al.* (2000) y Feichtenberger y Spósito (2003), que plantean que *G. citricarpa* es responsable de la introducción del patógeno en nuevas áreas y *P. citricarpa* del incremento de la enfermedad en la planta o a su alrededor.

Otro factor que puede explicar la mayor incidencia de la MNC en las Unidades Empresariales de Base 1 y 4, es la ubicación de las mismas. Se encuentran en la parte central de la empresa, por lo que el movimiento de vehículos y personal es mayor, al tener que transitar por sus áreas para dirigirse a otras unidades de producción de cítricos. La exclusión, que consiste en evitar la introducción del patógeno en áreas donde no está la enfermedad, es un principio poco ejecutable, pues tiene como problema que las hojas de naranjo dulce son asintomáticas (Spósito, 2003) y esto limita el manejo de la enfermedad.

4.2. Incidencia de la MNC según fecha de cosecha y tratamientos fitosanitarios

4.2.1. Incidencia de la MNC según las fechas de cosecha

En el análisis estadístico donde se compara la incidencia de MNC en campos con diferentes tecnologías de manejo de la enfermedad relacionadas con la época de cosecha durante dos años en Jagüey Grande (Tabla 4), se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre la tecnología de manejo de las áreas cosechadas antes de la floración y de las áreas cosechadas después de la floración.

Tabla 4. Incidencia de MNC en campos de naranjo ‘Valencia’ con diferentes fechas de cosecha para el manejo de la enfermedad en Jagüey Grande.

Niveles		Incidencia de plantas con MNC	
Cosecha	Antes de floración	2,0 b	
	Después de floración	49,3 a	
	$F(1, 12)=28,62$		$p<,0002^{**}$
Años	2014	26,4	
	2015	25,0	
	$F(1, 12)=,03$		$p<,8744 ns$
Interacción 1 x 2			
Cosecha antes de la floración	2014	2,7 b	
	2015	1,3 b	
Cosecha después de floración	2014	50,0 a	
	2015	48,6 a	
		$F(1, 12)=,00$	$p<0,009^{**}$ $N= 16$

Letras iguales no hay diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$

Al comparar por años la incidencia de la enfermedad no se encontraron diferencias significativas; sin embargo al analizar la interacción de las variantes de cosecha y los años, las diferencias significativas apreciadas son el resultado de la influencia de las variantes de cosecha y no de los años, como quedó demostrado con el análisis independiente de ambos factores de variación.

La mancha negra de los cítricos se reportó en Jagüey Grande en el año 2014, en áreas de la Unidad Empresarial de Base No 5, por lo que la incidencia de la enfermedad, era baja. En el 2015, la enfermedad se reportó, en las seis unidades cítricas confirmado por encuestas y muestreos de la empresa y de sanidad vegetal.

Las medidas preventivas de control de la enfermedad no funcionaron, a pesar de la desinfección de los medios de cosecha y chapeadoras con formol al 2% y la limpieza de camiones en el beneficio y la industria, con vistas a eliminar los restos de hojas que son asintomáticas, pero que es la fuente primaria de diseminación del patógeno.

Se cumplió lo planteado por Spósito (2003) que señaló, que el método de exclusión, que consiste en evitar la introducción del patógeno en áreas donde no está la enfermedad es poco ejecutable. Se determinó que en los campos, que en la misma planta coexistían frutos infectados y frutos jóvenes susceptibles y que fueron tratados con fungicidas (aunque no con la frecuencia entre tratamientos requerida), la incidencia de la enfermedad es alta.

Esto coincidió con lo planteado por Kotzé, (1981), en que las picnidiosporas son importantes en la epidemiología de la mancha negra de los cítricos, cuando en la misma planta coexisten frutos infestados, produciendo estas esporas y frutos jóvenes susceptibles, de hasta 5-6 meses de edad, que pueden entonces ser infestados.

Se determinó que en los campos cosechados antes de la floración y con tratamiento fitosanitario, se logró un bajo porcentaje de incidencia de los daños de mancha negra en evaluaciones realizadas planta a planta en febrero 2014, febrero 2015. Aquí se demostró lo planteado por Kiely (1948), Goes *et al.* (2000), Feichtenberger y Spósito (2003) de que *P. citricarpa* es responsable del incremento de la enfermedad en la planta o a su alrededor.

Al cosecharse 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 plantas es bajo, no se logró eliminar la enfermedad, manifestando esto, la importancia del ciclo primario, que ocurre en las hojas infestadas en descomposición sobre la superficie del suelo, constituyendo la fuente primaria de inóculo, coincidiendo con lo planteado por Kotzé (1964).

La literatura internacional, especialmente aquella oriunda de Australia y de África del Sur, atribuye a las ascosporas de *G.citricarpa* la responsabilidad exclusiva de las epidemias Kiely (1948), Kotzé (1989), McOnie (1967), McOcnie (1964), Shutte *et al.* (1997).

Los resultados obtenidos en Jagüey Grande, no coinciden con estos autores. En campos donde existen frutos infectados y frutos jóvenes susceptibles, la incidencia de la enfermedad es mayor, que en los campos donde se cosecha con calidad antes de la floración, a pesar de existir frutos jóvenes susceptibles, demostrándose así la importancia de las picnidiosporas como fuente de infección.

