

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

**ALTERNATIVAS PARA A REDUÇÃO DE SINTOMAS DE MANCHA
PRETA DOS CITROS EM TANGERINAS PARA CONSUMO *IN NATURA***

Fernanda Varela Nascimento
Engenheira Agrônoma/UCS - CAMVA
Mestre em Fitotecnia - UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia
Ênfase Fitopatologia

Porto Alegre (RS), Brasil
Agosto de 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Nascimento, Fernanda Varela

Alternativas para a redução de sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas para consumo in natura / Fernanda Varela Nascimento. -- 2017.

102 f.

Orientador: Renar João Bender.

Coorientadora: Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. *Phyllosticta citricarpa*. 2. películas fotoprotetoras. 3. revestimentos comestíveis. 4. cera de carnaúba. 5. quitosana. I. Bender, Renar João, orient. II. Valdebenito-Sanhueza, Rosa Maria, coorient. III. Título.

FERNANDA VARELA NASCIMENTO
Engenheira Agrônoma - UCS
Mestre em Fitotecnia - UFRGS

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTOR EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 31.08.2017
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 03.07.2018
Por

RENAR JOÃO BENDER
Orientador - PPG Fitotecnia
UFRGS
Fitotecnia

CHRISTIAN BREDEMEIER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em

ROSA MARIA VALDEBENITO SANHUEZA
Coorientadora - Proterra Engenharia
Agronômica Ltda

SERGIO FRANCISCO SCHWARZ
PPG Fitotecnia/UFRGS

EDSON BERTOLINI
PPG Fitotecnia/UFRGS

LUCIMARA ROGÉRIA ANTONIOLLI
EMBRAPA Uva e Vinho
Bento Gonçalves/RS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade
de Agronomia

MURILO CESAR DOS SANTOS
UCS/RS

*Ao Padrinho Moreira (in memoriam)
Que me apoiou desde o início e que me apoia de algum lugar
Para concluir mais essa etapa.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades e pelas pessoas em minha vida.

Aos meus pais, Fatima e Fernando, pela liberdade de escolha e incentivo.

Ao meu irmão Fábio, pelo companheirismo.

Ao meu noivo Gustavo, pela parceria de sempre e por todo amor.

À madrinha Elina, pelo apoio e carinho.

Ao Prof. Renar João Bender, pela orientação, confiança e amizade.

À Dra. Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza, pelos ensinamentos e incentivo.

Ao amigo Gerson N. Böettcher e a sua família, por permitir a realização de parte desse trabalho na sua propriedade.

À Dra. Sandra Jussara Nunes da Silva, pela colaboração na realização desse trabalho.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Aos membros da banca examinadora Dr. Edson Bertolini, Dra. Lucimara Rogéria Antonioli, Dr. Murilo César dos Santos e Dr. Sérgio Francisco Schwarz por aceitarem o convite e pela relevante contribuição ao trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Horticultura e Silvicultura e do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Aos funcionários da Estação Experimental Agrônômica, especialmente ao Mateus, pelo apoio e disponibilidade.

Aos amigos e agregados do Laboratório de Pós-colheita, Flávia, Catherine, Daniel, Tâmmila, Marília, Tochico, Stefan, Bruno, Lucas, Gabriel, Gabriela, Aninha, pelo

auxílio, convivência e muitos cafés.

Aos colegas pós-graduandos, pela convivência e trocas de experiência.

Ao Dr. Lluís Palou e sua equipe do Centro de Tecnologia Pós-colheita do Instituto

Valenciano de Investigações Agrárias, pela acolhida em Valencia e por compartilharem seus conhecimentos sobre patologias de pós-colheita de frutos.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

ALTERNATIVAS PARA A REDUÇÃO DE SINTOMAS DE MANCHA PRETA DOS CITROS DE TANGERINAS PARA CONSUMO *IN NATURA*¹

Autor: Fernanda Varela Nascimento

Orientador: Renar João Bender

Coorientador: Rosa Maria Valdebenito Sanhueza

RESUMO

A citricultura está entre as principais atividades agrícolas do Brasil e do Rio Grande do Sul. Porém, diversos problemas fitossanitários acometem os cultivos sendo que a mancha ou pinta preta dos citros (*Phyllosticta citricarpa*) é uma das doenças fúngicas que tem causado preocupação e tem sido responsável pelo aumento do custo de produção. O fungo pode infectar os frutos ainda na fase inicial de desenvolvimento e os sintomas aparecem durante a maturação quando a casca muda de cor ou ainda podem manifestar-se em pós-colheita, geralmente na face exposta ao sol e ficam restritos ao flavedo comprometendo a aparência dos frutos e a sua comercialização para o mercado *in natura*. Assim, os objetivos desse trabalho foram caracterizar o início e progresso da doença nas tangerinas no RS e estudar a aplicação de películas fotoprotetoras e o uso de revestimentos comestíveis como formas alternativas para reduzir os sintomas de mancha preta dos citros em pós-colheita de tangerinas. Realizou-se um estudo nas condições da Depressão Central do Rio Grande do Sul, através da exposição de tangerinas em diferentes períodos durante dois ciclos para determinar períodos favoráveis à infecção. Películas fotoprotetoras à base de emulsão de cera de carnaúba ou com a adição de óxido de zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO₂) foram avaliadas em três experimentos. Em pós-colheita, foram testados revestimentos comestíveis à base de quitosana ou emulsão de carnaúba e, também, com a adição de sais com ação antimicrobiana: bicarbonato de sódio e metassilicato de sódio, em tangerinas ‘Caí’, ‘Rainha’ e ‘Montenegrina’. Do estudo observacional concluiu-se que não houve correlação entre a incidência da doença e a precipitação e temperatura e os frutos foram suscetíveis à infecção durante todo o seu desenvolvimento. Constatou-se que a aplicação de películas fotoprotetoras à base cera de carnaúba a 20% em tangerinas pode reduzir a incidência de mancha preta dos citros nas cvs. Montenegrina e Rainha, mas a adição de TiO₂ pode causar danos à casca de frutos e redução da atividade fotossintética. Assim, será necessário aprimorar as formulações e uso desses produtos para viabilizar essa técnica em diferentes cultivares. O uso de revestimentos comestíveis inibiu o aparecimento de lesões em pós-colheita de tangerinas ‘Caí’, porém não teve o mesmo efeito em ‘Rainha’ e ‘Montenegrina’. Indicando que é importante integrar essa prática a outras medidas de controle.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (102f.) Agosto, 2017.

ALTERNATIVES FOR REDUCTION OF CITRUS BLACK SPOT SYMPTOMS ON TANGERINES DESTINED FOR *IN NATURA* CONSUMPTION²

Author: Fernanda Varela Nascimento

Advisor: Renar João Bender

Co-advisor: Rosa Maria Valdebenito Sanhueza

ABSTRACT

The citrus industry is an eminent agribusiness in Brazil and in the state of Rio Grande do Sul. Yet, several phytosanitary problems affect the groves and citrus black spot (*Phyllosticta citricarpa*) is a disease that causes concern and is responsible for raising production costs. The fungus is capable to infect the fruit in the early stages of development, though symptoms may appear during ripening when peel color starts to change or only after harvest along handling procedures. The lesions befall the fruit peel, most commonly, at the sun-exposed side but are restricted to the flavedo compromising fruit appearance and, thus, rendering the fruit unattractive for fresh consumption markets. Therefore, the objectives of the present work were to characterize the starting point and the evolution of infection and to evaluate the application of photoprotective films and the use of edible coatings as alternatives to reduce the after harvest incidence of citrus black spot symptoms on tangerines. Under the conditions of the Depressão Central in the state of Rio Grande do Sul were conducted field studies along two harvesting seasons to settle on most likely disease infection periods. Field applications of photoprotective films based on carnauba wax emulsions complemented with zinc oxide (ZnO) or titanium dioxide (TiO₂) were evaluated in three experiments. In the postharvest trials, the application of edible coatings based on chitosan or carnauba wax emulsion complemented with antimicrobial salts such as sodium bicarbonate or sodium metassilicate were evaluated on fruits of the cultivars Caí, Rainha and Montenegrina. From the observational study, it was possible to conclude that the prevailing period of *P. citricarpa* infection is during physiological small fruit drop, but there was no correlation with the temperature and precipitation. The application of photoprotective films may reduce the incidence of citrus black spot symptoms, however, when titanium dioxide is added to the spray solution a reduction in photosynthetic activity of the plants was determined and fruit evidenced peel damages. Therefore, it is imperative to improve the formulations and its use headed to the usefulness of the application to different cultivars. The postharvest application of edible coatings inhibited the appearance of citrus black spot symptoms on cv. Caí fruit, but did not have the same effect on 'Rainha' and 'Montenegrina' fruit indicating that is important to integrate that technique with other control practices.

² Doctoral thesis in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (102p.) August, 2017.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO GERAL.....	4
2.1 Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1.Citricultura – Cultura das tangerineiras.....	5
3.2.Mancha preta dos citros (MPC).....	6
3.3.Métodos alternativos de controle de MPC.....	11
3.3.1 Quisana.....	13
3.3.2 Cera de carnaúba.....	14
3.3.3 Filtros inorgânicos – óxido de zinco e dióxido de titânio.....	15
3.4.Referências Bibliográfica.....	17
4.CAPÍTULO I – Monitoramento dos períodos de infecção de <i>Phyllosticta citricarpa</i> em tangerinas cv. Montenegrina na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul.....	23
4.1.Introdução.....	24
4.2.Material e Métodos.....	26
4.3.Resultados e Discussão.....	28
4.4.Conclusão.....	35
4.5.Referências Bibliográficas.....	35
5.CAPÍTULO II – Películas à base de cera de carnaúba com filtros solares inorgânicos para reduzir mancha preta dos citros em tangerinas.....	38
5.1.Introdução.....	39
5.2.Material e Métodos.....	41
5.3.Resultados e Discussão.....	45
5.4.Conclusão.....	55
5.5.Referências Bibliográficas.....	56
6.CAPÍTULO III – Efeito do uso de revestimentos comestíveis sobre a incidência de mancha preta dos citros e na qualidade de tangerinas em pós-colheita.....	58

	Página
6.1.Introdução.....	59
6.2.Material e Métodos.....	61
6.3.Resultados e Discussão.....	64
6.4.Conclusões.....	72
6.5.Referências Bibliográficas.....	73
7.CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	77
8. APÊNDICE.....	79

RELAÇÃO DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

1. Coeficientes de correlação entre a incidência de sintomas de mancha dura dos citros em tangerinas e as variáveis meteorológicas durante a safra 2014/15. Porto Alegre, 2017. 31
2. Coeficientes de correlação entre a incidência de sintomas de mancha dura dos citros em tangerinas e as variáveis meteorológicas durante a safra 2015/16. Porto Alegre, 2017. 33

CAPÍTULO II

1. Experimentos com películas fotoprotetoras para redução de MPC em tangerinas. Porto Alegre, 2017..... 45
2. Análise de contrastes da incidência de diferentes sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas ‘Rainha’ pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras. Porto Alegre, 2017..... 47
3. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba com diferentes filtros inorgânicos sobre a acidez titulável e o teor de sólidos solúveis no suco de tangerinas cv. Rainha. Porto Alegre, 2017..... 48
4. Análise de contrastes para índice de cor da casca de tangerinas ‘Rainha’ pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras. Porto Alegre, 2017..... 49
5. Efeito da aplicação de películas fotoprotetoras à base de emulsão de carnaúba com diferentes filtros inorgânicos sobre a atividade fotossintética, condutância estomática e produção de tangerineiras ‘Rainha’. Porto Alegre, 2017..... 50
6. Análise de contrastes para fotossíntese e produção de tangerineiras ‘Rainha’ pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras. Porto Alegre, 2017..... 51
7. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba com diferentes filtros inorgânicos sobre os atributos físico-químicos de tangerinas cv. Rainha. Porto Alegre, 2017..... 52

8. Análise de contrastes da incidência de mancha preta dos citros em tangerinas ‘Montenegrina’ pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras e inoculadas artificialmente. Porto Alegre, 2017..... 53

CAPÍTULO III

1. Experimentos realizados com o uso de revestimentos comestíveis em pós-colheita em tangerinas. Porto Alegre, 2017..... 63
2. Perda de massa (%) de tangerinas cv. Caí tratadas com diferentes revestimentos após armazenamento refrigerado, Porto Alegre, 2017..... 65
3. Coloração da epiderme de tangerinas cv. Caí tratadas com diferentes revestimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 35 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Porto Alegre, 2017..... 65
4. Acidez titulável e teor de sólidos solúveis do suco de cv. Caí com diferentes revestimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 35 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Porto Alegre, 2017..... 66
5. Incidência de doenças em pós-colheita de tangerinas cv. Caí com diferentes revestimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 35 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Porto Alegre, 2017..... 67
6. Cor da epiderme e perda de massa de tangerinas cv. Rainha tratadas com diferentes revestimentos, após armazenamento refrigerado por 30 dias, Porto Alegre, 2017..... 67
7. Acidez titulável e teor de sólidos solúveis do suco de tangerinas cv. Rainha tratadas com diferentes revestimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, Porto Alegre, 2017..... 68
8. Incidência de doenças em pós-colheita de tangerinas cv. Rainha com diferentes recobrimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, Porto Alegre, 2017..... 68
9. Cor da epiderme e perda de massa de tangerinas cv. Montenegrina submetidas a diferentes tratamentos em pós-colheita, após armazenamento refrigerado por 30 dias, Porto Alegre, 2017..... 69
10. Incidência de doenças em tangerinas ‘Montenegrina’ submetidas a diferentes tratamentos em pós-colheita, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, Porto Alegre, 2017..... 70

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Fruto com sintoma de mancha preta dos citros (<i>Phyllosticta citricarpa</i>) do tipo mancha dura. Porto Alegre, 2017.....	8
 CAPÍTULO I	
1. Tangerinas com diferentes tipos de sintoma de mancha preta dos citros. Mancha dura (esquerda); Falsa melanose (direita). Porto Alegre, 2017.....	28
2. Incidência de diferentes sintomas de mancha preta dos citros de tangerinas ‘Montenegrina’ em diferentes janelas de infecção em relação aos dados médios de temperatura (A), precipitação acumulada (B) e soma térmica dos dias com ocorrência de precipitação (C) durante a safra 2014/2015 (Exp – Expostos; Prot – Protegidos). Porto Alegre, 2017.....	30
3. Incidência de diferentes sintomas de mancha preta dos citros de tangerinas ‘Montenegrina’ em diferentes janelas de infecção em relação aos dados médios de temperatura (A), precipitação acumulada (B) e soma térmica dos dias com ocorrência de precipitação (C) durante a safra 2015/2016 (Exp – Expostos; Prot – Protegidos). Porto Alegre, 2017.....	32
 CAPÍTULO II	
1. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos sobre a incidência de sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Rainha. C – controle, E – emulsão de cera de carnaúba. Porto Alegre, 2017.....	46
2. Índice de cor da casca de tangerinas cv. Rainha pulverizadas com produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos. C – Controle, E – Emulsão de cera de carnaúba. Porto Alegre, 2017.....	49
3. Danos na casca de tangerinas ‘Rainha’ causadas pela aplicação de películas fotoprotetoras à base de emulsão de carnaúba suplementada com dióxido de titânio T (nano-partículas). Porto Alegre, 2017.....	51

4. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos sobre a incidência de sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Rainha. ANOVA (p) – Incidência de sintomas (0,0966); Tipo falsa melanose (0,0710); Tipo mancha dura (0,9344). Porto Alegre, 2017..... 52
5. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos sobre a incidência de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Montenegrina inoculadas artificialmente. Porto Alegre, 2017..... 53

1 INTRODUÇÃO

A citricultura está entre as principais atividades agrícolas do Brasil, destacando-o como o país que mais produz laranja, principalmente para a produção de suco. Também, está entre os países que mais produzem outras frutas cítricas, como o grupo das tangerinas, mandarinas, clementinas, satsumas e o grupo das limas e limões. No estado do Rio Grande do Sul, a citricultura tem um importante papel econômico e social, sobretudo a produção de tangerinas voltada ao consumo *in natura*.

Entretanto, os citricultores gaúchos enfrentam diversos obstáculos, sendo que os problemas fitossanitários são os que mais oneram o custo de produção e afetam a qualidade dos frutos. A mancha preta dos citros ou pinta preta dos citros (*Phyllosticta citricarpa*) é a doença fúngica que tem causado maior preocupação ao setor, porque o principal método de controle utilizado é a aplicação de fungicidas sintéticos, mas em alguns casos tem sido pouco efetivo.

O Vale do Caí destaca-se como a principal região produtora, sendo que as tangerinas do grupo das bergamotas ou mexericas (*Citrus deliciosa* Tenore) são as mais cultivadas, principalmente ‘Montenegrina’ e ‘Caí’. Essas cultivares são bastante suscetíveis à *P. citricarpa*, mas há poucos estudos em relação à doença e não há informações sobre os aspectos epidemiológicos da doença no Rio Grande do Sul.

Em áreas onde existe alta pressão de inóculo do fungo, a infecção pode

acentuar a queda precoce de frutos jovens. Além disso, as infecções podem ocorrer durante os estádios iniciais de desenvolvimento dos frutos, e o fungo pode permanecer quiescente, manifestando os sintomas apenas nos estádios de maturação ainda no campo ou na pós-colheita, comprometendo assim a aparência destes frutos e a sua comercialização.

Para isso, é necessário o desenvolvimento de técnicas e produtos seguros que possam ser utilizadas em pré ou pós-colheita, capazes de reduzir a infecção e colonização das tangerinas e a conseqüente perda de qualidade dos frutos. Além disso, é importante conhecer os aspectos ambientais de cada local que influenciam o fungo *P. citricarpa*, para que as medidas de controle da doença sejam efetuadas no momento adequado e de forma mais eficiente.

Constantemente, tem se buscado alternativas de controle de pragas e doenças de plantas que possam auxiliar na redução do uso de pesticidas na produção agrícola em geral. Há uma conscientização acerca dos efeitos nocivos dos resíduos e uma preocupação crescente, não só pela saúde do consumidor, mas pela segurança e preservação ambiental.

Uma técnica que vem sendo estudada é a tecnologia de filmes com partículas inertes, que consiste em uma formulação aquosa para aplicação nas plantas capaz de formar uma película protetora contra danos de insetos, patógenos ou queimaduras causadas pelo sol. No caso da mancha preta dos citros, a radiação solar parece ser um fator que promove o desenvolvimento do fungo *P. citricarpa* e contribui para uma maior ocorrência de sintomas. Assim, a utilização de filmes com partículas em tangerinas, além de conferir uma barreira física de proteção contra a infecção do fungo, também poderia reduzir a incidência dos raios solares na superfície do fruto já

infectado, inibindo o desenvolvimento do patógeno e o aparecimento dos sintomas.

O período de incubação dessa doença pode ser bem extenso (≈ 200 dias) e os sintomas podem surgir no período de maturação do fruto ou durante a pós-colheita. Nesse caso, o uso de revestimentos comestíveis com ação antimicrobiana poderia auxiliar no controle da mancha preta dos citros. Esses revestimentos são produzidos a partir de substâncias, como a quitosana e a cera de carnaúba, capazes de formar um filme sobre a epiderme do fruto, que podem retardar a sua deterioração. Atuam como veículo de aditivos antimicrobianos ou, então, podem apresentar atividade microbiana como no caso da quitosana.

Dessa forma, realizaram-se esses estudos para avaliar o efeito dessas técnicas sobre a mancha preta dos citros em tangerinas para consumo *in natura*. Para isso, foram desenvolvidos filmes de partículas para aplicação no pomar, constituídos de emulsão de cera de carnaúba, suplementados com os filtros solares inorgânicos óxido de zinco e dióxido de titânio, que apresentam capacidade de formar uma película protetora que reduz a radiação solar incidente na superfície dos frutos. Também, foi avaliado o efeito do uso revestimentos comestíveis em pós-colheita de tangerinas, formulados à base de emulsão de cera de carnaúba e quitosana, com ou sem adição de substâncias que apresentam atividade antimicrobiana, como bicarbonato de sódio e metassilicato de sódio.

2 OBJETIVO GERAL

Estudar alternativas de proteção das frutas para reduzir os sintomas de mancha preta dos citros (MPC) em pós-colheita de tangerinas destinadas ao consumo *in natura*.

2.1 Objetivos específicos

- Caracterizar o início e progresso da MPC nas tangerinas na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul.
- Estudar o efeito da aplicação de películas fotoprotetoras à base de cera de carnaúba de filtros inorgânicos sobre a incidência de MPC.
- Avaliar a influência do uso em pós-colheita de revestimentos comestíveis à base de quitosana e cera de carnaúba no aparecimento de sintomas oriundos de infecções latentes de MPC em tangerinas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Citricultura - Cultura de Tangerineiras

De acordo com os dados de produção de 2014, o Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, seguido de China, Índia e Estados Unidos. Em relação à produção de tangerinas, mandarinas, clementinas e satsumas, o Brasil é o quarto maior produtor, ficando atrás da China, Espanha e Turquia (FAOSTAT, 2017). A maior parte da produção de laranjas é destinada para a indústria de suco, enquanto que as tangerinas, mandarinas, clementinas e satsumas são consumidas *in natura*.