Desde el punto de vista epidemiológico, el comportamiento de la mancha negra de los cítricos, en nuestras condiciones, no coincide con el australiano y sudafricano, ya que en nuestras plantaciones, la cosecha del naranjo 'Valencia' se efectúa mayoritariamente después de la floración y por ser nuestro clima tropical ocurren lluvias en los períodos de susceptibilidad del fruto, así como altas temperaturas y luminosidad, por lo que ascosporas y picnidiosporas contribuyen al incremento de la enfermedad, coincidiendo con lo planteado por Feichtenberger (1996).

Se coincidió con lo planteado por Bergamin y Amorim (1995), que en condiciones tropicales, el ciclo infeccioso de la mancha negra de los cítricos, hay que describirlo con una vía sexual y la otra asexual, completamente aditivas, 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 (Cosecha antes de la floración) el porcentaje de incidencia de daños es bajo en los años 2014-2015, motivado fundamentalmente a 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, a pesar, de que en reiteradas ocasiones la frecuencia de aplicación no es adecuada, por existir periodos muy prolongados entre los tratamientos. Se observó que la enfermedad afectó de manera más significativa a los frutos de plantas debilitadas.

En los campos de cosecha tardía, el porcentaje de incidencia de daños es alto, motivado por la alta fuente de infección de *P. citricarpa* y también a que las aplicaciones fitosanitarias durante el período de susceptibilidad del fruto en reiteradas ocasiones no cumplen con la frecuencia requerida.

Fundecitrus (2005), plantea como medida de prevención adelantar la cosecha en los lotes en que este presente la enfermedad. Se coincidió con esta medida, logrando disminuir significativamente los daños de mancha negra, combinado esto con tratamientos de fungicidas.

4.2.2. Incidencia y severidad de la MNC según los tratamientos de control

En el análisis estadístico donde se compara la incidencia de daños MNC en campos de naranjo 'Valencia' de la Unidad Empresarial de Base No 1., con diferentes variantes de tratamiento (Tabla 5), se determinó, que los mejores tratamientos son el dos (2) donde se combina el Cuproflow SC 37.75; Mancozeb PH 80; Mancozeb PH 80; Benomyl PH50; con aplicaciones a los 30 días a partir de caída del 75% de los pétalos) y el tres (3) donde se aplica el Cuproflow SC 37,75 a la caída del 75% de los pétalos; Mancozeb PH 80, 30 días después; Benomyl PH 50 a los 30 días después y después Supreme EW 40, a los 60 días, con diferencias estadísticamente significativas con el resto.

Le siguen en efectividad el tratamiento cinco (5) con Cuproflow SC 37,75 al 75% de caída de pétalos y Mancozeb PH 80 junto al Benomyl PH 50, 30 días después y el tratamiento seis (6) con Cuproflow SC 37.75, al 75% de caída de pétalos y Mancozeb PH 80 con Supreme EW 40 a los 30 días después.

Tabla 5. Incidencia y severidad de la MNC en naranjo 'Valencia' con diferentes variantes de tratamiento.

Tratamientos	Incidencia (%)	Severidad (%)
1	48,0 bcd	6,2 bc
2	23,3 e	2,5 d
3	29,8 e	4,0 cd
4	50,5 bc	7,4 bc
5	35,0 cde	4,7 cd
6	32,5 cde	4,4 cd
7	46,8 bcd	7,2 bc
8	53,8 ab	8,9 bc
9	67,8 a	12,1 a
ES.	2,44	0,49
CV (%)	5,67	7,79

Letras iguales no hay diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$

Las variantes uno, cuatro, siete y ocho son las de peor comportamiento, este último donde se aplican Benomyl PH 50, 30 días después de la caída del 75% pétalos y Supreme EW 40, 60 días después como el de menor control de todos, mientras que los tratamientos cinco y seis con un resultado intermedio.

En este trabajo no se logró en ninguna variante minimizar los daños de mancha negra sobre los frutos, pues en el tratamiento dos que fue el de mejor comportamiento, se afectó el 23,3% de los frutos y en el tratamiento tres se el 29,8%, lo que se atribuye a que se partió de plantaciones con valores muy altos de incidencia y se realizó la cosecha después de la floración, coincidiendo con Kiely (1948), Goes et al. (2000), Feichtenberger y Spósito (2003).

En estos resultados se destacó como la mejor variante de tratamiento la dos, que se basó, en proteger las plantas con una frecuencia entre tratamientos de 30 días en los primeros 90 días de formación del fruto a partir de caída de los pétalos. En los tratamientos, tres, seis y cinco, todas las aplicaciones se realizaron con frecuencia de 30 días entre tratamientos, hasta los 60 días después de la caída de los pétalos,

realizando en el caso del tratamiento tres una cuarta aplicación 60 días después de la tercera (120 días después de la caída de los pétalos).

En Argentina los citricultores realizan las aplicaciones de fungicidas curativos de la MNC como metil tiofanato (70%, PM) y carbendazim (50%, SC), a los 120 días desde la caída de los pétalos, logrando la menor incidencia de la enfermedad (15,7%), aunque la eficacia de esta única aplicación depende de las condiciones ambientales durante el período susceptible de la fruta (Rivadeneira et al., 2016 a).

Es significativo que en este trabajo se logró un mejor control de la mancha negra de los cítricos, en variantes de tratamiento con tres aplicaciones, que se realizaron con frecuencia de 30 días (Variante cinco y seis), en comparación con variantes de tratamiento con cuatro aplicaciones como la uno (Cuproflow SC 37,75 al 75% de caída de pétalos; Benomyl PH 50, 30 días después; Mancozeb PH 80, 60 días después y Supreme EW 40, 30 días después).

Esto pareció estar motivado, a que existió una alta presión de picnidiosporas, ya que en la misma planta coexistían frutos infectados y frutos jóvenes y en el caso del tratamiento uno, existió un intervalo muy largo sin protección en el periodo de mayor susceptibilidad del fruto. Además, se logró un mejor control de la enfermedad en la variante de tratamiento cinco, con dos aplicaciones de contacto (Cuproflow SC 37.75, y Mancozeb PH 80) y una sistémico (Benomyl PH 50) en comparación con la variante de tratamiento uno, con dos aplicaciones de contacto (Cuproflow SC 37.75, y Mancozeb PH 80), una de contacto más sistémico (Supreme EW 40), más una de sistémico (Benomyl PH 50).

En la variante seis, con dos aplicaciones de fungicidas de contacto (Cuproflow SC 37.75, y Mancozeb PH 80), y una de contacto más sistémico (Supreme EW 40) en comparación con la variante de tratamiento uno con dos aplicaciones de contacto, una de contacto más sistémico y una más de sistémico, se logró un buen control.

En las variantes de tratamiento en que se espació la aplicación por 60 días, en los primeros 90 días, a partir de la caída del 75% de los pétalos, no se logró una

adecuada efectividad del tratamiento. Esto ocurrió en la variante uno con cuatro tratamientos (Cuproflow SC 37.75 al 75% de caída de pétalos; Benomyl PH 50, 30 días después; Mancozeb PH 80, 60 días después y Supreme EW 40, 30 días después). Rivadeneira et al. (2016 b) indican que en la Argentina las fechas claves para el control de mancha negra con productos preventivos son 60 y 90 días después de caída de pétalos.

En la variante cuatro con tres tratamientos (Cuproflow SC 37.75 a la caída del 75% de los pétalos; Benomyl PH 50, 30 días después y Supreme EW 40, 60 días después), en la variante siete con dos tratamientos (Benomyl PH 50 + Mancozeb PH 80, a la caída del 75% de los pétalos y 60 días después el mismo tratamiento) y en la variante ocho con dos tratamientos, (Benomyl PH 50, 30 días después de la caída del 75% pétalos y Supreme EW 40, 60 días después) motivado por la alta presión de picnidiosporas y el intervalo muy largo entre aplicaciones. Con el uso combinado de producto de contacto y sistémico (Variante siete), realizando dos aplicaciones, no se logró un adecuado control de la mancha negra.

Cuando se desplazó la primera aplicación con producto sistémico, 30 días después de la caída del 75% de los pétalos y la segunda 60 días después de la primera, también con producto sistémico, se obtuvo como resultado el peor control de la MNC (variante ocho). En condiciones de alta incidencia de la enfermedad, se coincidió con Fundecitrus (2005), que plantea iniciar el control siempre después de la caída de pétalos de las flores.

Se confirmó lo planteado por Fundecitrus (1998; 2003; 2005), de 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. Con esta variante de tratamiento que corresponde a la dos, se obtuvo el mejor resultado.

SAGARPA (2013) plantean que sin manejo de la MNC se perdió más del 80% de la fruta y se exportó el 90% cuando fue tratada con fungicidas. En Brasil para mitigar

los efectos de esta enfermedad el control químico incluye 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 estrobirulinas (piraclostrobina, azoxistrubina, tryfloxistrubin). Sin embargo, una vez que la enfermedad se establece en una nueva área, la erradicación es imposible.

Fundecitrus (2005) plantea que el número de aplicaciones puede variar de dos a cinco por año. No se coincidió, ya que con dos aplicaciones en nuestras condiciones de alta incidencia de la enfermedad, no se obtuvo un control adecuado. Al menos fue necesario aplicar en tres ocasiones.

Los fungicidas recomendados para el control de la enfermedad por Fundecitrus (2005), son protectores o de contacto (productos a base de cobre y ditiocarbamatos), sistémicos del grupo de los bencimidazoles. Todos los fungicidas se aplicaron en mezcla con aceite mineral al 0,5%. Se coincide con lo planteado por Bayer (2010) que 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 resultados no coinciden con Goes (1998), que logró el mejor resultado 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, ya que esto coincidió con la variante siete, donde nose alcanzó un adecuado control de la mancha negra, sólo el 53,2% de las frutas no tenían daños.

Goes (1998) logró el mejor resultado con dos tratamientos de Benlate 500 más Manzate 800 (50 g. de producto comercial de Benlate 500 + 200 g. de producto comercial de Manzate 800 + 500 ml. de aceite mineral por 100 L. de agua) aplicados a los 60 días entre el primer y segundo tratamiento, logrando 77,6% de las frutas exportables.