A citricultura é uma atividade que tem grande importância econômica e social para o estado do Rio Grande do Sul, especialmente o cultivo de tangerineiras. A citricultura de mesa proporciona empregos diretos a pessoas e familiares que estão fixadas no meio rural, além disso, gera empregos em atividades correlatas, como transporte, comercialização, indústria de sucos e óleos essenciais (Koller & Schäfer, 2009).

De acordo com dados de 2015, o estado do Rio Grande do Sul ocupa a quarta posição na produção de tangerinas no Brasil, ficando atrás de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. A área colhida, no entanto, é a segunda maior. São 11.101 ha com um rendimento de 11.840 kg·ha⁻¹, enquanto São Paulo que é o estado que possui a maior área colhida, 11.354 ha, apresenta um rendimento de 31.278 kg·ha⁻¹ (IBGE, 2017).

A citricultura é praticada em diversas regiões do Rio Grande do Sul, principalmente no Vales do Caí e Taquari, regiões Norte, Nordeste, Campanha Gaúcha e Fronteira Oeste. O Vale do Caí é a principal região produtora, destacando-se pelo cultivo de tangerinas do grupo das bergamotas ou mexericas (*Citrus deliciosa* Tenore), sendo mais tradicionais as cultivares Montenegrina e Caí (Oliveira *et al.*, 2016).

Os problemas fitossanitários estão entre as principais dificuldades enfrentadas pelos citricultores gaúchos, que podem reduzir o rendimento da cultura. Com destaque para a ocorrência de doenças fúngicas, incluindo-se a pinta preta ou mancha preta dos citros (MPC), causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa* (Pandolfo, 2011). Esta doença atinge as principais variedades comerciais de citros, o que implica no aumento do custo de produção e ao risco de contaminação, devido à necessidade de controle com fungicidas (Silva, 2013).

3.2 Mancha Preta dos Citros (MPC)

A MPC foi descrita pela primeira vez na Austrália em 1895, mais tarde, na China (1920), Argentina (1928), África do Sul (1929) e no Brasil (1980). Mais recentemente, em 2010, foi relatada a introdução do patógeno nos Estados Unidos (Carstens *et al.*, 2017). O agente causal é o fungo ascomiceto *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa. A sua reprodução pode ocorrer de forma assexuada ou sexuada, por isso, o fungo era denominado pelo binômio *Guignardia citricarpa* Kiely (teleomorfo) e *P. citricarpa* (anamorfo). Porém, a nomenclatura binomial dos fungos foi abolida em 2011 (“Melborne Code”), sendo priorizado o nome da forma com a qual o fungo foi inicialmente descrito. No caso da MPC, a forma assexuada foi descrita antes da sexuada, então o patógeno passou a ser designado exclusivamente

por *P. citricarpa* (Silva Júnior *et al.*, 2016).

Assim, a ocorrência da doença pode ter início tanto em picnidiosporos (conídios) presentes em picnídios formados nas lesões existentes nos frutos maduros, ramos e folhas caídas no solo, como nos ascósporos produzidos nos pseudotécios que se desenvolvem apenas nas folhas em decomposição (Spósito *et al.*, 2011). A alternância entre períodos de molhamento e secamento das folhas, bem como, a amplitude térmica entre o dia e a noite são condições ótimas para a maturação dos pseudotécios (Kotzé, 1981; Rossetto *et al.*, 2011; Fourie *et al.*, 2013).

Os ascósporos são disseminados pelo vento a distâncias de até 2,5 Km, enquanto os conídios necessitam de molhamento para dissolver a mucilagem que os envolve nos picnídios. Em contato com o tecido do hospedeiro, ocorre a germinação formação do apressório e da hifa de penetração (*peg*) que perfura e penetra a cutícula diretamente, formando novas hifas e, conseqüentemente, produzindo sintomas (Kotzé, 1981; Feichtenberger *et al.*, 2005).

Os principais sintomas são as lesões na casca de frutos cítricos (laranjas doces, limões, tangerinas e seus híbridos), que ficam restritas ao flavedo e não afetam a qualidade interna do fruto. Em ataques mais severos, podem ser observadas lesões em ramos, folhas e queda acentuada dos frutos jovens, reduzindo significativamente a produção (Scaloppi *et al.*, 2012).

São descritos seis tipos de sintomas em frutos: mancha preta ou dura, é o sintoma mais comum, a lesão possui um halo saliente de coloração marrom escura, o centro é deprimido e cinza. No interior das lesões, encontram-se pontuações negras, que são os picnídios (Figura 1); mancha sardenta, caracterizada por lesões deprimidas e avermelhadas que podem aparecer em pré-colheita ou, mais

comumente, em pós-colheita, também pode haver formação de picnídios no seu interior; mancha virulenta, é consequência do crescimento e coalescência das lesões dos dois tipos anteriores; falsa melanose, são lesões pequenas, lisas, numerosas e de cor negra, semelhantes às de melanose (*Diaporthe citri* F. A. Wolf); mancha trincada caracteriza-se pela presença de manchas superficiais, irregulares, lisas e de tamanho variado, que inicialmente, têm aspecto oleoso e evoluem para a coloração escura, com a maturação dos frutos, a casca apresenta trincas ou fissuras; mancha rendilhada, é considerada uma variação do sintoma tipo falsa melanose, caracterizada pela presença de lesões superficiais, sem borda definida, e textura lisa, que aparecem quando os frutos ainda estão verdes (Silva-Pinhati *et al.*, 2009).



FIGURA 1. Fruto com sintoma de mancha preta dos citros (*Phylosticta citricarpa*) do tipo mancha dura. Porto Alegre, 2017.

Apesar dos sintomas ficarem restritos ao flavedo, as lesões depreciam a aparência da fruta destinada ao mercado para consumo *in natura* e, ainda, restringe a exportação para países da União Europeia onde a doença é considerada praga quarentenária A1 (EFSA PLH Panel, 2016). Já foi relatada a presença de *P.*

citricarpa em folhas assintomáticas caídas de *Citrus sinensis* e *C. limon* na Itália, Malta e Portugal, entretanto os isolados não foram obtidos em áreas de cultivo comercial e não estavam associados a sintomas da doença (Guarnaccia *et al.*, 2017).

O fato de o fungo *P. citricarpa* estar presente na Europa e não estar causando a MPC pode ser devido às condições climáticas da região do Mediterrâneo que não favorecem o seu estabelecimento (Magarey *et al.*, 2015). Esse tema tem gerado discussões, enquanto pesquisadores da África do Sul, Austrália, Brasil e Estados Unidos defendem que os frutos comercializados não oferecem uma ameaça para a introdução da doença na Europa, os pesquisadores da Espanha tentam mostrar que há risco e que é necessário manter barreiras fitossanitárias à importação (Fourie *et al.*, 2017; Martínez-Minaya *et al.*, 2017).

Uma das principais características da MPC é o seu longo período de incubação. A infecção pode ocorrer desde o crescimento inicial do fruto, mas os sintomas só aparecem a partir da fase de transição entre a cor verde de casca e a maturação e, em alguns casos, manifestam-se durante o armazenamento e transporte (Caixeta *et al.*, 2008). Quando a infecção ocorre no início do desenvolvimento de laranjas ‘Valência’ pequenas, com aproximadamente 15 mm de diâmetro, o início do aparecimento dos sintomas pode ser superior a 200 dias, entretanto, se a infecção ocorre no fruto próximo à maturação (> 50 mm de diâmetro) o período de incubação pode ser menor que 30 dias (Aguiar *et al.*, 2012).

Segundo Kotzé (1981) ocorre maior desenvolvimento de lesões em frutos expostos a altas intensidades de luz na comparação com frutos que ficam sombreados, bem como, aparecem mais sintomas no lado do fruto mais exposto à luz. Ainda, o autor relata que a incidência de lesões em frutas localizadas nas

metades superiores das copas é três vezes maior do que nas frutas das metades inferiores de copas de plantas velhas. A explicação para esta situação de distribuição de incidência é o fato que os frutos ficam mais expostos à luz devido à menor quantidade de folhas da camada superior. Também foi observado por Kotzé (1981) que, na África do Sul, ocorrem significativamente mais sintomas de MPC no lado da planta voltado para o norte do que no lado voltado para o sul.

No Brasil, estudos relacionando a severidade de MPC com a posição solar e o alinhamento de plantio do pomar indicam que frutos oriundos de pomares implantados no alinhamento NE-SO, em que as faces dos frutos voltadas para o noroeste e sudeste ficam mais expostas, apresentam níveis de severidade mais elevados que no alinhamento N-S, onde as faces dos frutos mais expostas são voltadas para o leste e oeste (Andrade *et al.*, 2009).

Em testes *in vitro*, constatou-se que houve maior produção de pseudotécios e ascósporos de *P. citricarpa* nas placas incubadas sob fotoperíodo de 12 horas e luz contínua que aquelas que ficaram incubadas no escuro. Esta observação evidencia que a luminosidade é um fator que pode influenciar a disseminação e o processo infeccioso do fungo, pois favorece a formação dos propágulos (Timossi *et al.*, 2003).

Também, Gonzatto (2009) observou uma redução de 17% da incidência de MPC em laranjas ‘Valência’ cultivadas em sistema agroflorestal em relação ao cultivo de plantas sob sol. Segundo o autor isso aconteceu devido à atenuação da radiação solar transmitida ao nível dos frutos, por causa do sombreamento sobre a copa da planta cítrica ou, então, pelo efeito indireto sobre o processo de maturação mais tardio observado nos frutos de laranjeira ‘Valência’ sob sistema agroflorestal.

O uso de fungicidas é o principal método empregado para o controle de MPC,

mas o custo dos tratamentos fitossanitários é elevado e já existem relatos de isolados de *P. citricarpa* resistentes (Rodrigues *et al.*, 2007; Fialho, 2008; Possiede *et al.*, 2009). Portanto, a otimização de pulverizações entre fungicidas cúpricos e estrobilurinas é o que tem sido realizado para reduzir a incidência da doença nos pomares comerciais e, se esse manejo não for adequado, pode implicar em uma alta pressão de seleção de resistência a essas moléculas (Silva Júnior *et al.*, 2016).

Existe, então, a necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos de controle, como o desenvolvimento de técnicas de manejo e o uso de substâncias mais específicas que não impliquem em riscos para saúde humana e não interfiram, de mesmo modo, no ambiente.

3.3 Métodos alternativos de controle de MPC

Devido às características biológicas do fungo *P. citricarpa* e a dinâmica da MPC, é imperativa a necessidade de adotar de medidas de controle integradas com o objetivo de minimizar os danos causados pela doença, visando interromper ou a desacelerar o progresso da doença (Scaloppi *et al.*, 2012). As medidas que conduzem à aceleração da decomposição das folhas caídas podem inibir a formação de pseudotécios e, conseqüentemente, reduzir a fonte de inóculo apresentado pelos ascósporos (Bellotte *et al.*, 2009). Também, alguns agentes biológicos têm demonstrado ação antagonista *in vitro* ao fungo *P. citricarpa*, como é o caso de *Saccharomyces cerevisiae* e de *Trichoderma* sp. (Fialho *et al.*, 2010; Lima, 2016).

Outra estratégia alternativa para o controle de *P. citricarpa* é o uso de produtos em pré e pós-colheita compostos por substâncias considerados como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), ou seja, seguras para o uso em alimentos (Palou *et al.*, 2016; FDA, 2017). Neste caso, se inclui o uso de filmes com partículas inertes,

que podem reduzir os danos por insetos e fitopatógenos, por formar uma barreira física à infecção no campo (Sharma *et al.*, 2015). Ou, ainda, que podem ser utilizados como revestimentos comestíveis em pós-colheita, capazes de manter a qualidade do fruto e exercer atividade antimicrobiana (Assis & Britto, 2014).

A tecnologia do filme de partículas consiste na formação de uma camada de partículas ligadas à superfície dos frutos e das folhas, que tem como objetivo controlar pragas, doenças e estresses abióticos. Algumas substâncias como o caolín, por exemplo, são capazes de formar uma cobertura branca que reflete a radiação incidente, podendo reduzir o estresse provocado pelas altas temperaturas e a queima do sol (D'Aquino *et al.*, 2011; Smedt *et al.*, 2015).

Os revestimentos comestíveis podem formar barreiras contra a perda de água e trocas gasosas, conferir uma proteção mecânica capaz de minimizar a deterioração do alimento e, prolongar a vida de prateleira do fruto (Alleoni *et al.*, 2006). Elas devem ser invisíveis, ter boa aderência para que não seja removido facilmente no manuseio e não pode alterar o sabor do fruto (Assis & Leoni, 2003).

A utilização de filmes e revestimentos comestíveis demonstra ser uma técnica eficaz na preservação de frutas e hortaliças, pois mantém os seus parâmetros qualitativos como a aparência de frescor, a firmeza e o brilho (Villadiego *et al.*, 2005). Os estudos sobre esse tema têm dado enfoque ao uso de biopolímeros, como proteínas, polissacarídeos e lipídios como base para a sua síntese (Palou *et al.*, 2015; Coltelli *et al.*, 2016). Dentre esses, a quitosana e a cera de carnaúba em filmes e revestimentos comestíveis apresentam potencial para uso em pós-colheita de frutos cítricos (Arnon *et al.*, 2014; Montero *et al.*, 2015). Também, podem atuar como veículo de aditivos com ação antimicrobiana, como o bicarbonato de sódio e o

metassilicato de sódio, que já se mostraram eficientes para reduzir a incidência de podridões causadas por *Penicillium* spp. em frutos cítricos conforme conclusões de Liu *et al.* (2010) e Montero *et al.* (2015).

3.3.1 Quitosana

A quitosana, derivada da quitina presente no exoesqueleto dos crustáceos, é um biopolímero que possui propriedades de biocompatibilidade, bioatividade, biodegradabilidade, atividade antimicrobiana e baixa toxicidade para humanos e animais (Bautista-Baños *et al.*, 2006; Shiekh *et al.*, 2013). Conforme estudos realizados recentemente, a quitosana tem demonstrado um potencial para aplicação na agricultura (Santos *et al.*, 2008; Berger *et al.*, 2011). Devido a sua capacidade de formar um recobrimento semipermeável, que pode prolongar a vida pós-colheita dos frutos, pois minimiza a taxa de respiração e, assim, pode reduzir a perda de água. Essa capacidade associada à sua ação antifúngica, constitui uma ferramenta importante para uso em pós-colheita de frutas frescas (Bautista-Baños *et al.*, 2017).

De acordo com Rabea *et al.* (2003), a ação antimicrobiana da quitosana se deve principalmente a esses mecanismos: interação entre a quitosana positivamente carregada e as membranas celulares dos microrganismos negativamente carregados, que leva ao vazamento do conteúdo proteico e outros componentes intracelulares. A quitosana age como agente quelante que se liga seletivamente a traços de metais e inibe a produção de toxinas e o crescimento microbiano e a ligação com DNA e a inibição da síntese do mRNA ocorre via penetração da quitosana no núcleo dos microrganismos e interfere na síntese do mRNA e de proteínas.

Nos estudos realizados por Rapussi *et al.* (2009; 2011), a quitosana apresentou efeito antifúngico *in vitro* sobre *P. citricarpa* e potencial para controlar o

desenvolvimento de lesões de MPC em pós-colheita de laranjas ‘Valencia’ e ‘Pera-Rio’, pois estimulou respostas de defesa na epiderme do fruto. O efeito antimicrobiano da quitosana pode ser potencializado quando associada a outros métodos de controle (Devlieghere *et al.*, 2004). Entretanto, ainda são necessários alguns estudos para elucidar como ocorre o processo de inibição do fungo e como pode ser aplicado em pós-colheita de citros.

3.3.2 Cera de carnaúba

A cera de carnaúba é obtida das folhas da carnaubeira (*Copoernica cerifera*) e se caracteriza por apresentar alto ponto de fusão e também é utilizada em misturas com outras ceras para aumentar a resistência e o brilho (Dhall, 2013).

A cera de carnaúba é considerada uma substância GRAS, por isso, pode ser utilizada em revestimentos de frutas e vegetais para consumo fresco com o objetivo de melhorar a aparência, conferindo brilho e reduzindo a perda de umidade e de compostos voláteis (Hagenmaier & Baker, 1994). Além disso, pode ser utilizada como veículo de aditivos antimicrobianos. No trabalho realizado por Pinheiro (2012), com caju e goiaba, verificou-se que o uso de revestimentos à base de cera carnaúba com aditivos antimicrobianos diminuiu a velocidade dos processos metabólicos nas frutas e controlou a população de bactérias aeróbias mesófilas, fungos filamentosos e leveduras durante o armazenamento a 10°C.

Foi possível manter as propriedades físico-químicas e reduzir a perda de massa de laranjas ‘Valencia’ armazenadas em temperatura ambiente (24 °C) e baixa umidade relativa do ar (40%), através da aplicação de revestimento à base de cera de carnaúba. Prolongando a conservação em pós-colheita por até 28 dias nessas condições (Pereira *et al.*, 2014).

Outra propriedade da cera de carnaúba é que em sua constituição apresenta cinamatos, que são filtros solares orgânicos com conhecida capacidade de absorver raios UV (Stiefel & Schwack, 2015). Portanto pode ser utilizada em formulações junto com constituintes inorgânicos físicos para reduzir danos causados em frutas pelo sol (Schrader, 2011).

A radiação solar, associada a temperaturas elevadas, favorece a manifestação dos sintomas de MPC causados por *P. citricarpa* (Silva Júnior *et al.*, 2016). Assim como afirmaram Kotzé (1981) e Gonzatto (2009), que os frutos mais expostos ao sol apresentam maior incidência de sintomas. Portanto, o uso de emulsão de cera de carnaúba com filtros inorgânicos deve ser avaliado como controle de MPC, pois além de constituir uma barreira física à penetração do fungo, é capaz de inibir a radiação incidente na superfície do fruto.

3.3.3 Filtros inorgânicos – óxido de zinco e dióxido de titânio

Os filtros inorgânicos têm um efeito fotoprotetor suplementar, uma vez que são constituídos de partículas que ficam suspensas, podendo ser adicionados em emulsões ou soluções filmogênicas para aumentar a proteção (Flor *et al.*, 2007). Dentre os filtros inorgânicos disponíveis, estão o óxido de zinco (ZnO) e o dióxido de titânio (TiO₂). Ambos são capazes de refletir e dispersar as radiações UV visível por meio de barreira opaca originada pelo filme de partículas (Balogh *et al.*, 2011).

O óxido de zinco é considerado uma substância GRAS pelo *Food and Drug Administration* (FDA, 2017) e pode ser utilizado para fortificação de alimentos, principalmente em cereais. É caracterizado por ser um pó branco, de preço baixo e não causa problemas organolépticos em pequenas quantidades (Boccio & Monteiro, 2004).

O dióxido de titânio é registrado como aditivo alimentar (corante inorgânico) com a função de conferir coloração branca a superfícies. Pode ser utilizado em drágeas, confeitos e similares, preparados sólidos para refrescos e refrigerantes (Oliveira *et al.*, 2006). Dessa forma, tanto o óxido de zinco como o dióxido de titânio poderiam ser utilizados em aplicações em frutos sem oferecer riscos ao consumo e ao ambiente.

3.4 Referências

- AGUIAR, R. L. et al. Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em diferentes estádios fenológicos de frutos de laranjeira 'Valência'. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 155-158, 2012.
- ALLEONI, A. C. C.; JACOMINO, A. P.; ROSA, A. S. Recobrimento de laranja 'Pêra' com filme concentrado protéico de soro de leite associado a plastificantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 8, p. 1221-1226, 2006.
- ANDRADE, A. G.; PIMENTA, A. A.; GOES, A. Influência do alinhamento de plantio na severidade da mancha-preta-dos-citros, produção e qualidade do suco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1033-1041, 2009.
- ARNON, H. et al. Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 87, p. 21-26, 2014.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.
- ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Biofilmes comestíveis de quitosana: ação biofúngica sobre frutas fatiadas. **Biociência, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, p. 33-38, 2003.
- BALOGH, T. S. et al. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 4, p. 732-742, 2011.
- BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, Guildford, v. 25, n. 2, p. 108-118, 2006.
- BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest: a review. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, Chapingo, v. 23, n. 2, p. 103-121, 2017.
- BELLOTTE, J. A. M. et al. Acceleration of the decomposition of Sicilian lemon leaves as an auxiliary measure in the control of citrus black spot. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 2, p. 71-76, 2009.
- BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, N. P. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, País Vasco, v. 12, n. 4, p. 195-215, 2011.
- BOCCIO, J.; MONTEIRO, J. B. Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. **Revista de Nutrición**,

Campinas, v. 17, n. 1, p. 71-78, 2004.

CAIXETA, M. P. et al. Caracterização morfofisiológica e identificação molecular de isolados de *Guignardia citricarpa*, agente patogênico da mancha preta dos citros. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, supl., p. 625-630, 2008.

CARSTENS, E. et al. A global perspective on the population structure and reproductive system of *Phyllosticta citricarpa*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 107, p. 758-768, 2017.

COLTELLI, M. B. et al. State of the art in the development and properties of protein-based films and coatings and their applicability to cellulose based products: an extensive review. **Coatings**, Basel, v. 6, n. 1, p. 1-59, 2016.