En la variante de tratamiento siete, aplicando dos tratamientos de Benomyl PH 50 más Mancozeb PH 80 más aceite mineral emulsionable (50 g. de producto comercial de Benomyl PH 50 + 300 g. de producto comercial de Mancozeb PH 80 + 500 ml. de aceite mineral por 100 L. de agua) aplicados a los 60 días entre el primer y segundo tratamiento, a pesar de que se usó mayor dosis de Mancozeb que la que empleó Goes (1998), no resultó un tratamiento eficiente.

No se utilizó la variante que empleó Paradela, et al. (2000), que consiste en aplicaciones de Benlate 500 + Manzate 800 + 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) con tres aplicaciones, y en la que logró buenos resultados, porque los bencimidazoles muestran un control satisfactorio al comienzo de su utilización, pero el hongo puede desarrollar resistencia (Bayer, 2010).

Rodríguez et al. (2010) probaron diferentes combinaciones de dosis, frecuencias y momentos de aplicación de pyraclostrobin 25%, mancozeb 80% y benomyl 50% y lograron la mayor eficiencia de control de MNC (95.5 % frutos grado 0), con 30 mL de pyraclostrobin aplicado en tres momentos (octubre, noviembre y enero). Estos autores debido al riesgo de aparición de resistencia a las estrobilurinas por tres aplicaciones por campaña, recomiendan su uso en dos aplicaciones tardías (noviembre y enero), que para obtener entre 75 y 88% de frutos sin síntomas.

Como estrategia para el manejo de la enfermedad estos resultados de manejo del control de la enfermedad con fungicidas, se integró a las recomendaciones de Sanidad Vegetal para el manejo de esta enfermedad donde se incluye:

- La disminución de la fuente de infección sobre el árbol, es un elemento influyente para el adecuado control de la enfermedad en Jagüey Grande.
- Es necesario evitar que coexistan frutos infestados produciendo esporas y frutos jóvenes susceptibles, que pueden ser infestados.

- En presencia de alta fuente de infección sobre el árbol, a partir de la caída de los pétalos y hasta 90 días del desarrollo del fruto, mantener entre aplicaciones con una frecuencia de 30 días.
- En áreas con alta fuente de infección realizar por campaña de tres a cuatro aplicaciones con fungicidas.

4.3. Valoración económica de la estrategia de control con fungicidas

La mancha negra de los cítricos se ha distribuido en la mayoría de las plantaciones de la empresa y esto ha ocasionado pérdidas económicas de importancia tanto por las manchas oscuras en la corteza de los frutos que afectan su apariencia externa, reduciendo el valor comercial de los mismos, como el hecho de que esta es una enfermedad cuarentenada que limita las exportaciones de frutas frescas con afectaciones a los ingresos en moneda convertible.

Según el programa establecido en el territorio por sanidad vegetal para el control de la enfermedad en plantaciones destinadas a la exportación como frutos frescos, se indican cuatro pases de fungicidas (Tabla 6), mientras que en las áreas positivas (tabla 7) se estableció aplicar tres y en las colindantes (tabla 8) dos pases.

Tabla 6. Programa de productos para el control de la MNC en campos destinados a la exportación como fruta fresca.

Producto	Precio USD	Dosis (kg - L . ha ⁻¹)	Costo USD / ha
Bioman PH 80	5,20	4,28	22,25
Cuproflow SC 37.75	5,40	3,42	18,46
Biobeno PH 50	13,03	0,68	8,86
Supreme EW 40	20,87	1,02	21,28
Costo de la tecnología de control por ha en fruta fresca			70,85

Tabla 7. Estrategia de productos para el control de la MNC en campos positivos.

Producto	Precio USD	Dosis (kg – L . ha ⁻¹)	Costo USD / ha
Cuproflow SC 37,75	5,40	3,42	18,46
Biobeno PH 50	13,03	0,68	8,86
Supreme EW 40	20,87	1,02	21,28
Costo de la tecnología de control por ha en campos positivos.			48,60

Tabla 8. Estrategia de productos para el control de la MNC en campos colindantes.

Producto	Precio USD	Dosis (kg – L . ha ⁻¹)	Costo USD / ha.
Biobeno PH 50	1,03	0,68	8,86
Supreme EW 40	20,87	1,02	21,28
Costo de la tecnología de control por ha en campos colindantes.			30,14

Se aprecia en las tablas que el costo de los productos para el control de la mancha negra, encareció la producción citrícola en Jagüey Grande, en las diferentes variantes de tratamiento según la categorización de las plantaciones, y alcanza un total de gastos de 312,196 USD. Además, fue necesario aumentar las aplicaciones con asperjadoras a 14,848 hectáreas, con un gasto de petróleo de 58,502 litros, que implicó un costo de 30,011 USD y con respecto al salario se incurrió en un gasto de 90,664 CUP, todo esto aumenta los costos del manejo de las plantaciones de naranja por esta enfermedad.

Teniendo en cuenta las limitaciones en la exportación de frutas de naranjo 'Valencia' hacia la Comunidad Europea, con MNC las pérdidas alcanzan anualmente valores de 1, 066,432 USD en los ingresos brutos, considerando la exportación de 2,262 toneladas de frutas por año.

De forma general esta enfermedad aumenta el costo de producción, como se plantea en Agriannual, (2001), al tener que establecer una política de control con fungicidas en las áreas afectadas, incrementando la necesidad de asperjadoras, mayor consumo de combustible y mayor gasto de salario.

Otro aspecto en lo que influyó negativamente esta enfermedad, fue en la esfera organizativa, del trabajo técnico para su control, pues fue necesario trabajar en la capacitación y preparación técnica específica del personal para el diagnóstico y manejo de esta enfermedad, invertir mayor tiempo de trabajo en muestreos, crear registros y tener que emitir informaciones. Se hizo necesario, una mayor organización en actividades como la cosecha, beneficio y desinfección en campo y empacadoras.

5. CONCLUSIONES

- Se observaron cinco tipos de síntomas ocasionados por *Guignardia citricarpa* Kiely sobre los frutos cítricos: mancha dura, mancha pecosa, mancha falsa melanosis, mancha virulenta, mancha agrietada.
- El síntoma predominante correspondió al tipo mancha dura, el cual se diferencia de los síntomas descritos en otras regiones.
- Se logró un control eficiente de la mancha negra de los cítricos, en los campos que se cosecharon antes de la floración y conjuntamente recibieron tratamientos fitosanitarios.
- La variante de control fitosanitario más adecuada para disminuir los daños de la mancha negra de los cítricos, con alta fuente de infección, resultó aquella donde se realizaron cuatro tratamientos; Cuproflow SC 37.75; Mancozeb PH 80; Mancozeb PH 80; Benomyl PH 50, cada 30 días entre aplicación, a partir de la caída del 75% de los pétalos.
- La mancha negra incrementó el costo de la producción de cítricos, por el aumento de los tratamientos fitosanitarios a las plantaciones en 1,37 CUC por tonelada y 0,36 CUP por tonelada, además, por impedir la exportación de frutos frescos a Europa se dejó de ingresar un total de 1, 066,432 USD por año.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos donde se combinen productos protectores y sistémicos, disminuyendo el intervalo entre tratamientos a 21 días, hasta que se realice la cosecha, en áreas con alta fuente de infección.
- Probar en estas condiciones otros productos químicos como estrobirulinas, con vistas a la sustitución del Benomyl, para evitar el desarrollo de fungoresistencia.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AGRIANUAL. 2001. Mercados & Perspectivas. Anuário da Agricultura. São Paulo: FNP. 289 p.
- AGUILAR-VILDOSO, C. I.; FEICHTENBERGER, E; MORAES, M. R.; BELLATO, M. S.; SCHINOR, E. H. 1999. Avaliação de tratamentos fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeira “Pera” de diferentes idades. Summa Phytopathologica. 25 (1): 5.
- AGUILAR-VILDOSO, C. I; BALDINI, J. G, R; FEICHTENBERGER, E; DE GOES, A Y SPOSITO, M. B. 2002. Manual técnico de procedimientos da mancha preta dos citros Carlos Ivan Aguilar-Vildoso (Coordenador). Brasília, MAPA/SDA/DDIV. 72 p.
- ALEXOPOULOS, C. J. 1979. Introductory mycology. Ed. New York, John Wiley & Sons, Inc. 632 p.
- AMORIN, L. 1995. Avaliação de doenças. In Bergamin Filho, A., Kimati, H., Amorin, L. Manual de Fitopatología. Principios e conceitos. Editora Ceres, Sao Paulo. p. 647- 671.
- 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. ; CAROLL, G. C.; VANDER H. A.; DEWERERDT, M.; MACCHERONI JUNIOR, W.; GLIENKE DE BLANCO, C. y AZEVEDO, J. L. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, 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* na safra subsequente e período de suscetibilidade de frutos de laranjeiras 'Natal' e 'Valência'. Jaboticabal. Dissertação. Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Estadual Paulista.
- BALDASSARI, R. B; BRANDIMARTE, I; ANDRADE, A. G; CESTARI, D. G; MORETTO, C E GOES, A. 2007. Indução de expressão precoce de sintomas de *Guignardia citricarpa* em frutas de Laranjeira "Pera-Rio". Brasileira de Fruticultura. 29 (2): 269-275.
- BATISTA, L.; PEÑA, I.; VELÁZQUEZ, K.; LLAUGER, R.; PÉREZ, J. M.; SIBAT, R.; TORRES, M. C.; ACUÑA, M. Y TORRES, F. 2001. Evaluación de diferentes esquemas de muestreo para la detección del virus de la tristeza de los cítricos. Cítrifrut. 19(2-3): 14-18.
- BAYER CROP SCIENCE. Crop Compendium. *Guignardia citricarpa*. [en línea]. Disponible en: http://compendium.bayercropscience.com/BAYER/CropScience/CropCompendium/BCSCropComp.nsf/id/EN_Guignardia_citricarpa?open&ccm=200020. [Consulta: abril, 25 2016].
- BERGAMIN FILHO, A. 1995. Avaliação de danos e perdas In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (ed.). Manual de Fitopatologia. 3a. ed. Piracicaba. Ceres. p. 672-690.
- BERGAMIN FILHO, A. 1995. Curvas de progreso da enfermedad, In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (ed.). Manual de Fitopatologia. 3a. ed. Piracicaba. Ceres. p. 602-626.
- 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. 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. p. 561-565.
- CANTEROS, B. I. 2009. Guía para la identificación y el manejo de las enfermedades fúngicas y bacterianas en Citrus. 1ª Edición. p. 62-64.
- CARDOSO FILHO, L. A. 2003. Efeito de extractos de albedo de laranja (*Citrus sinensis*) e dos inductores de resistência ácido salicílico, acilbenzolar-s-metil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa* (teleomorfo: *Guignardia citricarpa*). Piracicaba, Tése Doutorado. Universidad de São Paulo.
- CASAMAYOR, R. 1990. Algunos aspectos importantes de la citricultura, A NAIS 1 Sem. Int. Porta enxertos de Citros, Brazil. p. 1-2.
- DOIGE, E. M. 1929. Some disease of citrus prevalent in South Africa. South Africa Journal of science. 26: 320-325.
- DOS REIS, R. F. 2002. Influência dos factores climáticos na produção de ascosporos de *Guignardia citricarpa* em pomares de laranjeiras “Natal” e “Valencia”. Jaboticabal. Tése Maestrado. Universidade Estadual Pualista “Julio deMesquita Filho”.
- DOS REIS, R. F.; GOES, A Y TIMMER, L. W. 2006. Effect of temperature, leaf wetness, and rainfall on the production of *Guignardia citricarpa* ascospores and on black spot severity on sweet orange. Fitopatología Brasileira. p. 029-034.
- ECVG. 2014. Instructivos Técnicos según el Esquema Tecnológico diseñado para el cultivo de los cítricos por la Empresa de Cítricos Victoria de Girón, Jagüey Grande. Formato digital.