D'AQUINO, S. et al. Effects of kaolin-based particle film to control *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) infestations and postharvest decay in citrus and stone fruit. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 8, p. 1079-1086, 2011.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruits and vegetables. **Food Microbiology**, London, v. 21, n. 6, p. 703-714, 2004.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013.

EFSA PLH Panel. Evaluation of new scientific information on *Phyllosticta citricarpa* in relation to the EFSA PLH Panel (2014) scientific opinion on the plant health risk to the EU. **EFSA Journal**, Parma, v. 14, n. 6, [art.] 4513, 2016.

FAO. **Statistics Division**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

FDA. **Generally recognized as safe (GRAS)**. Silver Spring. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/default.htm>>. Acesso em: 31 jul. 2017.

FEICHTENBERGER, E.; MULLER, G.W.; GUIRADO, N. Doenças dos citros. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 239-269.

FIALHO, M. B. **Mecanismos de ação de compostos orgânicos voláteis antimicrobianos produzidos por *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da pinta preta dos citros**. 2008. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) –Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FIALHO, M. B. et al. Volatile organic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* inhibit the in vitro development of *Guignardia citricarpa*, the causal agent

of citrus black spot. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 925-932, 2010.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FOURIE, P. H. et al. Modeling the effect of temperature and wetness on *Guignardia pseudothecium* maturation and ascospore release in citrus orchards. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 103, n. 3, p. 281-292, 2013.

FOURIE, P. H. et al. Scientific critique of the paper “Climatic distribution of citrus black spot caused by *Phyllosticta citricarpa*. A historical analysis of disease spread in South Africa” by Martínez-Minaya et al. (2015). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 148, n. 3, p. 497-502, 2017.

GONZATTO, M. **Desenvolvimento e produção de citros em sistema agroflorestal**. 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

GUARNACCIA, V. et al. First report of *Phyllosticta citricarpa* and description of two new species, *P. paracapitalensis* and *P. paracitricarpa*, from citrus in Europe. **Studies in Mycology**, Saint Paul, v. 87, p. 161-185, 2017.

HAGENMAIER, R. D.; BAKER, R. A. Wax microemulsions and emulsions as citrus coating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 4, p. 899-902, 1994.

IBGE. **Séries estatísticas**. Disponível em: <http://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm>. Acesso em: 20 jun. 2017.

KOLLER, O.C.; SCHÄFER, G. Origem da cultura da tangerineira, importância no mundo e no Brasil. In: KOLLER, O.C. (Coord.) **Citricultura, cultura de tangerineiras: tecnologia de produção, pós-colheita e industrialização**. Porto Alegre: Rígel, 2009. p. 13-24.

KOTZÉ, J. M. Epidemiology and control of citrus black spot in South África. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 12, p. 945-950, 1981.

LIMA, F. B. **Secretômica de *Trichoderma atroviride* e *Trichoderma harzianum* frente a *Guignardia citricarpa*, agente etiológico da pinta preta dos citros**. 2016. 136 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2016.

LIU, J. et al. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of silicon against *Penicillium digitatum*. **Current Microbiology**, New York, v. 61, n. 4, p. 274-279, 2010.

MAGAREY, R. D. et al. Prediction of *Phyllosticta citricarpa* using an hourly infection model and validation with prevalence data from South Africa and Australia. **Crop Protection**, Guildford, v. 75, p. 104-114, 2015.

MARTÍNEZ-MINAYA, J. et al. Response to the letter on “Climatic distribution of citrus black spot caused by *Phyllosticta citricarpa*. A historical analysis of disease spread in South Africa” by Fourie et al. (2017). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 148, n. 3, p. 503-508, 2017.

MONTERO, C. R. S. et al. Alternative treatments for postharvest decay control on ‘Ponkan’ tangerines. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1065, p. 1621-1626, 2015.

OLIVEIRA, C. H. et al. Substâncias químicas presentes em sucos de frutas em pó comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 127-132, 2006.

OLIVEIRA, R. P. et al. **Diferenciação entre as cultivares de tangerineira ‘BRSCAI Silvana’, ‘Montenegrina’ e ‘Caí’**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2016. 19 p. (Documentos, 419).

PALOU, L.; VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; PÉREZ-GAGO, M. B. Antifungal edible coatings for fresh citrus fruit: a review. **Coatings**, Basel, v. 5, n. 4, p. 962-986, 2015.

PALOU, L. et al. GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 122, p. 41-52, 2016.

PANDOLFO, J. D. **Otimização do manejo da pinta preta causada por *Guignardia citricarpa* Kiely na produção ecológica de tangerinas cv. Montenegrina sob a ótica da pesquisa participativa**. 2011. 177 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PEREIRA, G. S.; MACHADO, F. L. C.; COSTA, J. M. C. Aplicação de recobrimento prolonga a qualidade pós-colheita de laranja ‘Valência Delta’ durante armazenamento ambiente. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3, p. 50-527, 2014.

PINHEIRO, N. M. S. **Revestimento com cera de carnaúba incorporados de antimicrobianos em caju (*Anacardium occidentale* L.) e goiaba (*Psidium guajava*)**. 2012. 112 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

POSSIEDE, Y. M. et al. Fungicide resistance and genetic variability in plant pathogenic strains of *Guignardia citricarpa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 308-313, 2009.

RABEA, E. I. et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action.

Biomacromolecules, Washington, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

RAPUSSI, M. C. C. et al. Chitosan reduces infection by *Guignardia citricarpa* in postharvest 'Valencia' oranges. **Brazilian Archives Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 3, p. 513-521, 2009.

RAPUSSI, M. C. C. et al. Chitosan and fungicides on postharvest control of *Guignardia citricarpa* and on quality of 'Pêra Rio' oranges. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 3, p. 142-144, 2011.

RODRIGUES, M. B. C. et al. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 323-327, 2007.

ROSSETTO, M. P. et al. Avaliação da mancha preta dos citros em diferentes variedades de laranja doce. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 58-63, 2011.

SANTOS, C. A. A. et al. Uso de quitosana e embalagem plástica na conservação pós-colheita de pêssegos 'Douradão'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 88-93, 2008.

SCALOPPI, E. M. T. et al. Efeito do manejo cultural e químico na incidência e severidade da mancha-preta dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 102-108, 2012.

SCHRADER, L. E. Scientific basis of a unique formulation for reducing sunburn of fruits. **HortScience**, Alexandria, v. 46, n. 1, p. 6-11, 2011.

SHARMA, R. R.; REDDY, S. V. R.; DATTA, S. C. Particle films and their applications in horticultural crops. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 116-117, p. 54-68, 2015.

SHIEKH, R. A. et al. Chitosan as a novel edible coating for fresh fruits. **Food Science and Technology Research**, Basel, v. 19, n. 2, p. 139-155, 2013.

SILVA, L. F. B. **Monitoramento de inóculo de *Phyllosticta citricarpa* e efeito do controle cultural da mancha preta dos citros em pomar de laranja doce**. 2013. 41 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, 2013.

SILVA JÚNIOR, G. J. et al. Spray volume and fungicide rates for citrus black spot control based on tree canopy volume. **Crop Protection**, Guildford, v. 85, p. 38-45, 2016.

SILVA-PINHATI, A. C. O. et al. Mancha preta dos citros: epidemiologia e manejo. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 30, n. 1/2, p. 45-64, 2009.

SMEDT, C.; SOMEUS, E.; SPANOGHE, P. Potential and actual uses of zeolites in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v. 71, n. 10, p. 1355-1367, 2015.

SPÓSITO, M. B. et al. Relative importance of inoculum sources of *Guignardia citricarpa* on the citrus black spot epidemic in Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 12, p. 1546-1552, 2011.

STIEFEL, C.; SCHWACK, W. Photoprotection in changing times: UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. **International Journal of Cosmetic Science**, London, v. 37, n. 1, p. 2-30, 2015.

TIMOSSI, A. J. et al. F. Influência da temperatura e da luminosidade no desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 489-494, 2003.

VILLADIEGO, A. M. D. et al. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.

4 CAPÍTULO I

**Monitoramento dos períodos de infecção de *Phyllosticta citricarpa* em tangerinas
cv. Montenegrina na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul**

4.1 Introdução

A mancha preta dos citros (MPC) causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa* (McAlp) Van der Aa é um dos principais problemas fitossanitários enfrentados pelos citricultores. O manejo para o controle da doença é realizado, principalmente, pelo uso de fungicidas, porém o custo dos tratamentos é elevado e se não for realizado de forma adequada, pode não ser eficiente devido aos relatos de isolados do fungo resistentes a algumas moléculas (Rodrigues *et al.*, 2007; Fialho, 2008; Possiede *et al.*, 2009; Silva Júnior *et al.*, 2016).

Quando a infecção ocorre em laranjas pequenas, com aproximadamente 15 mm de diâmetro, o aparecimento dos sintomas pode ser superior a 200 dias, entretanto, se a infecção ocorre no fruto próximo à maturação (> 50 mm de diâmetro) o período de incubação pode ser menor que 30 dias (Aguiar *et al.*, 2012).

O principal sintoma da MPC é caracterizado por lesões na casca de frutos cítricos (laranjas doces, limões, tangerinas e seus híbridos). A lesão fica restrita ao flavedo e não afeta a qualidade interna do fruto (Feichtenberger *et al.*, 2005). Entretanto, deprecia a aparência da fruta para o mercado destinado ao consumo *in natura* e, ainda, pode restringir a exportação para países europeus onde a doença é considerada praga quarentenária A1. Em ataques mais severos, podem ser observadas lesões em ramos e folhas além da queda prematura dos frutos, reduzindo significativamente a produção (Baldassari *et al.*, 2007; Scaloppi *et al.*, 2012).

A ocorrência de MPC pode ter início tanto em picnidiósporos (conídios) presentes em picnídios formados nas lesões existentes nos frutos maduros, ramos e folhas caídas no solo, como nos ascósporos produzidos nos pseudotécios que se desenvolvem apenas nas folhas em decomposição (Spósito *et al.*, 2011; Silva, 2013).

A produção dos ascósporos é favorecida pela alternância entre períodos de molhamento e secamento das folhas, bem como, pela amplitude térmica entre as temperaturas do dia e da noite (Kotzé, 1981; Rossetto *et al.*, 2011). Em estudos realizados na África do Sul, constatou-se que a temperatura é o fator que exerce maior influência na maturação do pseudotécio e o início da dispersão dos ascósporos ocorre a partir da metade do inverno (Fourie *et al.*, 2013).

No caso dos picnídios, a temperatura ótima para crescimento de colônias e para a produção de conídios *in vitro* do fungo *P. citricarpa* é de 27 °C, enquanto que abaixo de 4 °C e acima de 37 °C o crescimento é inibido. Contudo, em frutos infectados, pode ocorrer desenvolvimento da lesão e a produção de conídios sob condições de 4 °C e alta umidade relativa do ar (Er *et al.*, 2013). Esse fato mostra a versatilidade do patógeno quando há um processo infeccioso já estabelecido.

Os fatores climáticos, como a temperatura, molhamento foliar, umidade e radiação solar, exercem influência na expressão dos sintomas de MPC. Em alguns casos, o ambiente pode ter um impacto mais relevante que a fase de maturação dos frutos (Ninin *et al.*, 2012). Por isso, é necessário conhecer as condições ambientais locais que favorecem o patógeno para estabelecer um manejo adequado ao controle da doença.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar os períodos de infecção de *P. citricarpa* em tangerinas, os tipos de sintomas que ocorrem com maior frequência na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul e estudar a associação desses fenômenos com as condições meteorológicas de temperatura e precipitação a partir da queda natural de frutos.

4.2 Material e Métodos

O estudo foi realizado na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizada no município de Eldorado do Sul-RS (30°06'S e 51°39'W), durante as safras 2014/2015 e 2015/2016. Foram utilizadas tangerineiras de um pomar com plantas da cv. Montenegrina, enxertadas sobre *Poncirus trifoliata*, disposto na orientação Norte-Sul, com histórico de MPC e que não recebeu tratamentos com fungicidas durante o monitoramento.

Foi avaliada a dinâmica da infecção de *P. citricarpa*, estabelecendo-se janelas de infecção (JI). Adaptou-se para isto a metodologia descrita por Baldassari *et al.* (2006) para estudos do momento de infecção de *P. citricarpa* ao longo do desenvolvimento de laranjas e por Spolti *et al.* (2011) que observou os períodos de infecção dos fungos causadores de podridões de verão em maçãs.

No início do monitoramento, frutos da porção mediana das tangerineiras foram protegidos com embalagens de papel revestidos com bolsas de polietileno. Em cada JI foi feita a exposição de um grupo de frutos por um período e, no final deste, essas amostras eram novamente protegidas pelas embalagens e permaneciam na planta até a maturação e colheita.

Na safra 2014/2015, 900 frutos com diâmetro médio de 27,5mm foram protegidos, aproximadamente um mês após a queda natural fisiológica, no início do mês de janeiro. As JI's sucederam-se até a colheita, tiveram duração de 10 a 15 dias e constaram de 45 frutos de cada vez. Em julho de 2015 todas as amostras foram coletadas.

Na safra seguinte (2015/2016), 1400 frutos foram protegidos, quando ainda havia queda natural na área e os frutos apresentavam diâmetro médio de 12,5mm, no

início do mês de dezembro de 2015. Procedeu-se com a mesma metodologia, descrita anteriormente, de exposição dos frutos por diferentes épocas até a colheita, sendo que durante a última JI os frutos ficaram expostos por um período maior, 34 dias.

Em ambas as safras, foram observadas as variáveis meteorológicas de temperatura e precipitação no intuito de avaliar a sua correlação com a incidência da doença. Sendo que na safra 2014/2015, a temperatura foi registrada em intervalos de uma hora por um sensor TagTemp – USB Temperature Data Logger (Novus) e os dados de precipitação foram obtidos da Estação Experimental da UFRGS. Na safra 2015/2016, os dados de temperatura e de precipitação utilizados foram registrados pela Estação Experimental da UFRGS. Também, foi calculada a soma térmica dos dias que apresentaram precipitação de cada JI, considerando a temperatura base de 10°C conforme a metodologia descrita por Fourie *et al.* (2013) para avaliar a influência da associação desses fatores na incidência de MPC.

Após a maturação dos frutos em cada safra, procedeu-se a colheita de amostras de 20 frutos para cada JI, que foram avaliadas quanto à incidência de MPC e tipo de sintoma. Não foi possível realizar a colheita de um número maior de frutos devido à ocorrência de queda prematura e apodrecimento causados por outros fitopatógenos. Em ambas as safras, foram coletadas amostras de frutos que ficaram expostos durante todo o período em que foi realizado o monitoramento e, também, de frutos que ficaram protegidos pelo mesmo período. Ainda, os frutos colhidos ficaram armazenados a 20°C \pm 1 e 70% de UR no Laboratório de Pós-colheita durante 10 dias para avaliar o incremento da incidência sintomas oriundos de infecções latentes, porém não foram observados novos sintomas após a colheita e os frutos entraram em processo de senescência.

Os dados de incidência de MPC obtidos foram correlacionados com as variáveis meteorológicas de cada período, pelo coeficiente de correlação de Pearson, através do Programa R de análise estatística (versão 3.3.1). Considerando que o coeficiente varia de -1 a 1 e que não há correlação se o valor é igual a zero.

4.3 Resultados e Discussão

Foram constatados dois tipos de sintomas de MPC nas tangerinas ‘Montenegrina’ na área monitorada durante as duas safras. Sendo que, o sintoma do tipo falsa melanose foi mais frequente que o sintoma do tipo mancha dura durante a safra 2014/2015. Entretanto, na safra seguinte, houve menor incidência de MPC e o sintoma do tipo mancha dura foi mais frequente. As diferenças entre os dois tipos de sintomas podem ser observadas na Figura 1.



FIGURA 1. Tangerinas com diferentes tipos de sintoma de mancha preta dos citros. Mancha dura (esquerda); Falsa melanose (direita). Porto Alegre, 2017.

O sintoma do tipo mancha dura é considerado o típico da doença, cuja lesão é caracterizada por apresentar o centro deprimido e de coloração clara, as bordas são mais salientes de cor marrom escura. No centro das lesões, observam-se pontos negros, que são os picnídios. A mancha dura normalmente aparece quando os frutos estão no início da maturação. O sintoma do tipo falsa melanose é caracterizado por

manchas escuras, pequenas ($\approx 1\text{mm}$) e lisas, que podem aparecer quando a casca do fruto ainda está verde (Feichtenberger *et al.*, 2005).

As maiores incidências de MPC foram observadas nos frutos que ficaram expostos no período inicial de desenvolvimento. Principalmente, na safra 2014/15, quando os frutos foram protegidos apenas quando a queda fisiológica havia finalizado, chegando a 52% de incidência de MPC na primeira JI, que correspondeu ao período de exposição no início do dia 08 até o dia 16 de janeiro de 2015 (Figura 2). Enquanto, na safra 2015/16, o início do monitoramento foi antecipado e os frutos foram protegidos desde quando havia queda fisiológica, resultando em uma incidência de MPC de 25% na primeira JI que durou entre o dia 01 e o dia 10 de dezembro de 2015 (Figura 3). Isso sugere que o período mais crítico de infecção das tangerinas por *P. citricarpa* é durante a queda fisiológica, pois os frutinhas estão suscetíveis enquanto pode haver frutos da safra anterior aderidos à planta com sintomas e produção de conídios, que são fonte de inóculo para a ocorrência de novas infecções que podem prejudicar a safra sucedida.

De acordo com Kotzé (1981), em experimentos com laranjas, os frutos jovens também se mostraram mais suscetíveis, mas não se observou incremento da doença após janeiro nas condições da África do Sul. Entretanto, no presente estudo, durante a safra 2014/15, constatou-se incidência de MPC em tangerinas em praticamente todas as JI's até a maturação, com exceção da JI 4, indicando que o fruto pode ser suscetível durante todo o seu desenvolvimento ou, então, que a maior parte dos sintomas tem origem em infecções latentes, que ocorreram no início do desenvolvimento dos frutos. Nos experimentos realizados por Baldassari *et al.* (2006), realizados em São Paulo com laranjas 'Valência' e 'Natal', foi verificada

incidência de sintomas em frutos ao longo de seu desenvolvimento, inclusive nas fases mais adiantadas de maturação, aproximadamente seis meses após a queda de pétalas.

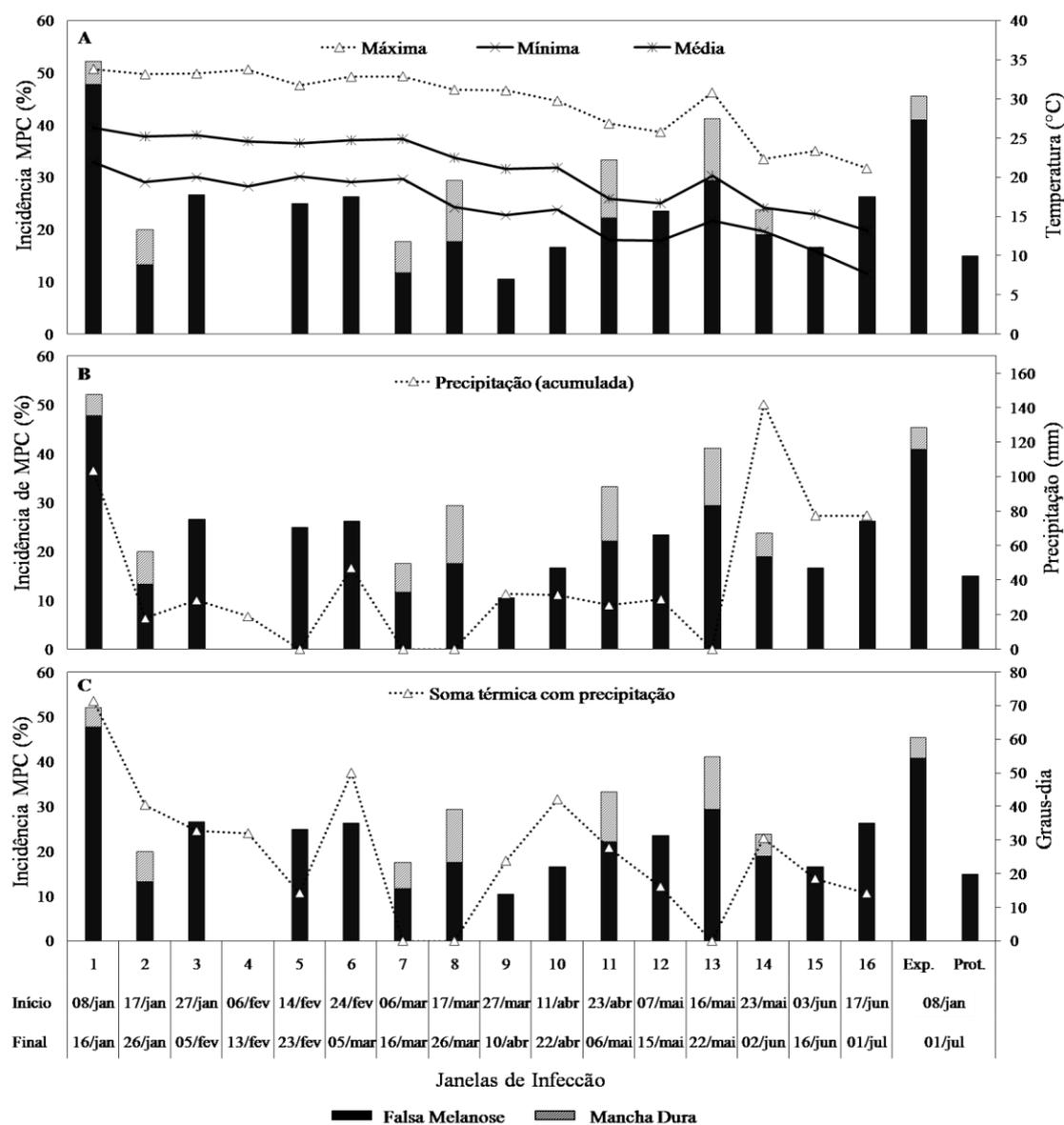


FIGURA 2. Incidência de diferentes sintomas de mancha preta dos citros de tangerinas 'Montenegrina' em diferentes janelas de infecção em relação aos dados médios de temperatura (A), precipitação acumulada (B) e soma térmica dos dias com ocorrência de precipitação (C) durante a safra 2014/2015 (Exp – Expostos; Prot – Protegidos). Porto Alegre, 2017.

A incidência dos diferentes tipos de sintomas de MPC apresentou baixa correlação em relação às variáveis meteorológicas observadas em cada período, apresentando coeficientes de correlação próximos a zero (Tabela 1).

TABELA 1. Coeficientes de correlação entre a incidência de sintomas de mancha dura dos citros em tangerinas ‘Rainha’ e as variáveis meteorológicas durante a safra 2014/15. Porto Alegre, 2017.

Variáveis	Incidência de MPC	Falsa melanose	Mancha dura
Temperatura Máxima	0.044	-0.040	0.197
Temperatura Mínima	0.076	0.097	-0.024
Temperatura Média	0.040	0.030	0.035
Precipitação (acumulada)	0.206	0.342	-0.242
Soma térmica dos dias com precipitação	0.193	0.359	-0.312

Na safra 2015/2016, observou-se menor incidência de sintomas de MPC que na safra anterior (Figura 3). As temperaturas mantiveram-se constantes até o início do outono (JI 9), com as médias em torno de 24 °C, as mínimas acima de 16 °C e as máximas acima de 27 °C. Nos períodos mais próximos da colheita, as temperaturas registradas foram mais baixas, com as médias de 11°C (Figura 3A). Os períodos com temperatura mais elevada coincidiram com períodos mais chuvosos (Figura 3B), ocasionando uma elevada soma térmica dos dias com ocorrência de precipitação (Figura 3C). Contudo, isso não contribuiu para o aumento de novas infecções e incidência de MPC, já que a correlação em relação a esses fatores também foi baixa (Tabela 2).

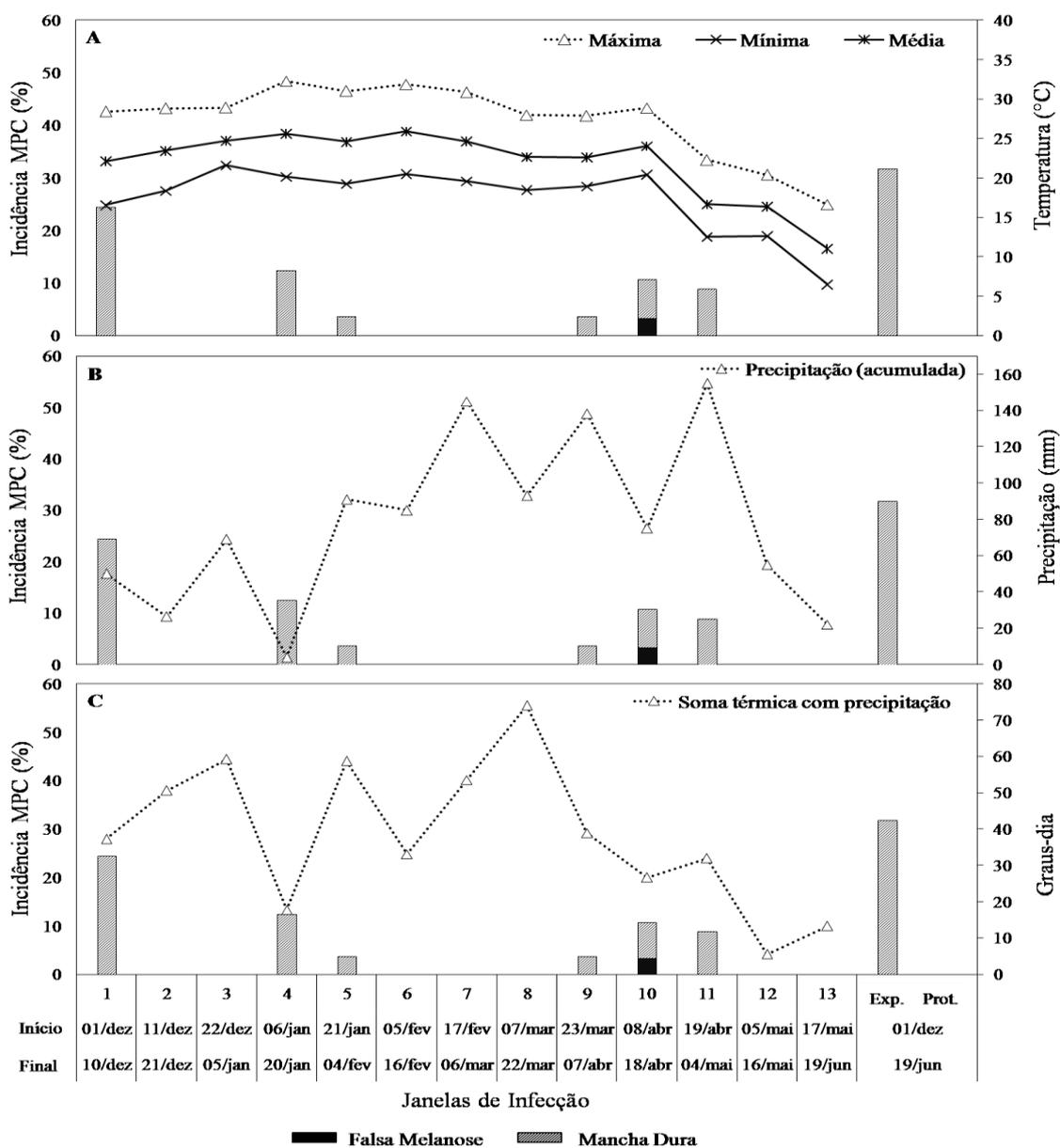


FIGURA 3. Incidência de diferentes sintomas de mancha preta dos citros de tangerinas 'Montenegrina' em diferentes janelas de infecção em relação aos dados médios de temperatura (A), precipitação acumulada (B) e soma térmica dos dias com ocorrência de precipitação (C) durante a safra 2015/2016 (Exp – Expostos; Prot – Protegidos). Porto Alegre, 2017.

TABELA 2. Coeficientes de correlação entre a incidência de sintomas de mancha dura dos citros em tangerinas e as variáveis meteorológicas durante a safra 2015/16. Porto Alegre, 2017.

Variáveis	Incidência de MPC	Falsa melanose	Mancha dura
Temperatura máxima	0.168	0.094	0.159
Temperatura média	0.106	0.145	0.090
Temperatura mínima	0.049	0.216	0.023
Precipitação acumulada	-0.155	-0.016	-0.156
Soma térmica de dias com precipitação	-0.223	-0.178	-0.205

Em estudos realizados por Reis *et al.* (2006) foi observado que a severidade dos sintomas de MPC em laranjas ‘Natal’ e ‘Valência’ apresentou alta correlação com a ocorrência de chuvas, o que não foi observado no caso da incidência da doença em tangerinas cv. Montenegrina em ambas as safras (2014/15 e 2015/16). No entanto, Reis *et al.* (2006) verificaram baixa correlação entre a severidade e a temperatura para as laranjas ‘Natal’.

A precipitação e as temperaturas registradas na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul, antes do início das avaliações da safra 2014/15 (Apêndice 1) e durante as avaliações em ambas as safras (Apêndice 2 e 3), poderiam favorecer a infecção dos frutos por esporos sexuais e assexuais de *G. citricarpa*. Considerando para os ascósporos, as temperaturas favoráveis são entre 15 e 35 °C, sendo 27 °C a ótima, enquanto para os conídios é de 10 a 35 °C, com uma ótima de 25 °C (Magarey *et al.*, 2015). Mesmo havendo baixa correlação entre a incidência de sintomas de MPC e as variáveis meteorológicas durante a avaliação, essas condições da região podem favorecer a produção de esporos de *P. citricarpa* de acordo com o que foi verificado por outros autores.

A ocorrência e distribuição de chuvas na região é um fator que pode

contribuir para o aumento da incidência de MPC, pois a água tem um papel fundamental na maturação, liberação e dispersão de esporos do fungo. Os ascósporos requerem para sua formação, períodos alternados de molhamento e secamento das folhas em decomposição (Kotzé, 1981). Enquanto os conídios encontram-se nos picnídios, embebidos em uma massa mucilaginosa que necessita das gotas de chuva para ser dissolvida e para que ocorra a dispersão (Er *et al.*, 2013).

Também, observa-se que as tangerinas cv. Montenegrina podem ser suscetíveis ao patógeno durante todo seu desenvolvimento, assim como foi verificado em laranjas por Reis *et al.* (2006) e Almeida (2009), entretanto, além disso, observou-se nas duas safras que, os frutos que ficaram expostos por todo o período de monitoramento, apresentaram maior incidência do que aqueles que foram protegidos por todo o período.

A quantidade de inóculo inicial pode ser o principal fator para a ocorrência de MPC, já que durante a safra 2014/15, os frutos que ficaram protegidos durante todo o período de avaliação apresentaram uma incidência de 15% (Figura 2), indicando que havia infecção anterior ao início da avaliação, enquanto na safra seguinte, os frutos protegidos não apresentaram sintomas, o que indica que não houve infecção antes do início do segundo monitoramento (2015/16). Nas condições de realização do experimento no Rio Grande do Sul, o elemento mais importante para reduzir os danos causados pela doença é adotar medidas para suprimir o inóculo inicial de *P. citricarpa*. Principalmente antes e durante a queda fisiológica de frutinhas, que pelos resultados obtidos, parece ser o momento em que ocorre a maior parte das infecções.

4.4 Conclusão

Os principais sintomas de MPC verificados em tangerinas cv. Montenegrina são de falsa melanose e mancha dura.

Nas condições da Depressão Central do Rio Grande do Sul, a cv. Montenegrina pode ser infectada durante todo o período de desenvolvimento dos frutos.

O período em que ocorre a maior parte das infecções por *P. citricarpa* nas tangerinas cv. Montenegrina é durante a queda fisiológica sem haver, no entanto, uma correlação com as condições de temperatura e precipitação.

4.5 Referências

AGUIAR, R. L. et al. Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em diferentes estádios fenológicos de frutos de laranjeira ‘Valência’. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 155-158, 2012.

ALMEIDA, T. F. **Mancha preta dos citros**: expressão dos sintomas em frutos pela inoculação com conídios e controle do agente causal (*Guignardia citricarpa*). 2009. 66 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

BALDASSARI, R. B.; REIS, R. F.; GOES, A. Susceptibility of fruits of the ‘Valência’ and ‘Natal’ sweet orange varieties to *Guignardia citricarpa* and the influence of the coexistence of healthy and symptomatic fruits. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 337-341, 2006.

BALDASSARI, R. B. et al. Indução da expressão precoce de sintomas de *Guignardia citricarpa* em frutos de laranjeira ‘Pêra-Rio’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 269-275, 2007.

CAIXETA, M. P. et al. Caracterização morfofisiológica e identificação molecular de isolados de *Guignardia citricarpa*, agente patogênico da mancha preta dos citros. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, supl., p. 625-630, 2008.

ER, H. L. et al. Potential distribution of citrus black spot in the United States based on climatic conditions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 137, n. 3, p. 635-647, 2013.

FEICHTENBERGER, E.; MULLER, G.W.; GUIRADO, N. Doenças dos citros. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 239-269.

FIALHO, M. B. **Mecanismos de ação de compostos orgânicos voláteis antimicrobianos produzidos por *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da pinta preta dos citros**. 2008. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) –Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FOURIE, P. H. et al. Modeling the effect of temperature and wetness on *Guignardia pseudothecium* maturation and ascospore release in citrus orchards. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 103, n. 3, p. 281-292, 2013.

KOTZÉ, J. M. Epidemiology and control of citrus black spot in South África. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 12, p. 945-950, 1981.

MAGAREY, R. D. et al. Prediction of *Phyllosticta citricarpa* using an hourly infection model and validation with prevalence data from South Africa and Australia. **Crop Protection**, Guildford, v. 75, p. 104-114, 2015.

NININ, M. V. L. et al. Desenvolvimento e validação de modelo de previsão para mancha preta dos citros em função de variáveis meteorológicas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 4, p. 288-293, 2012.

POSSIEDE, Y. M.; GABARDO, J.; KAVA-CORDEIRO, V.; GALLI-TERASAWA, L. V.; AZEVEDO, J. L.; GLIENKE, C. Fungicide resistance and genetic variability in plant pathogenic strains of *Guignardia citricarpa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, p. 308-313, 2009.

REIS, R.F.; TIMMER, L. W.; GOES, A. Effect of temperature, leaf wetness, and rainfall on the production of *Guignardia citricarpa* ascospores and on black spot severity on sweet orange. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 29-34, 2006.

RODRIGUES, M. B. C. et al. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 323-327, 2007.

ROSSETTO, M. P. et al. Avaliação da mancha preta dos citros em diferentes variedades de laranja doce. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 58-63, 2011.

SCALOPPI, E. M. T. et al. Efeito do manejo cultural e químico na incidência e severidade da mancha-preta dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 102-108, 2012.

SILVA, L. F. B. **Monitoramento de inóculo de *Phyllosticta citricarpa* e efeito do controle cultural da mancha preta dos citros em pomar de laranja doce**. 2013. 41 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Fundo de Defesa da Citricultura,

Araraquara, 2013.

SILVA JÚNIOR, G. J. et al. Spray volume and fungicide rates for citrus black spot control based on tree canopy volume. **Crop Protection**, Guildford, v. 85, p. 38-45, 2016.

SPOLTI, P. et al. Inoculum and infection dynamics of the sooty blotch and flyspeck complex of Apples in southern Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 93, n. 2, p. 497-501, 2011.

SPÓSITO, M. B. et al. Relative importance of inoculum sources of *Guignardia citricarpa* on the citrus black spot epidemic in Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 12, p. 1546-1552, 2011.

5 CAPÍTULO II

**Películas à base de cera de carnaúba com filtros solares inorgânicos para
reduzir mancha preta dos citros em tangerinas**

5.1 Introdução

A citricultura tem grande importância econômica para a fruticultura brasileira, entretanto, apresenta diversos problemas fitossanitários. Dentre esses problemas, a mancha preta dos citros (MPC), causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa*, é uma das principais doenças que compromete a qualidade dos frutos, especialmente, daqueles destinados ao consumo *in natura*. A MPC é responsável pelo aumento do custo de produção devido ao maior número de pulverizações com fungicidas que precisam ser realizadas durante o ciclo para seu controle (Silva Júnior *et al.*, 2016). Os sintomas ficam restritos ao flavedo e, geralmente, há maior incidência de lesões em frutos expostos à luz do que naqueles sombreados. Assim como, nos frutos localizados nas metades superiores das copas, onde a incidência de MPC é três vezes maior do que nos frutos localizados na parte inferior (Kotzé, 1981).

Em alguns estudos no Brasil que relacionam a severidade de MPC com o alinhamento de plantio do pomar, indicam que frutos oriundos de pomares implantados no alinhamento NE-SO, em que as faces dos frutos voltadas para o noroeste e sudeste ficam mais expostas, apresentam níveis de severidade mais elevados que no alinhamento N-S, onde as faces dos frutos mais expostas são voltadas para o leste e oeste (Andrade *et al.*, 2009). Também, em pomares de laranja ‘Valência’ cultivadas em sistema agroflorestal observou-se uma redução de 17% da incidência de MPC em relação ao cultivo de plantas sob sol. A justificativa para este fenômeno apresentada por Gonzatto (2009) resulta de uma atenuação da radiação solar transmitida ao nível dos frutos devido ao sombreamento da copa da planta cítrica. Em testes *in vitro*, constatou-se que houve maior produção de pseudotécios e ascósporos de *G. citricarpa* nas placas incubadas sob fotoperíodo de 12 horas ou luz

contínua do que aquelas que ficaram incubadas no escuro (Timossi *et al.*, 2003). Estas observações evidenciam que a luminosidade é um fator que pode influenciar positivamente o patógeno não somente em sua disseminação como o seu processo infeccioso e expressão de sintomas. Assim, a utilização de películas capazes de atenuar a radiação incidente na superfície do fruto poderia ser uma forma de inibir o fungo e, conseqüentemente, controlar a doença.

A tecnologia de filmes com partículas inertes tem sido utilizada para reduzir dano de sol (*sunburn*) em frutos e, em alguns casos, tem mostrado eficiência para reduzir danos causados por insetos e fitopatógenos (Sharma *et al.*, 2015). Há diversos produtos comerciais em alguns países com essa tecnologia constituídos principalmente de caolim, como Surround®WP, Cocoon™ e Parasol®. Também, há formulações à base de ceras vegetais, como o Raynox®, à base de cera de carnaúba e argilas que apresenta uma melhor fixação e cuja proteção se deve à presença de cinamatos na cera de carnaúba, que são filtros solares orgânicos capazes de absorver raios UV (Schrader, 2011). Esse produto ainda não está registrado para uso no Brasil, entretanto, há disponibilidade de cera de carnaúba que tem sido utilizada na formulação de emulsões para recobrimentos de frutas e hortaliças que podem auxiliar na sua conservação em pós-colheita, melhorando a aparência e prolongando a vida de prateleira (Pereira *et al.*, 2014; Thu & Tanachai, 2016).

A capacidade fotoprotetora orgânica da cera de carnaúba poderia ser complementada com filtros solares inorgânicos, como o óxido de zinco e o dióxido de titânio. Esses óxidos são utilizados em fotoprotetores dermatológicos, pois suas partículas absorvem, refletem e espalham os raios de luz visível e UV (Flor *et al.*, 2007; Sambandan & Ratner, 2011; Stiefel & Schwack, 2015). Além disso, o óxido de

zinco e o dióxido de titânio também são utilizados como aditivos de alimentos, como fortificantes e corantes, respectivamente (Boccio & Monteiro, 2004; Oliveira *et al.*, 2006).

Em frutos cítricos não há estudos com películas fotoprotetoras para verificar o seu efeito sobre doenças causadas por fitopatógenos, como é o caso da MPC. Considerando os efeitos positivos que essas substâncias podem proporcionar em relação à inibição da radiação solar e as necessidades para o estabelecimento do fungo e desenvolvimento da doença, foi conduzido o presente trabalho com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de películas constituídas de emulsões de cera de carnaúba e filtros solares inorgânicos sobre a incidência de MPC em tangerinas para consumo *in natura*.

5.2 Material e Métodos

Local de realização dos experimentos. Os experimentos 1 e 2 foram conduzidos em pomar comercial de tangerinas cv. Rainha enxertadas sobre *Poncirus trifoliata*, localizado no município de Pareci Novo, RS (29°37'S e 51°25"W). O pomar apresentava histórico de incidência de MPC e foi conduzido em sistema convencional de controle de pragas e doenças com produtos registrados para a cultura. Na entrelinha, a vegetação espontânea, foi controlada com roçadas e, na linha de plantio, o controle da vegetação, realizado com aplicação de herbicida.

O experimento 3 foi realizado no pomar de tangerineiras da cv. Montenegrina, enxertadas sobre *P. trifoliata* da Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul localizada em Eldorado do Sul, RS (30°06'S e 51°39'W). As plantas não receberam tratamentos fitossanitários durante a realização do experimento e o manejo da vegetação nas entrelinhas foi realizado

através de roçadas.

Ambas as áreas de realização dos experimentos apresentavam histórico de ocorrência de MPC. O preparo das películas fotoprotetoras e a avaliação dos atributos físico-químicos dos frutos foram realizados no Laboratório de Fisiologia Pós-colheita da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Preparo das películas fotoprotetoras. As películas eram constituídas de emulsão de cera de carnaúba com a suplementação de filtros solares inorgânicos. A emulsão foi preparada com uma fase oleosa de 15%, sendo 10% de cera de carnaúba e 5% de óleo de soja, como emulsificantes e surfactantes foram utilizados Tween 80 e Span 60. Os filtros inorgânicos foram adicionados posteriormente à emulsão, conforme o tratamento, sendo eles: óxido de zinco micronizado – Merck (ZnO); dióxido de titânio T – Merck, em formato de nanopartículas (TiO₂-T); dióxido de titânio V Rutilo T-2000 – Merck (TiO₂-R) e o produto formulado Escalol® Block – ISP Technologies, constituído de 40% de dióxido de titânio micronizado e adição de dispersantes. Todos os filtros inorgânicos foram fornecidos pela FAGRON e, segundo a empresa fornecedora, o TiO₂-T possui partículas menores e mais cristalinas que o TiO₂-R e, portanto, o TiO₂-T apresenta sua superfície modificada e, por isso, melhores características antifúngicas.