- FAGAN, C. Y GOES, A. 1999. Efeito da severidade da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa* na queda prematura de frutos de laranja 'Natal'. Fitopatologia Brasileira. p. 282.
- FAGAN, C. Y GOES, A. 2000. Efeito da mancha preta dos frutos cítricos, causada por *Guignardia citricarpa* nas características tecnológicas do suco de frutos de laranjas 'Natal' e 'Valência'. Summa Phytopathologica. 26: 122.
- FAO. 2003. Exámen de los problemas fitosanitarios actuales relacionados con los cítricos y de las políticas aplicadas para afrontarlos. 13ª reunión. La Habana, Cuba 20-23 Mayo del 2003.
- FEICHTENBERGER, E. 1996. Mancha-preta dos citros no Estado de São Paulo. Laranja. p. 93-108.
- FEICHTENBERGER, E. Y BELLATO-SPOSITO, M. 2003. Mancha negra de los cítricos. Red Interamericana de cítricos. (21 y 22): 16-27.
- FEICHTENBERGER, E.; MÜLLER, G. W. Y GUIRADO, N. 1997. Doenças dos citros (*Citrus* spp.). In Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (eds.). Manual de Fitopatologia. 2. Doenças da Plantas Cultivadas. São Paulo, Ceres. p. 261-296.
- FEICHTENBERGER, E.; SPÓSITO, M. B. Y VIANNA, J. H. T. 2000. Tratamentos fungicidas no controle de mancha preta (*Guignardia citricarpa*) em laranjeira 'Valência'. Summa Phytopathologica. 26: 118.
- FUNDECITRUS. 1998. Manual técnico sobre pinta preta. Araraquara: Fundo Paulista de Defesa da Citricultura, (Boletim Técnico). p. 10.
- FUNDECITRUS. 2003. Manual técnico sobre pinta preta. Araraquara: Fundo Paulista de Defesa da Citricultura, (Boletim Técnico). p.10.
- FUNDECITRUS. 2005. Manual técnico sobre pinta preta. Araraquara: Fundo Paulista de Defesa da Citricultura, (Boletim Técnico). p.10.

- GARRÁN, S. M. 1996. Citrus black spot in the northeast of Entre Rios: etiology, epidemiology and control. Proceedings International Society Citriculture. 1: 466-470.
- GOES, A. DE; BARROS, J. C. DA S. M. DE Y PINHEIRO, J. E. 1990. Controle da pinta preta em frutos de tangerina Rio (*Citrus deliciosa*), ocasionada por *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*). Fitopatologia Brasileira. 15: 73-75.
- GOES, A. DE. 1998. Efeito da associação entre fungicidas sistêmicos y protetores no controle da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa*. Jaboticabal/SP. Folheto técnico. p. 6.
- GOES, A. DE. 2002. Efeito da combinação de diferentes fungicidas sistêmicos e protetores no controle da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa*. Summa Phytopathologica. (28): 09-13.
- GOES, A.; ANDRADE, A. G. E. Y MORETTO, K. C. K. 2000. Effect of different oil types on the benomyl + mancozeb mixture on the control of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. Summa Phytopathologica. (26): 233-236.
- 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.
- GROMÁS, M. S. Y MEDEROS, H. A. 2007. Empresa de Cítricos Victoria de Girón ¡Una exposición histórica! 1967-2005. Editorial Pueblo y Educación. p. 18.
- HERBERT, J. A. 1989. Citrus black spot. Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, Nelspruit. Citrus. p. 30.
- 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. Conferencia en Postgrado de Clasificación de suelo. p. 14.