Experimento 1. Foi instalado durante a safra 2014/2015 e a aplicação foi realizada quando os frutos apresentavam em média 40 mm de diâmetro (abril de 2015). As películas foram diluídas em água e aplicadas nos frutos com aspersores manuais, até o ponto de escorrimento. Para cada filtro inorgânico, foram testadas as concentrações de 2, 4, 6 e 8%, além de um tratamento apenas com a emulsão de carnaúba e do tratamento controle em que os frutos não receberam aplicação alguma.

O experimento foi conduzido em blocos completos casualizados (BCC) com quatro blocos e uma planta para cada tratamento na qual foram pulverizados 50 frutos. A incidência de MPC nos frutos foi determinada no momento da colheita. Após a colheita, os frutos sadios foram armazenados a 3 ± 1 °C e avaliou-se o surgimento de sintomas de MPC 30 dias após a colheita.

Os frutos também foram avaliados quanto aos seus atributos físico-químicos, como o teor de sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (porcentagem de ácido cítrico) e índice de cor da epiderme (IC), através da fórmula $IC = 1000 \times a^*/(L^* \times b^*)$, obtendo-se a variação entre o verde (-) e o alaranjado (+).

Experimento 2. Foi conduzido na safra 2015/2016, realizando-se duas aplicações das películas fotoprotetoras em fases distintas de desenvolvimento dos frutos, a primeira quando apresentavam diâmetro médio de 18 mm (14/12/2015) e a segunda quando atingiram 50 mm (12/05/2016). Foram utilizados cinco tratamentos: o controle que não recebeu aplicação e quatro películas fotoprotetoras. Uma destas apenas com a emulsão de cera de carnaúba e as outras com a adição dos filtros inorgânicos ZnO, TiO₂ - T ou TiO₂ - R na concentração de 2%. As formulações foram diluídas em água e aplicadas com pulverizador costal manual de capacidade para 20 L em cobertura de toda a planta, até o ponto de escorrimento.

O experimento foi conduzido em blocos completos casualizados (BCC), sendo quatro blocos e uma planta por tratamento. Avaliou-se a atividade fotossintética das tangerineiras submetidas aos tratamentos no intervalo entre a primeira e a segunda aplicação, com o aparelho LI-6400XT Portable Photosynthesis System (Li-Cor®) com a câmara equipada com fonte de luz LED com densidade de luz de $1000 \mu\text{mol m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Após a colheita, avaliou-se a produção por planta e, em

amostras de 50 frutos, avaliou-se a incidência de MPC e os atributos físico-químicos dos frutos: conteúdo de suco, o teor de sólidos solúveis, acidez titulável e cor da epiderme.

Experimento 3. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Foram aplicados os mesmos tratamentos do Experimento 2, película de emulsão de cera de carnaúba, películas com adição dos filtros inorgânicos ZnO, TiO₂ - T ou TiO₂ - R na concentração de 2% e o controle, entretanto realizou-se inoculação artificial dos frutos. Avaliou-se o efeito protetivo e curativo dessas formulações realizando-se as aplicações antes ou após a inoculação artificial dos frutos com uma suspensão de *P. citricarpa* na concentração de 10⁵ conídios mL⁻¹ de água destilada esterilizada. Os frutos do tratamento controle também foram inoculados, mas não receberam nenhum tratamento.

As formulações foram diluídas em água e aplicadas diretamente nos frutos, com aspersores manuais. Os tratamentos foram aplicados após a mudança de cor dos frutos e a colheita foi realizada 30 dias após a aplicação do tratamento, quando foi realizada a avaliação da incidência de sintomas de MPC.

Na Tabela 1, é apresentado um esquema simplificado da metodologia dos três experimentos com a utilização de películas fotoprotetoras.

TABELA 1. Experimentos com películas fotoprotetoras para redução de MPC em tangerinas. Porto Alegre, 2017.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Local	Pomar Comercial Pareci Novo, RS	Pomar Comercial Pareci Novo, RS	EEA/UFRGS Eldorado do Sul, RS
Cultivar	Rainha	Rainha	Montenegrina
Safra	2014/15	2015/16	2015/16
Tratamentos	-Controle -EC* -EC + ZnO -EC + TiO ₂ R -EC + TiO ₂ T -EC + Escalol TiO ₂ Concentrações dos filtros inorgânicos: 2, 4, 6, 8%	-Controle -EC -EC + ZnO (2%) -EC + TiO ₂ R (2%) -EC + TiO ₂ T (2%)	-Controle -EC -EC + ZnO (2%) -EC + TiO ₂ R (2%) -EC + TiO ₂ T (2%)
Nº Aplicações	1 (40mm)	2 (18 e 50mm)	1 (>50mm)
Forma	Aspersor manual	Pulverizador Costal	Aspersor manual
Inoculação Artificial	Não	Não	Sim

*EC=emulsão de cera de carnaúba na concentração de 20%.

Análise estatística. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo Proc Mixed do programa estatístico SAS 9.4[®] e, quando significativa ($p < 0,05$), procedeu-se à complementação da análise por contrastes ortogonais. No experimento 1, foram arranjados cinco contrastes: 1 – controle *vs.* películas fotoprotetoras; 2 – emulsão de cera de carnaúba *vs.* tratamentos com filtros inorgânicos; 3 – Escalol Block *vs.* ZnO, TiO₂ (R) e TiO₂ (T); 4 – ZnO *vs.* TiO₂ e 5 – TiO₂ (R) *vs.* TiO₂ (T). Para os experimentos 2 e 3, foram arranjados quatro contrastes: 1 – controle *vs.* películas fotoprotetoras; 2 – emulsão de cera de carnaúba *vs.* filtros inorgânicos; 3 – ZnO *vs.* TiO₂ e 4 – TiO₂ (R) *vs.* TiO₂ (T).

5.3 Resultados e Discussão

Experimento 1. Nas tangerinas ‘Rainha’, tratadas com películas fotoprotetoras à base de emulsão de cera de carnaúba e diferentes concentrações de filtros inorgânicos, foram constatados dois tipos de sintomas de MPC, mancha dura e

falsa melanose. A mancha dura é uma lesão que apresenta o centro deprimido e de cor clara, com as bordas mais salientes de cor marrom escura e no centro das lesões encontram-se os picnídios. Na falsa melanose, as manchas são escuras, bem pequenas e lisas, sem formação de picnídios (Feichtenberger *et al.*, 2005).

As películas fotoprotetoras apresentaram comportamento distinto em relação à redução dos dois tipos de sintomas de MPC e o aumento da concentração de cada filtro inorgânico não foi suficiente para ampliar esse efeito, não sendo possível o ajuste à regressão linear ou polinomial (Figura 1). Dessa forma, realizou-se uma análise de contrastes para comparar as películas e os tipos de filtros inorgânicos.

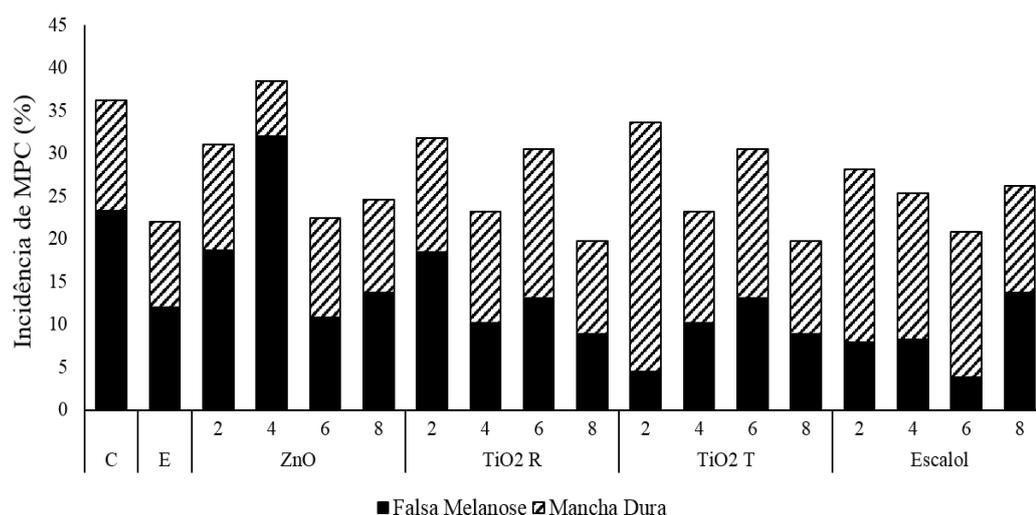


FIGURA 1. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos sobre a incidência de sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Rainha. C – Controle, E – Emulsão de cera de carnaúba. Porto Alegre, 2017.

Os resultados da análise de contrastes (Tabela 2) indicam que com a aplicação das películas fotoprotetoras houve redução da incidência de sintomas do tipo falsa melanose em relação à testemunha. Entretanto, esse efeito não foi observado em relação aos sintomas do tipo mancha dura e sobre a incidência total da

doença. Também, de acordo com a análise, observa-se que o tratamento realizado apenas com emulsão de cera de carnaúba apresenta capacidade para reduzir a doença, pois não difere estatisticamente daqueles com a adição de filtros inorgânicos.

TABELA 2. Análise de contrastes da incidência de diferentes sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Rainha pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras. Porto Alegre, 2017.

Contrastes – Tratamentos	Sintomas de MPC	
	Falsa Melanose	Mancha Dura
Controle vs. Películas fotoprotetoras	0,0135 *	0,4437 ^{ns}
Emulsão de cera de carnaúba vs. Filtros inorgânicos	0,8849 ^{ns}	0,1756 ^{ns}
Escalol Block vs. ZnO, TiO ₂ (R) e TiO ₂ (T)	0,1366 ^{ns}	0,6418 ^{ns}
ZnO vs. TiO ₂	0,0009 **	0,0010 **
TiO ₂ (R) vs. TiO ₂ (T)	0,0293 *	<0,0001 **
ANOVA (p)	0,0033	0,0099

Nível de significância para os valores de probabilidade para a complementação por contrastes ortogonais: *p<0,05; ** p< 0,01. ns= diferença não significativa.

Entre os filtros inorgânicos, os frutos tratados com ZnO apresentaram maior incidência de sintomas do tipo falsa melanose e menor incidência de mancha dura do que os frutos tratados com TiO₂ nas diferentes formas. Quando comparadas as duas formas de TiO₂, nanopartículas (T) e rutilo (R), também houve comportamento distinto para os diferentes sintomas. Enquanto o TiO₂ (T) reduziu a incidência de falsa melanose, o TiO₂ (R) mostrou-se mais eficiente na redução de sintomas do tipo mancha dura (Tabela 2).

Os tratamentos não afetaram a acidez titulável e o teor de sólidos solúveis do suco das tangerinas (Tabela 3). A relação entre esses dois atributos compõe o sabor do fruto maduro (Iglesias *et al.*, 2007). Assim, qualquer alteração em um desses fatores como, por exemplo, redução no teor de sólidos solúveis ou elevada acidez nos frutos, poderia resultar em sabor desagradável ao consumo.

TABELA 3. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba com diferentes filtros inorgânicos sobre a acidez titulável e o teor de sólidos solúveis no suco de tangerinas cv. Rainha. Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Emulsão/Filtro (%)	Colheita		Após 30 dias	
		AT (%)	SS (°Brix)	AT (%)	SS (°Brix)
Controle (s/tratamento)	0/0	0,754	10,13	0,613	9,31
Emulsão de cera de carnaúba	20/0	0,844	10,13	0,696	9,19
	20/2	0,831	10,31	0,629	9,00
Emulsão de cera de carnaúba + ZnO	20/4	0,868	10,50	0,599	9,50
	20/6	0,736	9,63	0,598	8,63
	20/8	0,848	11,88	0,706	8,69
Emulsão de cera de carnaúba + TiO ₂ (Rutilo)	20/2	0,836	10,25	0,693	9,19
	20/4	0,775	9,75	0,463	8,75
	20/6	0,815	10,63	0,678	10,19
	20/8	0,775	9,56	0,502	9,75
Emulsão de cera de carnaúba + TiO ₂ (T)	20/2	0,896	10,44	0,697	8,81
	20/4	0,920	10,88	0,513	8,88
	20/6	0,833	10,75	0,797	9,50
	20/8	0,853	10,00	0,653	9,31
Emulsão de cera de carnaúba + Escalol Block	20/2	0,806	9,63	0,558	9,19
	20/4	0,823	9,63	0,646	10,00
	20/6	0,891	9,38	0,596	9,88
	20/8	0,944	10,19	0,599	9,33
ANOVA (p)		0,1266^{ns}	0,4999^{ns}	0,8183^{ns}	0,1613^{ns}

ns = não significativo.

Os valores de índice de cor da casca dos frutos entre os tratamentos variaram entre 5,1 e 6,5 (Figura 2). Esses valores representam uma coloração alaranjada intensa que é uma característica desejável no momento da colheita de tangerinas destinadas ao consumo *in natura* (Jomori *et al.*, 2014).

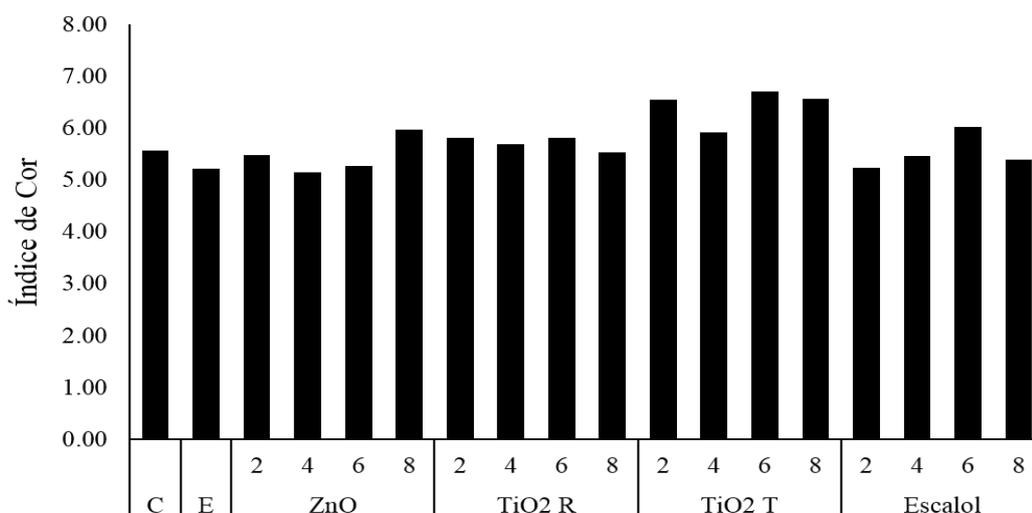


FIGURA 2. Índice de cor da casca de tangerinas cv. Rainha pulverizadas com produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos. C – Controle, E – Emulsão de cera de carnaúba. Porto Alegre, 2017.

De acordo com a análise de contrastes (Tabela 4), a média do índice de cor da casca das películas não diferiu do controle, mas quando comparadas entre si, observaram-se diferenças. Sendo que todos os tratamentos com adição de filtros inorgânicos apresentaram valores mais altos do que o tratamento apenas com emulsão de cera de carnaúba, destacando-se os frutos tratados com TiO_2 (T).

TABELA 4. Análise de contrastes para índice cor da casca de tangerinas cv. Rainha pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras. Porto Alegre, 2017.

Contrastes – Tratamentos	Índice de Cor da Casca
Controle vs. Películas fotoprotetoras	0,3871 ^{ns}
Emulsão de cera de carnaúba vs. Filtros inorgânicos	0,0086 ^{**}
Escalol Block vs. ZnO, TiO_2 (R) e TiO_2 (T)	0,0045 ^{**}
ZnO vs. TiO_2	<0,0001 ^{**}
TiO_2 (R) vs. TiO_2 (T)	<0,0001 ^{**}
ANOVA (p)	<0,0001

Nível de significância para os valores de probabilidade para a complementação por contrastes ortogonais: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. ns= diferença não significativa.

Experimento 2. A aplicação das películas fotoprotetoras interferiu na atividade fotossintética das plantas, sobretudo com a adição de filtros inorgânicos. A

atenuação da radiação solar incidente nas folhas pelas películas pode ter sido a causa da menor atividade fotossintética uma vez que a condutância estomática não sofreu alterações em resposta aos tratamentos. A redução da fotossíntese, em alguns casos como, por exemplo, no tratamento de emulsão de cera adicionada de TiO₂ (T), resultou em menor produção por planta (Tabela 5).

TABELA 5. Efeito da aplicação de películas fotoprotetoras à base de emulsão de carnaúba com diferentes filtros inorgânicos sobre a atividade fotossintética, condutância estomática e produção de tangerineiras cv. Rainha. Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Fotossíntese ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Condutância Estomática	Produção (Kg planta ⁻¹)
Controle (s/tratamento)	4,719	0,050	28,76
Emulsão de cera de carnaúba	4,067	0,048	30,41
Emulsão de cera de carnaúba + ZnO	3,163	0,040	25,41
Emulsão de cera de carnaúba + TiO ₂ (R)	3,575	0,051	26,28
Emulsão de cera de carnaúba + TiO ₂ (T)	2,395	0,035	14,09
ANOVA (p)	0,0347*	0,0748^{ns}	0,0359*

*p<0,05; ** p< 0,01; ns - não significativo.

Conforme a análise de contrastes (Tabela 6), as películas fotoprotetoras reduziram a atividade fotossintética em relação às plantas do tratamento controle, mas não houve diferença entre os tipos de películas. A adição de filtros inorgânicos à emulsão de cera de carnaúba resultou em menor produção por planta, sendo que as plantas tratadas com TiO₂ (T) foram mais afetadas e foram, inclusive, observados danos na casca dos frutos (Figura 3).



FIGURA 3. Danos na casca de tangerinas cv. Rainha causadas pela aplicação de películas fotoprotetoras à base de emulsão de carnaúba suplementada com dióxido de titânio T (nano-partículas). Porto Alegre, 2017.

TABELA 6. Análise de contrastes para fotossíntese e produção de tangerineiras cv. Rainha pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras. Porto Alegre, 2017.

Contrastes – Tratamentos	Fotossíntese	Produção
Controle <i>vs.</i> Películas fotoprotetoras	0,0170*	0,2320 ^{ns}
Emulsão de cera de carnaúba <i>vs.</i> Filtros inorgânicos	0,0774 ^{ns}	0,0488*
ZnO <i>vs.</i> TiO ₂	0,7570 ^{ns}	0,2267 ^{ns}
TiO ₂ (R) <i>vs.</i> TiO ₂ (T)	0,0938 ^{ns}	0,0244*

Nível de significância para os valores de probabilidade da complementação por contrastes ortogonais: * $p < 0,05$; ns – diferença não significativa.

O conteúdo de suco dos frutos, a acidez titulável e o teor de sólidos solúveis não apresentaram alterações em resposta à aplicação das películas fotoprotetoras (Tabela 6). O tratamento com TiO₂ (T) causou algumas lesões deprimidas de coloração escura na casca dos frutos, que comprometeram a aparência externa do fruto (Figura 3). A medida da cor da casca foi realizada em pontos dos frutos sem lesões, para obter o índice de cor e avaliar a mudança da cor verde ao laranja, em decorrência da maturação. Nesse caso, não houve diferença entre os tratamentos.

TABELA 7. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba com diferentes filtros inorgânicos sobre os atributos físico-químicos de tangerinas cv. Rainha. Porto Alegre, 2017.

Tratamento	AT (%)	SS (°Brix)	Conteúdo de Suco (%)	Índice de Cor da Casca
Controle (s/tratamento)	1,13	11,38	65,25	6,43
Emulsão de cera de carnaúba	1,07	10,75	63,29	6,62
Emulsão de cera de carnaúba + ZnO	1,02	10,25	68,29	5,94
Emulsão de cera de carnaúba + TiO ₂ (R)	1,15	11,56	62,37	6,52
Emulsão de cera de carnaúba + TiO ₂ (T)	1,20	12,06	61,72	6,11
ANOVA (p)	0,0767^{ns}	0,0770^{ns}	0,1459^{ns}	0,3139^{ns}

ns – diferença não significativa

Nesse experimento, não foi possível observar o efeito significativo das películas fotoprotetoras na redução da incidência de MPC, pois a ocorrência de danos nos frutos do tratamento com TiO₂ (T) pode ter mascarado o resultado (Figura 4). Para isolar o efeito dos tratamentos em relação à doença, realizou-se um terceiro experimento, com inoculação artificial de conídios do agente causal *P. citricarpa*.

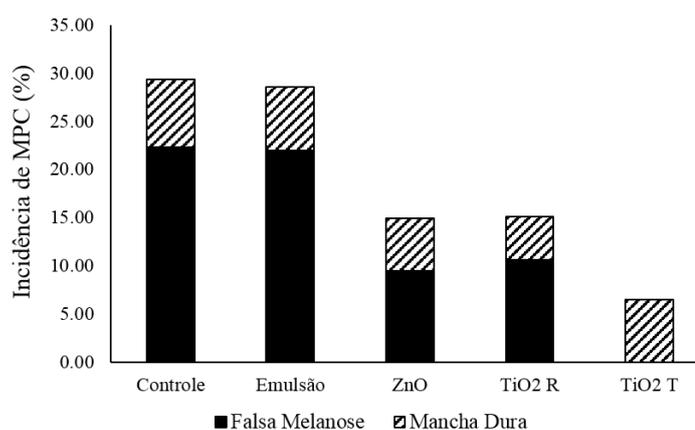


FIGURA 4. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos sobre a incidência de sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Rainha. ANOVA (p) – Incidência de sintomas (0,0966); Tipo falsa melanose (0,0710); Tipo mancha dura (0,9344). Porto Alegre, 2017.

Experimento 3. O momento da inoculação, realizada previamente ou

posteriormente à aplicação dos tratamentos não influenciou na incidência de MPC (Figura 5). Contudo, foi possível constatar que as películas fotoprotetoras reduziram a incidência da doença em relação ao controle, que também foi inoculado e não recebeu nenhum tratamento (Tabela 8).

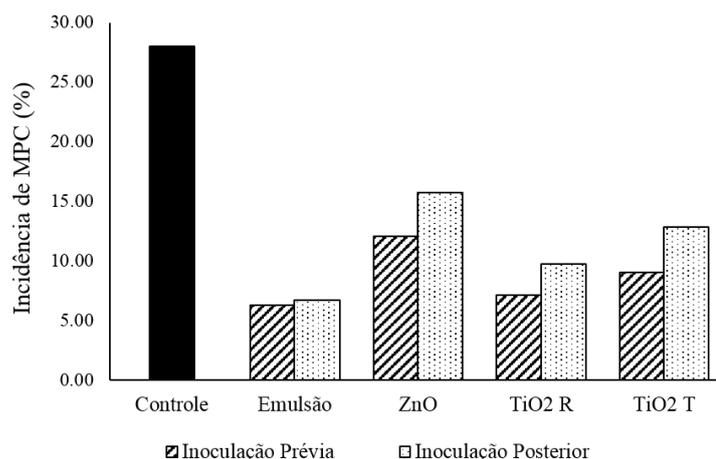


FIGURA 5. Efeito do uso de produtos à base de emulsão de carnaúba e filtros inorgânicos sobre a incidência de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Montenegrina inoculadas artificialmente. Porto Alegre, 2017.

TABELA 8. Análise de contrastes da incidência de mancha preta dos citros em tangerinas cv. Montenegrina pulverizadas ou não com películas fotoprotetoras e inoculadas artificialmente. Porto Alegre, 2017.

Contrastes – Tratamentos	p
Inoculação prévia vs. Inoculação posterior	0,2636 ^{ns}
Controle vs. Películas fotoprotetoras	<0,0001 ^{**}
Emulsão de cera de carnaúba vs. Filtros inorgânicos	0,0904 ^{ns}
ZnO vs. TiO ₂	0,1425 ^{ns}
TiO ₂ (R) vs. TiO ₂ (T)	0,4504 ^{ns}
ANOVA (p)	0,0009

Nível de significância para os valores de probabilidade para a complementação por contrastes ortogonais: *p<0,05; ** p<0,01. ns= diferença não significativa.

Os resultados obtidos sugerem que películas fotoprotetoras à base de emulsão de cera de carnaúba apresentam potencial para reduzir a incidência de sintomas de

MPC em tangerinas. Esse fato pode ser devido à interferência na radiação incidente na superfície do fruto, causada pela película fotoprotetora, que poderia estimular o desenvolvimento do fungo (Timossi *et al.*, 2003). O fungo *P. citricarpa* pode apresentar um longo período de latência após a infecção e a expressão dos sintomas pode estar relacionada à maturação e à intensa exposição solar (Pivello, 2013).

Os resultados de redução de incidência de MPC observados no Experimento 3 em que foi realizada inoculação artificial, também pode estar relacionado à interferência da película fotoprotetora pela formação de uma barreira física à infecção, semelhante ao efeito das defesas naturais das plantas como, por exemplo, o espessamento da cutícula (Sharma *et al.*, 2015). A aplicação em pré-colheita de Raynox[®], realizada em experimento com maçãs ‘Fuji Suprema’ e ‘Pink Lady[®]’ no Brasil, reduziu a incidência de podridão branca (*Botryosphaeria dothidea*) e podridão “olho-de-boi” (*Cryptosporiopsis perennans*) em pós-colheita (Valdebenito-Sanhueza *et al.*, 2016). Da mesma forma, os autores supõem que a redução das podridões poderia ser devido à formação da barreira física ou por afetar o mecanismo de tigmotropismo necessário ao estabelecimento das infecções. Isso se deve ao fato de que a película poderia encobrir a superfície do hospedeiro, impedindo o necessário reconhecimento pelo fungo para sua germinação e seu desenvolvimento (Walters, 2006).

Quando foi realizada apenas uma aplicação no ciclo apenas direcionada ao fruto (Experimento 1) e com o fruto apresentando aproximadamente 40 mm de diâmetro, observou-se que as películas fotoprotetoras reduziram a incidência de sintomas do tipo falsa melanose, sem causar danos à qualidade dos frutos. Inclusive, como no caso do tratamento com o filtro inorgânico TiO₂ (T), observaram-se maiores

valores para o índice de cor da casca. Entretanto, no Experimento 2, foram realizadas duas aplicações pulverizando a planta toda, sendo a primeira aplicação com os frutos ainda bem pequenos ($\approx 18\text{mm}$). Neste caso, o tratamento com TiO_2 (T) causou significativa redução de atividade fotossintética nas plantas e, conseqüentemente, redução na produção. Além disso, o filtro inorgânico TiO_2 (T) causou danos na casca dos frutos.

O uso de produtos com ação fotoprotetora, como o caolim, podem possibilitar o aumento da assimilação de CO_2 de plantas em função da atividade fotossintética como, por exemplo, em oliveiras sob estresse hídrico (Denaxa *et al.*, 2012). Porém, as películas compostas de emulsão de cera de carnaúba e filtros inorgânicos não apresentaram esse efeito quando aplicadas em tangerineiras, sendo que o tratamento com TiO_2 (T) foi o que causou maior redução da atividade fotossintética das folhas das plantas. Esse fato pode ser devido à formação uma barreira física que interferiu na incidência de radiação solar, já que não houve diferença na condutância estomática.

Por outro lado, a ação fotoprotetora dos tratamentos não afetou o conteúdo de suco dos frutos e os principais fatores que constituem o sabor, a acidez titulável e teor de sólidos solúveis. Tangerinas cv. Sunki com menor exposição solar, de acordo com Souza *et al.* (2015), apresentaram maior acidez que aquelas que ficaram mais expostas, entretanto o teor de sólidos solúveis foi maior nos frutos com maior incidência de radiação solar.

5.4 Conclusão

Relata - se pela primeira vez que a película fotoprotetora constituída por emulsão de cera de carnaúba a 20% sem a adição de filtros inorgânicos apresenta

capacidade de reduzir a incidência de sintomas de MPC, sem afetar a produção ou a qualidade dos frutos e poderia ser uma técnica integrada ao manejo da MPC.

São necessários outros estudos para otimizar essa tecnologia.

5.5 Referências

- ANDRADE, A. G.; PIMENTA, A. A.; GOES, A. Influência do alinhamento de plantio na severidade da mancha-preta-dos-citros, produção e qualidade do suco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1033-1041, 2009.
- BOCCIO, J.; MONTEIRO, J. B. Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 71-78, 2004.
- DENAXA, N. K. et al. Comparative effects of exogenous glycine betaine, kaolin clay particles and Ambiol on photosynthesis, leaf sclerophylly indexes and heat load of olive cv. Chondrolia Chalkidikis under drought. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 137, p. 87-94, 2012.
- FEICHTENBERGER, E.; MULLER, G.W.; GUIRADO, N. Doenças dos citros. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 239-269.
- FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.
- GONZATTO, M. **Desenvolvimento e produção de citros em sistema agroflorestal**. 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- IGLESIAS, D. J. et al. Physiology of citrus fruiting. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 333-362, 2007.
- JOMORI, M. L. L. et al. Desverdecimento e armazenamento refrigerado de tangor ‘Murcott’ em função de concentração e tempo de exposição ao etileno. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 825-834, 2014.
- KOTZÉ, J. M. Epidemiology and control of citrus black spot in South África. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 12, p. 945-950, 1981.
- OLIVEIRA, C. H. et al. Substâncias químicas presentes em sucos de frutas em pó comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 127-132, 2006.

- PEREIRA, G. S.; MACHADO, F. L. C.; COSTA, J. M. C. Aplicação de recobrimento prolonga a qualidade pós-colheita de laranja 'Valência Delta' durante armazenamento ambiente. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3, p. 50-527, 2014.
- PIVELLO, M. A. **Detecção de *Phyllosticta citricarpa* em folhas e manejo da mancha preta dos citros em limão verdadeiro**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, 2013.
- SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreens: an overview and update. **Journal of the American Academy of Dermatology**, Saint Louis, v. 64, n. 4, p. 748-758, 2011.
- SCHRADER, L. E. Scientific basis of a unique formulation for reducing sunburn of fruits. **HortScience**, Alexandria, v. 46, n. 1, p. 6-11, 2011.
- SHARMA, R. R.; REDDY, S. V. R.; DATTA, S. C. Particle films and their applications in horticultural crops. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 116-117, p. 54-68, 2015.
- SILVA JÚNIOR, G. J. et al. Spray volume and fungicide rates for citrus black spot control based on tree canopy volume. **Crop Protection**, Guildford, v. 85, p. 38-45, 2016.
- SOUZA, J. M. A. et al. Caracterização física e química dos frutos nos diferentes quadrantes da planta e germinação de sementes do porta-enxerto cítrico tangerineira 'Sunki', **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 425-432, 2015.
- STIEFEL, C.; SCHWACK, W. Photoprotection in changing times: UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. **International Journal of Cosmetic Science**, London, v. 37, n. 1, p. 2-30, 2015.
- TIMOSSI, A. J. et al. F. Influência da temperatura e da luminosidade no desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 489-494, 2003.
- THU, H. N.; TANACHAI, P. Comparison of effectiveness between bees-carnauba mixed wax and chitosan when combination with phenylactic acid on postharvest qualities of orange fruit cv. canh during low temperature storage. **Pakistan Journal of Biotechnology**, Jamshoro, v. 13, n. 4, p. 253-258, 2016.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. et al. Protetor solar diminui a incidência das podridões 'olho-de-boi' e 'branca' em maçãs 'Fuji Standard' e 'Pink Lady'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 1, p. 92-98, 2016.
- WALTERS, D. R. Disguising the leaf surface: the use of leaf coatings for plant disease control. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 114, p. 255-260, 2006.

6 CAPÍTULO III

Efeito do uso de revestimentos comestíveis sobre a incidência de mancha preta dos citros e na qualidade de tangerinas em pós-colheita

6.1 Introdução

Um dos principais problemas da produção de tangerinas para consumo *in natura* no Rio Grande do Sul é a mancha preta dos citros (MPC), causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa* (McAlp) Van der Aa (Pandolfo, 2011). Essa doença pode apresentar um longo período de incubação, já que o fungo pode infectar o fruto a partir da queda de pétalas e permanecer latente até a maturação ou, em alguns casos, os sintomas aparecem após a colheita (Caixeta *et al.*, 2008; Aguiar *et al.*, 2012). Os sintomas causados por *P. citricarpa* ficam restritos ao flavedo e não causam danos na parte interna do fruto. Porém, as lesões comprometem a aparência, podendo inviabilizar a comercialização (Feichtenberger *et al.*, 2005).

O controle da doença é realizado no campo, com a aplicação de fungicidas sintéticos e, em alguns casos, são adotadas práticas de manejo para acelerar a decomposição das folhas e reduzir a produção de ascósporos (Bellotte *et al.*, 2009; Scaloppi *et al.*, 2012). Entretanto, essas formas de controle não se mostraram eficientes, especialmente quando a produção é voltada para consumo *in natura*. Em alguns casos, a baixa eficiência dessas práticas pode estar associada ao fato de que os frutos estão suscetíveis ao fungo durante todo o seu desenvolvimento, inclusive durante o amadurecimento e, também, pelo incremento da doença que pode ser ocasionado pelos conídios produzidos nas lesões dos frutos e ramos (Baldassari *et al.*, 2006; Spósito *et al.*, 2011). Pois, nos períodos mais próximos da colheita, pode ser inviável a realização de pulverizações devido aos prazos de carência dos fungicidas e, conseqüente, contaminação residual. Também, foi constatada a ocorrência de isolados de *P. citricarpa* resistentes a fungicidas como, por exemplo, é o caso dos benzimidazóis (Rodrigues *et al.*, 2007; Possiede *et al.*, 2009).

Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de estratégias de controle alternativas e sustentáveis como, por exemplo, a utilização de substâncias que possuem atividade antimicrobiana ou que sejam capazes de induzir mecanismos de defesa do hospedeiro. Entretanto, essas substâncias precisam ser consideradas GRAS (*Generally Recognized as Safe*), ou seja, seguras para uso em alimentos (Palou *et al.*, 2016). Nesse contexto, uma prática que vem sendo estudada para controle de doenças em pós-colheita é o uso de filmes e revestimentos comestíveis com atividade antimicrobiana (Assis & Britto, 2014).

Os estudos sobre revestimentos comestíveis têm dado enfoque ao uso de biopolímeros, como proteínas, polissacarídeos e lipídios que são capazes de formar uma película de proteção sobre a superfície da fruta (Palou *et al.*, 2015).

Um dos polissacarídeos que tem se destacado para uso em pós-colheita de frutas por apresentar atividade antimicrobiana é a quitosana que provém da quitina presente no exoesqueleto dos crustáceos (Bautista-Baños *et al.*, 2006; Berger *et al.*, 2011). Rapussi *et al.* (2009) observaram que em laranjas cv. Valencia a quitosana apresentou um efeito antifúngico *in vitro* sobre *P. citricarpa* e também um potencial para reduzir o aparecimento de lesões de MPC em pós-colheita nesta cultivar.

No caso dos lipídios, emulsões feitas a partir da cera de carnaúba obtida das folhas da carnaubeira (*Copaernica cerifera*) têm sido bastante utilizadas na conservação em pós-colheita de frutos cítricos (Dhall, 2013; Machado *et al.*, 2012). Além disso, as ceras podem atuar como veículo de aditivos com atividade antimicrobiana (Kouassi *et al.*, 2012). Dentre esses aditivos, o bicarbonato de sódio e o metassilicato de sódio, são sais que poderiam ser incorporados aos revestimentos uma vez que estes já se mostraram eficientes para reduzir a incidência de podridões

causadas por *Penicillium* spp. em frutos cítricos conforme conclusões de Liu *et al.* (2010) e Montero *et al.* (2015).

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do uso de revestimentos comestíveis à base de cera de carnaúba e quitosana na incidência de sintomas de mancha preta dos citros em pós-colheita de tangerinas oriundas de pomares com incidência da doença e, também, avaliar a influência desses revestimentos sobre os atributos físico-químicos dos frutos.

6.2 Material e Métodos

Foram conduzidos três experimentos com o uso de revestimentos comestíveis em pós-colheita de tangerinas, cada um com uma cultivar do grupo das mexericas. Os experimentos foram conduzidos separadamente, em delineamento inteiramente casualizado. O preparo dos revestimentos e a aplicação nos frutos foram realizados no Laboratório de Pós-colheita da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Porto Alegre.

Revestimentos. O revestimento de quitosana foi preparado a partir da purificação da quitosana comercial em pó (fornecida pela Polymar). A purificação foi realizada em uma série de etapas, assim como descrito por Shiekh *et al.* (2013). Após a purificação, a quitosana foi dissolvida em solução de ácido cítrico 1 M para obtenção de uma concentração de 6 % e, a partir dessa solução, foram realizadas as diluições para aplicação nos frutos.

A cera de carnaúba bruta foi emulsionada, juntamente com óleo de soja, água e os emulsificantes e surfactantes Tween 80 e Span 60. Para esses experimentos, foram preparadas três emulsões, que se distinguiam por apresentar a fase lipídica composta por diferentes concentrações de cera de carnaúba e óleo de soja. Sendo

elas: A) 10% de cera de carnaúba + 3% de óleo de soja, constituindo uma fase lipídica de 13%; B) 20% de cera de carnaúba + 10% de óleo de soja, formando uma fase de lipídica de 30%; C) 10% de cera de carnaúba + 5% de óleo de soja, com uma fase lipídica de 15%. A porcentagem refere-se ao equivalente na emulsão final e para a aplicação, cada emulsão foi diluída em água na concentração de 40%.

Características dos frutos. As tangerinas cv. Caí foram produzidas na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS). Os frutos, no momento da colheita, apresentaram teores de sólidos solúveis na ordem de 9,6 °Brix e acidez titulável de 0,891 % de ácido cítrico. Os frutos da cv. Rainha foram colhidos em pomar comercial de São Sebastião do Caí, apresentaram teores de sólidos solúveis médios de 11,9 °Brix e acidez titulável de 0,843 % de ácido cítrico no momento da colheita. As tangerinas da cv. Montenegrina também foram colhidas no pomar da EEA-UFRGS, apresentando o teor de sólidos solúveis de 11,2 °Brix e a acidez titulável de 0,539 % de ácido cítrico. Nas áreas onde as tangerinas foram produzidas, havia histórico de MPC e, também, já se observava sintomas da doença no momento da colheita. Contudo, para os experimentos, foram selecionados frutos sadios, sem sintomas aparentes de MPC, para avaliar em pós-colheita apenas o surgimento de sintomas oriundos de infecções latentes.

Aplicação dos tratamentos. Os frutos foram lavados em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,1% (i. a.) e detergente neutro. Após esta sanitização inicial, os frutos foram enxaguados em água potável, separados em unidades experimentais e foram colocados para secar à temperatura ambiente, sem ar forçado. A aplicação dos revestimentos foi realizada com o auxílio de uma esponja, para que uma cobertura uniforme na superfície do fruto. Também, foi avaliado o efeito do uso dos aditivos

metassilicato de sódio e bicarbonato de sódio de forma isolada (aplicação por imersão) ou incorporada aos revestimentos. Na Tabela 1, são apresentados os três experimentos conduzidos em pós-colheita com as diferentes cultivares de tangerina.

TABELA 1. Experimentos realizados com o uso de revestimentos comestíveis em pós-colheita em tangerinas. Porto Alegre, 2017.

Cultivares	Caí	Rainha	Montenegrina
Tratamentos	<ul style="list-style-type: none"> • Testemunha • Quitosana (1%) • Quitosana (2%) • Quitosana (2%) + Metassilicato de Sódio (350ppm) • EC A (40%) • EC B (40%) • EC C (40%) 	<ul style="list-style-type: none"> • Testemunha • Quitosana (2%) • Quitosana (2%) + Metassilicato de Sódio (350ppm) • EC C (20%) • EC C (40%) 	<ul style="list-style-type: none"> • Testemunha • Quitosana (2%) • Quitosana (2%) + Metassilicato de Sódio (350ppm) • EC C (40%) • Metassilicato de Sódio (350ppm) • Bicarbonato de sódio (3%)
Repetições × nº frutos	4 × 10 frutos	4 × 25 frutos	5 × 50 frutos
Período de armazenamento	35 dias	30 dias	30 dias
Condições de armazenamento	5 °C ± 1 e 90% de UR		
Simulação de vida de prateleira	5 dias a 20 °C ± 1 e 70% UR		
Variáveis avaliadas	<ul style="list-style-type: none"> • Perda de massa a cada sete dias; • Cor da epiderme; • Acidez titulável; • Sólidos solúveis; • Incidência de doenças (MPC e bolores causados por <i>Penicillium</i>). 	<ul style="list-style-type: none"> • Perda de massa total; • Cor da epiderme; • Acidez titulável; • Sólidos solúveis; • Incidência de doenças (MPC e bolores causados por <i>Penicillium</i>). 	<ul style="list-style-type: none"> • Perda de massa total; • Cor da epiderme; • Incidência de doenças (MPC e bolores causados por <i>Penicillium</i>).

EC – emulsão de cera de carnaúba; A – fase lipídica composta por 10% de cera de carnaúba + 3% de óleo de soja; B – fase lipídica composta por 20% de cera de carnaúba + 10% de óleo de soja; C – fase de lipídica composta por 10% de cera de carnaúba + 5% de óleo de soja.

Avaliações de atributos físico-químicos e incidência de doenças. A cor da epiderme foi determinada com colorímetro da marca Konica/Minolta (CR-400) no sistema CIE L* a* b* e foram calculados os valores do croma ($C = \sqrt{[(a^*)^2 + (b^*)^2]}$) e ângulo Hue ($h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$). A acidez titulável (AT), expressa em porcentagem

(%) de ácido cítrico, foi determinada pelo método potenciométrico, através da titulação na amostra de uma solução de NaOH a 0,1M. O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado por refratometria e os dados expressos em °Brix. A incidência de doenças, expressa em porcentagem (%), foi determinada pela contagem de frutos que apresentavam sintomas característicos de MPC e bolor verde e azul em relação ao número de frutos de cada amostra.

Análise estatística. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativo ($p < 0,05$), a análise foi complementada pelo teste Tukey de separação de médias, utilizou-se o Programa R de análise estatística (versão 3.3.1).