- HERNÁNDEZ, C Y GÓMEZ, L 1981. Efecto de diferentes parámetros de aspersión de plaguicidas. *Ciencia Técnica Agrícola. Protección de plantas.* 4(2-3): 70.
- KELLERMAN, C. R. Y KOTZE, 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. 1948. Control and epiphytology of black spot of citrus on the central coast of New South Wales. New South Wales: Department of Agriculture Science, (Bulletin). p. 88.
- KIELY, T. B. 1948. Preliminary studies on *Guignardia citricarpa* 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. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). *Manual de fitopatologia: princípios e controle.* São Paulo: Agronômica Ceres. 1: 693-716.
- KLOTZ, L. J. 1978. Fungal, bacterial, and nonparasitic diseases and injuries originating in the seedbed, nursery, and orchard. In: REUTHER, W.; CALAVAN, E.C. & CARMAN, G.E. Ed. *The Citrus Industry.* Riverside, University of California. p. 1- 66.
- KOTZÉ, J. M. 1964. Studies on the black spot diseases of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely, with particular reference to its epiphytology and control at Labata. Pretoria, Tese Doutorado em Fitopatologia. 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. 1989. Black spot. In: WHITESIDE, J. O., GARNSEY, S. M., TIMMER, L. W. (eds). *Compendium of Citrus Disease.* 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.
- MCONIE, K. C. 1964. Orchard development and discharge of ascospores of *Guignardia citricarpa* and the onset of infection in relation to the control of citrus black spot. Phytopathology. 54: 1448-1453.
- MCONIE, K. C. 1967. Germination and infection of citrus by ascospores of *Guignardia citricarpa* in relation to control of black spot. Phytopathology. 57: 743-746.
- MEDEROS, H. A Y ABREU, A. L. 2007. Jagüey Grande una citricultura sobre piedras. Editorial Pueblo y Educación. 131 p.
- MENDEZ, D.; REIS, R. F. DOS.; MONTES DE OCA, A. G.; PEREIRA, G. T. Y GOES, A DE. 2005. Aspectos nutricionas e físicos no crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *Phyllosticta citricarpa* (= *Guignardia citricarpa*), agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. Summa Phytopathologica. 31: 349-352.
- 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). Tese para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Universidad de São Pulo.
- PARADELA FILHO, O.; LUIS DA SILVA, C.; FREITAS BATISTA, M.; DE ALMEIDA ALVAREZ, J. R. Y LUIS PARADELA, A. 2000. Eficiência de alguns fungicidas no controle da pinta preta (*Guignardia citricarpa*) em citros (*Citrus* sp). Campinas-SP. Secretaria de agricultura e abastecimento. p. 9.
- PÉREZ, M. C. H. 1995. Fenología de la Citricultura en Cuba. Curso Integral de Citricultura. Instituto de Investigaciones de Cítricos. p. 1-109.
- REGISTRO CENTRAL DE PLAGUICIDAS. 2007. Lista oficial de plaguicidas autorizados. p. 24-333.

- 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. p. 38-40.
- RIVADENEIRA, M.; RUEDA, R. Y RUEDA, N. 2013. Momento oportuno de aplicación de fungicidas sistémicos para el control de Mancha Negra de los citrus en el subtrópico argentino. V Congreso Argentino de Citricultura. [en línea]. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/momento-oportuno-de-aplicacion-de-fungicidas-sistemicos-para-el-control-de-mancha-negra-de-los-citrus-en-el-subtropico-argentino>. [Consulta: abril, 25 2016].
- RIVADENEIRA, M.; RUEDA, R. Y RUEDA, N. 2013. Momento oportuno de aplicación de fungicidas preventivos para el control de Mancha Negra de los Citrus en el subtrópico argentino. V Congreso Argentino de Citricultura. [en línea]. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/momento-oportuno-de-aplicacion-de-fungicidas-preventivos-para-el-control-de-mancha-negra-de-los-citrus-en-el-subtropico-argentino>. [Consulta: abril, 25 2016].
- RODRIGUEZ, V. A. Y MAZZA GAIAD, S. M. 1996. The effects of fungicide and fertilization on the control of black spot of citrus (*Guignardia citricarpa*). Proceedings International Society Citriculture. Sun City. 1: 482-484.
- RODRÍGUEZ, V. A.; AVANZA, M. M.; MAZZA, S. M. Y JIMÉNEZ, L. I. 2010. Efecto del pyraclostrobin en el control de mancha negra de los cítricos. Summa Phytopathologica. 36(4): 334-337.
- SAGARPA. 2013. (Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación). Ficha técnica no. 36. Mancha negra de los cítricos. *Guignardia citricarpa* Kiely. Centro Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria. Dirección general de Sanidad Vegetal. SENASICA. México. ISBN: 978-607-715-155-5. 22 p.