6.3 Resultados e Discussão

Experimento cv. Caí. Observou-se que a partir dos 14 dias de armazenamento, todos os frutos que receberam algum revestimento apresentaram menor perda de massa que os frutos do tratamento testemunha. No entanto, os revestimentos não apresentaram diferença entre si para essa variável (Tabela 2).

TABELA 2. Perda de massa (%) de tangerinas cv. Caí tratadas com diferentes revestimentos após armazenamento refrigerado, Porto Alegre, 2017.

Tratamentos	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
Testemunha (s/tratamento)	2,78 a	5,46a	7,34 a	9,53 a	14,63 a
Quitosana 1%	2,46 abc	4,79b	6,34 b	8,48 b	13,54 ab
Quitosana 2%	2,24 bc	4,40b	5,94 b	7,95 bc	13,27 ab
Quit. 2% + Metassilicato 350ppm	2,12 c	4,36b	6,08 b	8,10 bc	12,87 bc
EC A (40 %)	2,47 ab	4,71b	6,24 b	8,12 bc	12,95 bc
EC B (40 %)	2,27 bc	4,36b	5,69 b	7,36 c	12,41 bc
EC C (40 %)	2,33 bc	4,22b	5,58 b	7,23 c	11,75 c
ANOVA (p)	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Médias de quatro repetições, seguidas de letra iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

Os revestimentos à base de emulsão de cera de carnaúba e quitosana mantiveram a coloração característica da casca das tangerinas cv. Caí, considerando os fatores de luminosidade, croma e o ângulo Hue (Tabela 3). Também, não foram observadas manchas indesejadas que pudessem alterar a aparência dos frutos e, conseqüentemente, a sua aceitação pelo consumidor.

TABELA 3. Coloração da epiderme de tangerinas cv. Caí tratadas com diferentes revestimentos, após armazenamento a 5 °C ± 1 por 35 dias + 5 a 20 °C ± 1. Porto Alegre, 2017.

Tratamentos	Cor		
	Valor L*	Croma	°Hue
Testemunha (s/tratamento)	66,27	67,99	73,51
Quitosana (1%)	65,55	65,57	73,20
Quitosana (2%)	67,04	66,90	73,78
Quit. 2% + Metassilicato (350ppm)	66,85	66,91	74,62
EC A (40%)	66,72	68,38	74,03
EC B (40%)	65,96	67,22	74,69
EC C (40%)	67,37	68,54	76,98
ANOVA (p)	0,3792 ^{ns}	0,2288 ^{ns}	0,1926 ^{ns}

ns – não há diferença significativa.

O suco das tangerinas tratadas com o revestimento à base de cera de carnaúba EC B, formulado com 30% de lipídios, apresentaram maior acidez titulável (0,845%

de ácido cítrico) e maior teor de sólidos solúveis (12,10 °Brix). Os valores mais baixos de acidez titulável foram observados nos tratamentos com EC C, com fase lipídica de 15%. Esses dois tratamentos diferiram entre si, entretanto, não diferiram dos demais tratamentos, inclusive da testemunha em que os frutos foram revestidos (Tabela 4).

TABELA 4. Acidez titulável e teor de sólidos solúveis do suco de cv. Caí com diferentes revestimentos, após armazenamento a 5 °C ± 1 por 35 dias + 5 a 20 °C ± 1. Porto Alegre, 2017.

Tratamentos	AT (% Ác. Cítrico)	SS (°Brix)
Testemunha (s/tratamento)	0,701 ab	12,03 a
Quitosana 1%	0,701 ab	11,05 ab
Quitosana 2%	0,723 ab	12,03 ab
Quit. 2% + Metassilicato 350ppm	0,727 ab	11,35 ab
EC A (40%)	0,706 ab	11,03 ab
EC B (40%)	0,845 a	12,10 a
EC C (40%)	0,637 b	10,28 b
ANOVA (p)	0,01705	0,02085

Médias de quatro repetições, seguidas de letra iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

Os frutos tratados com EC C foram os que apresentaram menor incidência de doenças em pós-colheita. Enquanto esse tratamento apresentou média de incidência de sintomas para MPC de 12,5%, nos frutos que não receberam tratamento em pós-colheita, 40% dos frutos foram afetados pela doença. Os tratamentos com quitosana não reduziram significativamente a MPC, mesmo com a adição de metassilicato de sódio (Tabela 5).

TABELA 5. Incidência de doenças em pós-colheita de tangerinas cv. Caí com diferentes revestimentos, após armazenamento a 5 °C ± 1 por 35 dias + 5 a 20 °C ± 1. Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Incidência de doença (%)	
	<i>P. citricarpa</i>	<i>Penicillium</i> sp.
Testemunha (s/tratamento)	40,00 a	2,50
Quitosana 1%	25,00 ab	17,50
Quitosana 2%	25,00 ab	2,50
Quit. 2% + Metassilicato 350ppm	35,00 ab	10,00
EC A (40%)	27,50 ab	0,00
EC B (40%)	20,00 ab	12,50
EC C (40%)	12,50 b	0,00
ANOVA (p)	0,0247	0,0440*

Médias de quatro repetições, seguidas de letra iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). *Dados não seguem distribuição normal, por isso não foi realizado teste de comparação de médias.

Experimento cv. Rainha. Os revestimentos contribuíram para a manutenção da aparência das tangerinas cv. Rainha, pois reduziram a perda de massa e não causaram alterações negativas à coloração da epiderme. As tangerinas que foram armazenadas sem revestimento foram as que apresentaram maior perda de massa, 16,27%. Todos os revestimentos conferiram maior luminosidade (L^*) à casca dos frutos em relação aos frutos não revestidos, também, a emulsão de carnaúba, na maior concentração, proporcionou maior valor de croma (Tabela 6).

TABELA 6. Cor da epiderme e perda de massa de tangerinas cv. Rainha tratadas com diferentes revestimentos, após armazenamento refrigerado por 30 dias 5 °C ± 1, Porto Alegre, 2017.

Tratamentos	Cor			Perda de massa (%)
	Valor L^*	Croma	°Hue	
Testemunha (s/tratamento)	67,05b	69,55ab	64,64	16,27a
Quitosana (2%)	68,99a	69,32b	65,36	12,97b
Quitosana (2%) + Metassilicato (350ppm)	68,28a	69,76ab	65,05	14,47ab
EC C (20%)	68,46a	70,15ab	65,99	12,73b
EC C (40%)	68,90a	72,47a	65,24	13,71b
ANOVA (p)	0,0003	0,0414	0,2879 ^{ns}	0,0001

Médias de cinco repetições, seguidas de letra iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). ns = não significativo.

Os tratamentos quitosana e quitosana com adição de metassilicato de sódio mantiveram a acidez titulável do suco das tangerinas mais elevada que os demais tratamentos, sendo os valores médios de 0,600 e 0,675 % de ácido cítrico, respectivamente. Bem como, observaram-se menores valores de teor de sólidos solúveis nesses tratamentos. Já, a aplicação de emulsão de carnaúba, na concentração de 40 %, resultou em uma menor acidez titulável, em média de 0,383 % de ácido cítrico (Tabela 7).

TABELA 7. Acidez titulável e teor de sólidos solúveis do suco de tangerinas cv. Rainha tratadas com diferentes revestimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 30 dias + 5 a $20^{\circ}\text{C} \pm 1$, Porto Alegre, 2017.

Tratamentos	AT (% Ác. Cítrico)	SS (°Brix)
Testemunha (s/tratamento)	0,506 B	12,05 a
Quitosana (2%)	0,600 Ab	11,00 b
Quitosana (2%) + Metassilicato (350ppm)	0,675 A	10,90 b
EC C (20%)	0,542 B	11,35 ab
EC C (40%)	0,383 C	11,40 ab
ANOVA (p)	<0,0001	0,0158

Médias de quatro repetições, seguidas de letra iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Em tangerinas ‘Rainha’, não houve diferença em relação à incidência de MPC e de bolores causados por fungos do gênero *Penicillium*. A porcentagem de sintomas de MPC dos frutos da testemunha foi de apenas 2,4 % (Tabela 8).

TABELA 8. Incidência de doenças em pós-colheita de tangerinas cv. Rainha com diferentes recobrimentos, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 30 dias + 5 dias a $20^{\circ}\text{C} \pm 1$, Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Incidência (%)	
	<i>P. citricarpa</i>	<i>Penicillium</i> sp.
Testemunha (s/tratamento)	2,40	3,20
Quitosana (2%)	1,60	3,20
Quitosana (2%) + Metassilicato (350ppm)	2,40	3,20
EC C (20%)	1,60	2,40
EC C (40%)	1,60	1,60
ANOVA (p)	0,9890 ^{ns}	0,9511 ^{ns}

ns = não diferença significativa.

Experimento cv. Montenegrina. As tangerinas tratadas com metassilicato de sódio, aplicado por imersão, apresentaram maior perda de massa, 12,6 %, enquanto a aplicação de emulsão de cera de carnaúba reduziu a perda, ficando em 7,05 %. Para essa variável, os revestimentos à base de quitosana e o tratamento com bicarbonato e sódio não diferiram da testemunha. Em relação à cor da epiderme, a luminosidade e o ângulo °Hue não apresentaram alterações. Apenas o revestimento composto por 2 % quitosana reduziu os valores de Croma (Tabela 9).

TABELA 9. Cor da epiderme e perda de massa de tangerinas cv. Montenegrina submetidas a diferentes tratamentos em pós-colheita, após armazenamento refrigerado por 30 dias a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Cor			Perda de massa (%)
	Valor L*	Croma	°Hue	
Testemunha (s/tratamento)	69,37	73,56ab	65,61	10,18b
Quitosana (2%)	68,92	70,37c	66,18	8,50bc
Quitosana (2%) + Metassilicato (350ppm)	68,36	72,77abc	65,11	8,88b
EC C (40%)	68,38	71,66bc	65,25	7,05c
Metassilicato (1%)	69,24	74,85a	66,41	12,06a
Bicarbonato de sódio (3%)	69,42	74,59ab	66,73	9,97b
ANOVA (p)	0,289	0,0016	0,3197	<0,0001

Médias de quatro repetições, seguidas de letra iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Da mesma forma como o ocorreu nos tratamentos realizados em tangerinas da cv. Rainha, não houve diferença em relação à incidência de sintomas de MPC e de bolores causados por fungos do gênero *Penicillium* nos frutos da cv. Montenegrina (Tabela 10).

TABELA 10. Incidência de doenças em tangerinas cv. Montenegrina submetidas a diferentes tratamentos em pós-colheita, após armazenamento a $5^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 30 dias + 5 dias a $20^{\circ}\text{C} \pm 1$, Porto Alegre, 2017.

Tratamento	Incidência (%)		
	<i>P. citricarpa</i>	<i>Penicillium</i> sp.	Total
Testemunha (s/tratamento)	1,00	8,50	9,50
Quitosana (2%)	1,00	12,50	13,50
Quitosana (2%) + Metassilicato (1%)	2,50	10,50	13,00
EC C (40%)	3,50	12,50	16,00
Metassilicato (1%)	0,50	11,00	11,50
Bicarbonato de sódio (3%)	0,00	8,50	8,50
ANOVA(p)	0,064 ^{ns}	0,627 ^{ns}	0,330 ^{ns}

Em geral, os dados obtidos indicam que os revestimentos comestíveis à base de quitosana e cera de carnaúba apresentam potencial para serem utilizados em tangerinas com o objetivo de preservar a qualidade dos frutos. Foi observada menor perda de massa nos frutos revestidos, especialmente quando foram utilizadas emulsões à base de cera de carnaúba. Esse efeito também foi observado em pós-colheita de tangores cv. Ortanique e laranjas revestidos com cera de carnaúba (Machado *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2013). Da mesma forma, a quitosana pode formar uma barreira capaz de reduzir a perda excessiva de água que pode ocorrer durante o armazenamento refrigerado de frutos cítricos. Observação neste sentido foi feita por Thu e Tanachai (2016). Os autores determinaram que laranjas da cv. Canh armazenadas a 5°C com revestimento de ceras ou quitosana apresentaram menor perda de massa na comparação com laranjas que não receberam tratamento de revestimento após 60 dias armazenamento.

As tangerinas revestidas com quitosana e cera de carnaúba não apresentaram alterações na coloração da epiderme que comprometessem a sua aparência. A cor pode ser determinada através da obtenção de seus componentes como, a luminosidade, dada pelo valor de L^* , ângulo Hue, que se refere à tonalidade e o

croma, que é a intensidade. Esses componentes podem ser influenciados na pós-colheita pela aplicação de revestimentos comestíveis, como ocorreu em laranjas da cv. Valência tratadas com cera de carnaúba (Pereira *et al.*, 2014).

Durante o início do desenvolvimento dos frutos cítricos, ocorre acúmulo de carboidratos e ácidos orgânicos na polpa, que vão sendo degradados e solubilizados com o avanço da maturação. Havendo redução da acidez titulável e aumento no teor de sólidos solúveis, que são os principais fatores que compõem o sabor (Iglesias *et al.*, 2007). No presente trabalho foi determinada uma menor acidez titulável em amostras de suco de tangerinas tratadas com emulsão de carnaúba (40 %), enquanto o teor de sólidos solúveis apresentou variações entre os tratamentos. Estas diferenças não foram constatadas por Arnon *et al.* (2014) em mandarinas das cultivares Or e Mor, em laranjas cv. Navel e pomelos cv. Star Ruby com revestimentos à base de ceras e à base de quitosana e carboximetilcelulose.

Em alguns casos, a aplicação do revestimento sem um tratamento prévio ou sem aditivos antimicrobianos pode resultar em maior incidência de podridões em frutos cítricos, sendo as mais recorrentes os bolores causados por *P. digitatum* e *P. italicum* (Youssef *et al.*, 2012). Isso pode ocorrer devido à formação de uma película de proteção sobre as hifas e os esporos presentes na superfície do fruto, por isso, os revestimentos devem ser utilizados de forma complementar a outros métodos de controle (Montero *et al.*, 2010).

Em relação ao efeito dos revestimentos comestíveis sobre a incidência de sintomas de MPC, apenas a emulsão de cera de carnaúba, composta por 15% de fase lipídica, inibiu o aparecimento de sintomas nas tangerinas cv. Caí. Esse efeito não foi possível de discriminar nas cultivares Rainha e Montenegrina, possivelmente pela

baixa incidência da doença. A maior incidência de sintomas de MPC em pós-colheita na cv. Caí pode ser explicada pelo fato de que essa cultivar é mais precoce que as cvs. Rainha e Montenegrina.

Em laranjas tardias que receberam tratamento térmico e com fungicidas em pós-colheita, não surgem novas lesões quando as laranjas são colhidas tardiamente. Nestas condições, provavelmente, o fungo *P. citricarpa* tem condições de completar o seu desenvolvimento e expressar os sintomas antes da colheita (Yan *et al.*, 2016).

As concentrações de quitosana, metassilicato de sódio e bicarbonato de sódio utilizadas nos tratamentos desse estudo com tangerinas não foram suficientes para detectar sua ação antifúngica. No entanto, não se deve descartar as potencialidades dessas substâncias, especialmente da quitosana, que já demonstrou ser eficiente para reduzir a incidência de sintomas de MPC em laranjas das cultivares Valencia e Pêra-Rio associada ou não com fungicidas em pós-colheita (Rapussi *et al.* 2009; 2011). De acordo com os mesmos autores, em testes *in vitro*, houve a inibição do crescimento micelial, a germinação de conídios e formação de apressório de *P. citricarpa*.

Dessa forma, é necessário realizar novos estudos, com diferentes concentrações de quitosana ou de metassilicato e bicarbonato de sódio para avaliar a inibição de *P. citricarpa* e a redução de sintomas de MPC em pós-colheita de tangerinas. Também, os revestimentos à base de quitosana e cera de carnaúba poderiam ser utilizados como forma suplementar a outras medidas de controle que podem ser realizadas no pomar, desde o início do desenvolvimento dos frutos.

6.4 Conclusões

Os revestimentos comestíveis à base de quitosana e cera de carnaúba contribuem para a manutenção da qualidade de tangerinas em pós-colheita,

principalmente por reduzir a perda de massa.

A emulsão de cera de carnaúba composta por 15% de fase lipídica pode reduzir o surgimento de sintomas de MPC em pós-colheita de tangerinas cv. Caí.

É necessário aprimorar a formulação das emulsões de carnaúba e revestimento de quitosana, bem como reavaliar outros aditivos com maior pressão de doença para determinar as suas eficiências quanto ao controle de MPC, para as cultivares mais tardias, como Rainha e Montenegrina.

6.5 Referências

- AGUIAR, R. L. et al. Período de incubação de *Guignardia citricarpa* em diferentes estádios fenológicos de frutos de laranjeira ‘Valência’. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 155-158, 2012.
- ARNON, H. et al. Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 87, p. 21-26, 2014.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.
- ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Biofilmes comestíveis de quitosana: ação biofúngica sobre frutas fatiadas. **Biociência, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, p. 33-38, 2003.
- BALDASSARI, R. B.; REIS, R. F.; GOES, A. Susceptibility of fruits of the ‘Valência’ and ‘Natal’ sweet orange varieties to *Guignardia citricarpa* and the influence of the coexistence of healthy and symptomatic fruits. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 337-341, 2006.
- BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, Guildford, v. 25, n. 2, p. 108-118, 2006.
- BELLOTTE, J. A. M. et al. Acceleration of the decomposition of Sicilian lemon leaves as an auxiliary measure in the control of citrus black spot. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 2, p. 71-76, 2009.
- BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, N. P. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, País

Vasco, v. 12, n. 4, p. 195-215, 2011.

CAIXETA, M. P. et al. Caracterização morfofisiológica e identificação molecular de isolados de *Guignardia citricarpa*, agente patogênico da mancha preta dos citros. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, supl., p. 625-630, 2008.

DHALL, R. K. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013.

FEICHTENBERGER, E.; MULLER, G.W.; GUIRADO, N. Doenças dos citros. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 239-269.

IGLESIAS, D. J. et al. Physiology of citrus fruiting. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 333-362, 2007.

KOUASSI, K. H. S.; BAJJI, M.; JIJAKLI, H. The control of postharvest blue and green molds of citrus in relation with essential oil-wax formulations, adherence and viscosity. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 73, p. 122-128, 2012.

LIU, J. et al. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of silicon against *Penicillium digitatum*. **Current Microbiology**, New York, v. 61, n. 4, p. 274-279, 2010.

MACHADO, F. L. C.; COSTA, J. M. C.; BATISTA, E. N. Application of carnauba-based wax maintains postharvest quality of 'Ortanique' tangor. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 261-266, 2012.

MONTERO, C. R. S. et al. Complementary physical and chemical treatments as an alternative to fungicide use to control postharvest decay incidence and fruit quality of Montenegrina tangerines. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n. 10, p. 1076-1083, 2010.

MONTERO, C. R. S. et al. Alternative treatments for postharvest decay control on 'Ponkan' tangerines. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1065, p. 1621-1626, 2015.

PALOU, L.; VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; PÉREZ-GAGO, M. B. Antifungal edible coatings for fresh citrus fruit: a review. **Coatings**, Basel, v. 5, n. 4, p. 962-986, 2015.

PALOU, L. et al. GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 122, p. 41-52, 2016.

PANDOLFO, J. D. **Otimização do manejo da pinta preta causada por *Guignardia citricarpa* Kiely na produção ecológica de tangerinas cv. Montenegrina sob a ótica da pesquisa participativa**. 2011. 177 f. Tese (Doutorado

em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PEREIRA, G. S.; MACHADO, F. L. C.; COSTA, J. M. C. Quality of ‘Delta Valencia’ orange grown in semiarid climate and stored under refrigeration after coating with wax. **Food Science and Technology**, London, v. 33, n. 2, p. 276-281, 2013.

PEREIRA, G. S.; MACHADO, F. L. C.; COSTA, J. M. C. Aplicação de recobrimento prolonga a qualidade pós-colheita de laranja ‘Valência Delta’ durante armazenamento ambiente. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3, p. 50-527, 2014

POSSIEDE, Y. M. et al. Fungicide resistance and genetic variability in plant pathogenic strains of *Guignardia citricarpa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 308-313, 2009.

RAPUSSI, M. C. C. et al. Chitosan reduces infection by *Guignardia citricarpa* in postharvest ‘Valencia’ oranges. **Brazilian Archives Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 3, p. 513-521, 2009.

RAPUSSI, M. C. C. et al. Chitosan and fungicides on postharvest control of *Guignardia citricarpa* and on quality of ‘Pêra Rio’ oranges. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 3, p. 142-144, 2011.

RODRIGUES, M. B. C. et al. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 323-327, 2007.

SCALOPPI, E. M. T. et al. Efeito do manejo cultural e químico na incidência e severidade da mancha-preta dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 102-108, 2012.

SHIEKH, R. A. et al. Chitosan as a novel edible coating for fresh fruits. **Food Science and Technology Research**, Basel, v. 19, n. 2, p. 139-155, 2013.

SPÓSITO, M. B. et al. Relative importance of inoculum sources of *Guignardia citricarpa* on the citrus black spot epidemic in Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 12, p. 1546-1552, 2011.

THU, H. N.; TANACHAI, P. Comparison of effectiveness between bees-carnauba mixed wax and chitosan when combination with phenyllactic acid on postharvest qualities of orange fruit cv. canh during low temperature storage. **Pakistan Journal of Biotechnology**, Jamshoro, v. 13, n. 4, p. 253-258, 2016.

YAN, J. et al. The effects of postharvest hot water and fungicide treatments on *Guignardia citricarpa* growth and the development of citrus black spot symptoms on ‘Valencia’ orange fruit. **HortScience**, Alexandria, v. 51, n. 12, p. 1555-1560, 2016.

YOUSSEF, K. et al. Activity of salts incorporated in wax in controlling postharvest diseases of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 65, p. 39-43, 2012.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas observações realizadas, as condições climáticas da Região da Depressão Central do Rio Grande do Sul podem favorecer o fungo *P. citricarpa* e a ocorrência de MPC, pois mesmo no final do outono e início do inverno, época de maturação das tangerinas, as temperaturas seguem elevadas e ocorrem precipitações.

Os frutos são suscetíveis à doença durante todo o seu desenvolvimento, entretanto o período crítico para a infecção é durante a queda fisiológica dos frutinhas. Por isso, é importante suprimir o inóculo antes da frutificação, mas não basta apenas acelerar a decomposição das folhas caídas onde são formados os ascósporos, é necessário remover os ramos e os frutos sintomáticos aderidos à planta que são fonte de picnidiosporos.

As películas fotoprotetoras à base de emulsão de cera de carnaúba podem reduzir a radiação solar incidente na superfície dos frutos, o que pode inibir o desenvolvimento e estabelecimento do fungo *P. citricarpa*, já que a radiação parece ser um fator importante para a expressão dos sintomas. Além disso, forma uma barreira física que pode impedir novas infecções.

Os revestimentos comestíveis à base de cera de carnaúba e quitosana apresentam um importante papel na conservação das tangerinas em pós-colheita, principalmente, por reduzir a perda de água da casca e, assim, manter sua aparência. Também, no caso das cultivares mais precoces, como é o caso da cv. Caí, o uso de

emulsão de cera de carnaúba pode auxiliar na redução do surgimento de sintomas de MPC. Entretanto, não é uma medida de controle para ser utilizada forma isolada e, sim, integrada a outras formas de manejo que devem ser realizadas no pomar.

Tanto as películas fotoprotetoras, à base de carnaúba e filtros inorgânicos, quanto os revestimentos comestíveis, à base de carnaúba e quitosana, necessitam de novos estudos em relação à formulação, forma e época de aplicação, bem como, avaliar o seu efeito em outras cultivares. Para que possam ser utilizados como medidas efetivas e seguras no controle de MPC.

As informações geradas neste estudo são inéditas e possibilitam o entendimento de aspectos relacionados ao patossistema MPC *versus* tangerinas na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul. Também podem servir de apoio para a realização de novos estudos e para a elaboração de práticas de manejo que contribuam para a sustentabilidade dessa cadeia produtiva.

8 APÊNDICE

APÊNDICE 1. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS no período anterior ao início do monitoramento, entre dezembro de 2014 e janeiro de 2015. Porto Alegre, 2017.

Data	Temperatura (°C)*		Precipitação (mm)
	Mínima	Máxima	
01/12/2014	25	32	
02/12/2014	23	35	16
03/12/2014	21	27	7
04/12/2014	17	28	
05/12/2014	17	29	
06/12/2014	18	32	
07/12/2014	20	36	
08/12/2014	23	37	
09/12/2014	23	31	3
10/12/2014	22	32	26
11/12/2014	22	25	18
12/12/2014	21	26	
13/12/2014	19	25	2
14/12/2014	17	27	
15/12/2014	17	27	
16/12/2014	19	27	
17/12/2014	22	27	
18/12/2014	22	29	
19/12/2014	19	31	
20/12/2014	20	35	30
21/12/2014	23	21	44
22/12/2014	19	25	
23/12/2014	15	26	
24/12/2014	16	27	
25/12/2014	19	30	
26/12/2014	22	30	6
27/12/2014	22	27	9
28/12/2014	22	27	3
29/12/2014	20	30	
30/12/2014	21	31	
31/12/2014	23	31	7
01/01/2015	22	27	5
02/01/2015	20	26	14
03/01/2015	19	28	
04/01/2015	18	31	

continuação APÊNDICE 1. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS no período anterior ao início do monitoramento, entre dezembro de 2014 e janeiro de 2015. Porto Alegre, 2017.

Data	Temperatura (°C)*		Precipitação (mm)
	Mínima	Máxima	
05/01/2015	20	33	
06/01/2015	23	36	
07/01/2015	22	34	

*Dados obtidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (Estação Automática A801 – Porto Alegre). Fonte: <http://www.inmet.gov.br>

APÊNDICE 2. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de janeiro até julho de 2015. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
1	08/01/2015	23,1	27,9	42,5
	09/01/2015	21,9	37,3	16
	10/01/2015	21,4	37,9	
	11/01/2015	20,8	36,3	
	12/01/2015	22,6	41,3	
	13/01/2015	21,8	39,2	20
	14/01/2015	21,9	30,9	
	15/01/2015	21,3	30,3	25
	16/01/2015	22,1	36,5	
2	17/01/2015	22,5	39	13
	18/01/2015	20,2	35,2	
	19/01/2015	20,3	39,2	5
	20/01/2015	19,5	29,3	
	21/01/2015	19	30,5	
	22/01/2015	15,70	30,60	
	23/01/2015	17,60	32,60	
	24/01/2015	17,40	35,50	
	25/01/2015	18,50	40,10	
	26/01/2015	20,70	40,30	
3	27/01/2015	21,10	38,30	
	28/01/2015	22,30	36,00	
	29/01/2015	20,10	28,10	7,5
	30/01/2015	15,70	31,60	
	31/01/2015	18,80	29,60	
	01/02/2015	19,20	35,90	
	02/02/2015	19,60	37,30	
	03/02/2015	21,00	36,30	21
	04/02/2015	20,70	33,40	
05/02/2015	21,50	35,20		
4	06/02/2015	19,40	34,80	
	07/02/2015	16,40	36,90	
	08/02/2015	15,30	36,00	
	09/02/2015	17,40	40,30	
	10/02/2015	19,00	37,90	
	11/02/2015	21,20	26,90	14
	12/02/2015	21,10	40,30	
	13/02/2015	20,60	35,40	5
5	14/02/2015	19,30	30,40	
	15/02/2015	20,90	32,20	
	16/02/2015	20,20	32,60	
	17/02/2015	19,10	33,10	
	18/02/2015	19,10	34,20	
	19/02/2015	20,40	36,50	
	20/02/2015	20,80	27,70	12
	21/02/2015	20,40	31,40	
	22/02/2015	21,00	30,90	
	23/02/2015	19,30	34,30	
6	24/02/2015	20,40	34,10	
	25/02/2015	18,40	36,60	18
	26/02/2015	19,90	34,30	22

continuação APÊNDICE 2. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS de janeiro até julho de 2015. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
6	27/02/2015	19,00	31,90	7
	28/02/2015	17,30	31,80	
	01/03/2015	18,00	28,60	
	02/03/2015	19,50	33,60	
	03/03/2015	19,80	37,30	
	04/03/2015	19,90	36,00	
	05/03/2015	21,10	32,90	
7	06/03/2015	20,30	31,70	
	07/03/2015	18,00	33,10	
	08/03/2015	19,90	35,40	
	09/03/2015	21,70	33,70	
	10/03/2015	20,30	31,30	
	11/03/2015	18,70	32,90	
	12/03/2015	16,60	34,60	
	13/03/2015	19,50	36,00	
	14/03/2015	19,90	38,60	
	15/03/2015	20,50	33,80	
16/03/2015	21,50	33,90		
8	17/03/2015	16,40	34,00	
	18/03/2015	16,50	34,20	
	19/03/2015	16,90	35,40	
	20/03/2015	16,10	38,40	
	21/03/2015	17,70	28,40	
	22/03/2015	12,50	28,70	
	23/03/2015	13,50	30,90	
	24/03/2015	15,30	37,50	
	25/03/2015	18,30	36,90	
	26/03/2015	17,20	22,90	
9	27/03/2015	16,80	31,10	
	28/03/2015	14,50	34,80	
	29/03/2015	19,10	27,90	
	30/03/2015	17,90	30,40	6
	31/03/2015	16,60	37,40	
	01/04/2015	14,70	36,40	
	02/04/2015	13,60	38,40	
	03/04/2015	13,00	41,30	
	04/04/2015	15,80	38,30	
	05/04/2015	17,90	21,50	26
	06/04/2015	15,40	27,80	
	07/04/2015	10,70	31,30	
	08/04/2015	12,50	36,60	
09/04/2015	14,50	38,40		
10/04/2015	13,40	38,90		
10	11/04/2015	12,70	37,30	
	12/04/2015	16,70	30,60	
	13/04/2015	13,80	35,60	
	14/04/2015	17,40	37,80	2,5
	15/04/2015	19,40	27,10	
	16/04/2015	19,90	32,20	
	17/04/2015	17,30	30,10	15

continuação APÊNDICE 2. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS de janeiro até julho de 2015. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
10	18/04/2015	13,10	35,40	14
	19/04/2015	9,30	34,40	
	20/04/2015	19,70	22,00	
	21/04/2015	17,00	30,00	
	22/04/2015	13,80	32,10	
11	23/04/2015	17,30	26,70	4,5
	24/04/2015	15,50	31,80	
	25/04/2015	13,30	32,50	
	26/04/2015	10,10	34,00	
	27/04/2015	12,20	35,00	
	28/04/2015	14,80	33,80	
	29/04/2015	14,20	31,20	
	30/04/2015	13,50	29,50	
	01/05/2015	11,20	30,40	
	02/05/2015	11,50	24,10	
	03/05/2015	16,20	20,70	
	04/05/2015	7,30	29,70	
	05/05/2015	4,20	30,20	
	06/05/2015	5,20	32,10	
12	07/05/2015	8,00	28,50	29
	08/05/2015	9,40	21,80	
	09/05/2015	9,70	34,10	
	10/05/2015	15,80	20,40	
	11/05/2015	14,60	21,60	
	12/05/2015	13,80	30,10	
	13/05/2015	11,10	34,10	
	14/05/2015	11,20	38,50	
	15/05/2015	13,50	32,60	
13	16/05/2015	14,60	25,10	27
	17/05/2015	14,60	36,80	
	18/05/2015	14,60	37,00	
	19/05/2015	14,30	37,70	
	20/05/2015	13,50	38,90	
	21/05/2015	14,30	34,10	
	22/05/2015	14,90	40,80	
14	23/05/2015	16,50	30,60	115
	24/05/2015	18,20	22,40	
	25/05/2015	17,50	26,30	
	26/05/2015	17,20	22,50	
	27/05/2015	15,90	18,50	
	28/05/2015	14,30	18,60	
	29/05/2015	11,20	26,10	
	30/05/2015	7,80	27,10	
	31/05/2015	8,20	19,90	
	01/06/2015	9,00	27,00	
15	02/06/2015	7,00	29,30	50
	03/06/2015	7,50	34,80	
	04/06/2015	13,60	26,70	
	05/06/2015	13,40	21,90	
	06/06/2015	15,10	32,10	

continuação APÊNDICE 2. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de janeiro até julho de 2015. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)	
		Mínima	Máxima		
15	07/06/2015	14,20	33,70	27,5	
	08/06/2015	16,50	23,90		
	09/06/2015	17,40	36,10		
	10/06/2015	15,40	22,40		
	11/06/2015	7,60	16,40		
	12/06/2015	6,10	25,70		
	13/06/2015	5,20	21,70		
	14/06/2015	9,80	20,00		
	15/06/2015	3,90	25,60		
	16/06/2015	0,90	25,70		
16	17/06/2015	2,90	18,30	51	
	18/06/2015	4,50	16,10	15,5	
	19/06/2015	1,00	23,50		
	20/06/2015	3,60	27,50		
	21/06/2015	9,50	17,90		
	22/06/2015	13,70	20,30		
	23/06/2015	5,70	22,70		
	24/06/2015	3,50	16,10		
	25/06/2015	9,40	29,60		
	26/06/2015	9,80	31,20		
	27/06/2015	9,10	32,10		
	28/06/2015	7,90	30,80		
	29/06/2015	9,70	23,50		11
	30/06/2015	13,90	19,90		
01/07/2015	10,00	24,80			

APÊNDICE 3. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de dezembro de 2015 até junho de 2016. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
1	01/12/2015	13,80	27,50	6
	02/12/2015	19,70	24,40	
	03/12/2015	19,70	27,90	
	04/12/2015	20,30	27,60	14
	05/12/2015	16,80	29,00	
	06/12/2015	13,90	27,10	
	07/12/2015	11,60	26,90	
	08/12/2015	14,90	31,20	
	09/12/2015	18,70	33,30	
	10/12/2015	16,30	29,10	30
2	11/12/2015	14,10	32,70	
	12/12/2015	17,90	34,40	
	13/12/2015	20,10	27,60	
	14/12/2015	19,60	26,30	1
	15/12/2015	19,80	29,70	7,5
	16/12/2015	16,60	27,70	
	17/12/2015	18,60	33,90	
	18/12/2015	20,80	27,20	
	19/12/2015	19,70	25,20	10
	20/12/2015	15,90	25,10	8
	21/12/2015	19,00	27,10	
3	22/12/2015	20,50	23,90	5
	23/12/2015	21,80	25,40	21
	24/12/2015	20,90	23,60	
	25/12/2015	20,80	25,70	
	26/12/2015	20,70	27,10	
	27/12/2015	21,10	32,40	
	28/12/2015	21,80	30,30	38
	29/12/2015	23,40	33,30	
	30/12/2015	23,80	31,00	5
	31/12/2015	22,80	30,90	
	01/01/2016	21,30	27,10	
02/01/2016	21,70	28,40		
03/01/2016	21,00	30,50		
04/01/2016	19,60	32,20		
05/01/2016	22,80	32,00		
4	06/01/2016	23,70	31,90	4
	07/01/2016	19,90	28,80	
	08/01/2016	18,50	27,50	
	09/01/2016	21,40	26,90	
	10/01/2016	22,60	32,30	
	11/01/2016	21,00	32,40	
	12/01/2016	23,10	34,80	
	13/01/2016	20,90	34,10	
	14/01/2016	19,90	29,30	
	15/01/2016	18,80	33,80	
	16/01/2016	19,30	33,40	
	17/01/2016	18,00	35,40	
	18/01/2016	16,40	36,80	
	19/01/2016	18,90	35,00	

continuação APÊNDICE 3. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de dezembro de 2015 até junho de 2016. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
4	20/01/2016	19,90	31,70	
	21/01/2016	20,60	31,50	
	22/01/2016	18,20	32,10	
	23/01/2016	16,70	36,60	
	24/01/2016	19,20	36,00	
	25/01/2016	19,40	37,70	30
	26/01/2016	19,10	23,60	2
	27/01/2016	16,60	29,10	
5	28/01/2016	21,50	29,80	
	29/01/2016	20,90	35,60	
	30/01/2016	21,10	32,00	
	31/01/2016	19,90	27,50	
	01/02/2016	18,50	29,30	
	02/02/2016	16,20	28,30	
	03/02/2016	20,30	27,80	22
	04/02/2016	21,00	28,60	37
6	05/02/2016	20,10	30,20	
	06/02/2016	18,10	29,80	
	07/02/2016	20,80	31,70	
	08/02/2016	21,50	35,80	
	09/02/2016	23,90	29,50	20
	10/02/2016	21,10	33,50	
	11/02/2016	18,80	31,90	
	12/02/2016	20,60	33,90	
	13/02/2016	21,30	31,50	65
	14/02/2016	21,20	31,40	
	15/02/2016	19,10	31,40	
	16/02/2016	19,60	31,70	
	17/02/2016	19,40	34,80	30
	18/02/2016	21,30	32,90	
	19/02/2016	19,80	33,60	
	20/02/2016	21,30	31,00	
7	21/02/2016	22,40	31,00	
	22/02/2016	22,80	32,30	
	23/02/2016	22,10	33,70	
	24/02/2016	20,90	33,40	
	25/02/2016	22,90	34,40	
	26/02/2016	22,30	35,50	
	27/02/2016	22,00	29,30	
	28/02/2016	17,80	28,80	15
	29/02/2016	14,60	30,40	
	01/03/2016	13,60	30,50	
8	02/03/2016	19,00	27,50	
	03/03/2016	18,00	22,70	99,5
	04/03/2016	17,70	27,80	0,5
	05/03/2016	16,20	28,60	
	06/03/2016	17,90	28,60	
	07/03/2016	16,70	28,80	

continuação APÊNDICE 3. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de dezembro de 2015 até junho de 2016. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
8	08/03/2016	15,80	31,00	
	09/03/2016	20,30	24,30	18,5
	10/03/2016	19,30	24,90	37
	11/03/2016	17,70	25,90	0,5
	12/03/2016	18,00	27,60	5
	13/03/2016	15,20	25,00	
	14/03/2016	17,20	28,70	
	15/03/2016	18,00	30,20	
	16/03/2016	18,90	32,60	
	17/03/2016	19,50	33,20	
	18/03/2016	20,30	33,60	
	19/03/2016	20,20	23,90	
	20/03/2016	19,80	23,40	25
	21/03/2016	20,00	26,90	7
22/03/2016	18,80	27,50		
9	23/03/2016	16,10	26,60	
	24/03/2016	16,70	27,80	
	25/03/2016	19,10	22,20	
	26/03/2016	20,00	26,50	
	27/03/2016	19,10	24,40	60
	28/03/2016	19,20	25,80	
	29/03/2016	17,10	27,40	
	30/03/2016	17,00	27,90	
	31/03/2016	18,00	29,20	
	01/04/2016	19,20	29,40	
	02/04/2016	19,80	31,30	
	03/04/2016	19,40	28,90	
	04/04/2016	19,10	26,50	18
	05/04/2016	21,30	31,50	
06/04/2016	21,50	32,40		
07/04/2016	20,50	28,20	60	
10	08/04/2016	18,60	24,80	
	09/04/2016	17,50	24,30	
	10/04/2016	21,60	26,10	
	11/04/2016	20,60	24,80	37
	12/04/2016	20,70	23,50	
	13/04/2016	20,50	29,20	
	14/04/2016	19,40	28,50	38
	15/04/2016	20,30	33,70	
	16/04/2016	21,00	34,70	
	17/04/2016	23,40	35,70	
18/04/2016	21,30	32,40		
11	19/04/2016	22,10	33,40	
	20/04/2016	22,00	28,20	
	21/04/2016	19,60	28,30	2
	22/04/2016	17,40	23,00	
	23/04/2016	20,40	27,10	
	24/04/2016	19,50	28,50	

continuação APÊNDICE 3. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de dezembro de 2015 até junho de 2016. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
11	25/04/2016	16,50	23,80	110
	26/04/2016	11,40	16,40	40
	27/04/2016	7,40	15,10	
	28/04/2016	4,10	15,80	
	29/04/2016	4,00	15,00	
	30/04/2016	7,40	17,20	
	01/05/2016	4,20	20,00	
	02/05/2016	5,90	22,10	3
	03/05/2016	11,10	20,60	
	04/05/2016	7,70	22,00	
12	05/05/2016	11,10	20,70	
	06/05/2016	10,10	19,80	
	07/05/2016	14,50	21,00	
	08/05/2016	16,50	22,30	
	09/05/2016	17,80	23,90	
	10/05/2016	16,50	23,00	
	11/05/2016	12,80	20,10	
	12/05/2016	9,40	16,10	
	13/05/2016	8,40	19,10	
	14/05/2016	13,10	24,20	
15/05/2016	12,50	18,70	55	
16/05/2016	9,10	16,00		
13	17/05/2016	7,90	14,30	
	18/05/2016	6,00	16,50	
	19/05/2016	4,10	17,20	
	20/05/2016	7,00	16,40	
	21/05/2016	11,90	19,70	
	22/05/2016	11,00	16,70	
	23/05/2016	7,30	16,10	7
	24/05/2016	4,40	18,50	
	25/05/2016	9,60	21,60	
	26/05/2016	12,60	22,60	
	27/05/2016	9,10	17,40	
	28/05/2016	10,90	22,00	
	29/05/2016	16,60	18,80	10
	30/05/2016	14,10	19,30	
	31/05/2016	9,60	19,90	
	01/06/2016	7,00	18,40	
02/06/2016	7,70	17,30		
03/06/2016	6,90	12,60		
04/06/2016	5,10	13,70		
05/06/2016	4,40	14,50		
06/06/2016	5,50	14,40		
07/06/2016	2,90	16,40		
08/06/2016	5,30	14,50		
09/06/2016	-0,40	14,40		
10/06/2016	1,30	13,70		
11/06/2016	1,20	12,60		

continuação APÊNDICE 3. Dados médios diários de temperatura e precipitação da Estação Experimental Agronômica da UFRGS de dezembro de 2015 até junho de 2016. Porto Alegre, 2017.

Janela de Infecção	Data	Temperatura (°C)		Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	
13	12/06/2016	1,30	14,50	5
	13/06/2016	-0,30	18,00	
	14/06/2016	3,30	19,80	
	15/06/2016	5,30	21,50	
	16/06/2016	9,70	18,10	
	17/06/2016	7,20	15,10	
	18/06/2016	3,70	9,90	
	19/06/2016	2,40	9,20	