- SCHUTTE, G. C.; MANSFIELD, R. I. Y BEETON, K. V. 2003. Application of azoxystrobin for control of Benomyl – resistant *Guignardia citricarpa* on “Valencia” oranges in South Africa. *Plant Disease*. 87: 784-788.
- SCHUTTE, G. C.; BEETON, K. V. Y KOTZE, 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. p. 701.
- SPÓSITO, M. B. 2003. Dinâmica temporal e espacial da Mancha Preta (*Guignardia citricarpa*) e quantificação dos danos causados à cultura dos citrus. Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia, Área de Concentração. Fitopatologia. Universidad 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*) em laranjeira “Pera”. *Summa Phytopathologica*. 26(1): 119.
- STATISTICA, Versión 6.1, StatSoft, Inc. 2003.
- SUTTON, B. C. Y WATERSTON, J. M. 1966. *Guignardia citricarpa*, Kew: C.M.I., (Descriptions of Pathogenic fungi and bacteria. CAB International, Wallingford (GB). p. 85.
- TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M. Y GRAHAM, J. H. 2000. Compendium of citrus disease. 2ed., St Paul: APS Press. p. 92.
- TIMOSSI, A. J. 2000. Influência de fatores físicos no desenvolvimento do teleomorfo de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. Jaboticabal. Trabalho de Graduação. Universidade Estadual Paulista.
- VAN DER AA, H. A. 1973. Studies in Phyllosticta I. *Studies in Mycology*. (5): 1-110.

VICENT, A. Y GARCÍA-JIMÉNEZ, J. 2014. La mancha negra de los cítricos causada por *Phyllosticta citricarpa*. Descripción de la enfermedad y análisis de riesgos para la citricultura española [en línea]. Disponible en: <http://www.phytoma.com/tienda/articulos-editorial/301-258-abril-2014/7654-la-mancha-negra-de-los-ctricos-causada-por-phyllosticta-citricarpa-descripcin-de-la-enfermedad-y-analisis-de-riesgos-para-la-citricultura-espanola>. [Consulta: marzo 18, 2016].

8. ANEXOS

Anexo 1. Escala diagramática para la evaluación de la severidad de los daños.

Grado.	Superficie afectada (%)	Descripción de síntomas
0	0,0	Ausencia de lesiones en el fruto
1	0,8	De una a tres manchas pequeñas
2	1,6	De cuatro a seis manchas pequeñas o cuatro grandes
3	3,1	Manchas pequeñas espaciadas (aproximadamente 20)
4	6,2	Manchas grandes espaciadas (aproximadamente 20)
5	12,5	Manchas numerosas que ocupan la octava parte del fruto
6	25,0	Manchas numerosas que ocupan la cuarta parte del fruto

Anexo 2. Fechas de cosecha, floración y porcentaje de incidencia de la MNC.

Año	Ubicación	Fecha de cosecha anterior	Fecha de floración nueva	Porcentaje de daños
2014	A-12-1	12/1	18/3	1,94
	A-12-4	17/1	1/3	5,06
	A-19-2	8/2	1/3	1,51
	A-20-1	1/3	5/3	2,30
	T-24-4	25/4	30/3	37,26
	T-27-1	12/5	30/3	29,91
	T-26-2	16/5	26/3	55,48
	T-24-3	25/5	30/3	77,53
2015	A-12-1	17/1	28/3	0,74
	A-12-4	26/1	25/3	1,64
	A-19-2	11/2	27/3	0,98
	A-20-1	9/3	23/3	1,77
	T-26-2	20/4	28/3	24,19
	T-27-1	5/5	29/3	25,57
	T-24-3	23/5	30/3	80,74
	T-24-4	25/5	30/3	63,97

Nota. La cosecha se refiere a la fruta de la campaña anterior fuente de infección.

Anexo 3. Tratamientos fitosanitarios en campos de naranjo Valencia con diferentes fechas de cosecha durante los años 2014 y 2015.

Lotes	Productos, días y mes de aplicación por variante en cada lote			
T 26-2	Cuproflow 25/3	Cuproflow 10/5	Supreme 20/6	Supreme 28/8
A-12-1	Cuproflow 30/3	Benomil 27/4	Benomil 18/6	Folpán 9/9
A-12-4	Cuproflow 1/4	Benomil 30/4	Supreme 1/7	Folpán 11/9
A-19-2	Cuproflow 3/4	Benomil 2/5	Supreme 4/7	Folpán 12/9
A-20-1	Cuproflow 6/4	Benomil 6/5	Supreme 8/7	Folpán 14/9
T-24-3	Cuproflow 17/4	Benomil 24/6	Supreme 18/9	
T-27-1	Benomil 27/6	Supreme 19/8	Supreme 23/9	
T-24-4	Benomil 20/5	Supreme 22/9		

Anexo 4. Productos fitosanitarios utilizados por la empresa para el control de la MNC.

Nombre común	Nombre comercial
Oxicloruro de Cobre	Cuproflow SC 37.75
Mancozeb	Mancozeb PH 80
Benomil	Benomyl PH 50
Tebuconazol + Procloraz	Supreme EW 40
Aceite mineral emulsionable	Argenfrut RV CE 86
Folpet	Folpan PH 80