

COLONIZAÇÃO DE FOLHAS DE LARANJEIRA 'PÊRA' E VARIEDADES AFINS POR *Guignardia citricarpa**

EVANDRO H. SCHINOR^{1**}, FRANCISCO A. A. MOURÃO FILHO^{1***}, CARLOS I. AGUILAR-VILDOSO² & JOAQUIM TEÓFILO SOBRINHO²

¹Departamento de Produção Vegetal, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-USP, Cx. Postal 9, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, e-mail: famourao@esalq.usp.br; ²Centro APTA Citros Sylvio Moreira-IAC, Cx. Postal 4, CEP 13490-970, Cordeirópolis, SP

(Aceito para publicação em 08/07/2002)

Autor para correspondência: Francisco de Assis Alves Mourão Filho

SCHINOR, E.H., MOURÃO FILHO, F.A.A., AGUILAR-VILDOSO, C.I. & TEÓFILO SOBRINHO, J. Colonização de folhas de laranja 'Pêra' e variedades afins por *Guignardia citricarpa*. Fitopatologia Brasileira 27:479-483. 2002.

RESUMO

Este trabalho visou avaliar possíveis diferenças na colonização e produção de estruturas nas folhas de clones de laranja (*Citrus sinensis*) 'Pêra' e variedades afins por *Guignardia citricarpa*. Quantificou-se a colonização natural (CN) e a produção de estruturas reprodutivas (ER) em folhas infetadas naturalmente e *in vitro* de dez clones de laranja 'Pêra', sendo eles: Bianchi, Dibbern C.V., EEL, IAC 2000, Olímpia 15161, Premunizada 1212, Premunizada 1743/82, R. Gullo 1569/244, R. Gullo 1570/246 e Vimusa; e em cinco variedades afins: Corsa Tardia, Lamb Summer, Ovale 968, Ovale San Lio 969 e Redonda C.N. A quantificação da CN de *G. citricarpa* nas folhas foi obtida por isolamento, sendo calculadas a incidência e a densidade de colonização para cada variedade. A produção de ER em folhas naturalmente infetadas foi realizada pelo processo de secagem-

umedecimento, quantificando-se a porcentagem de folhas afetadas assim como a área foliar ocupada pelas ER. A produção *in vitro* das ER foi realizada em meio ágar-água, sendo acondicionados, em sua superfície, discos foliares previamente autoclavados, e ao lado destes, fragmentos do micélio fúngico. Após 28 dias, avaliou-se a densidade de ER imaturas e total, e a porcentagem de picnídios com liberação de esporos. Concluiu-se, quanto à resistência de clones de laranja 'Pêra' e variedades afins estudados, que a capacidade de crescimento em folhas e a densidade de estruturas reprodutivas de *G. citricarpa* são diferenciais, entretanto não houve diferenças na colonização das folhas.

Palavras-chave adicionais: Mancha Preta dos Citros, *Phyllosticta citricarpa*, colonização, resistência.

ABSTRACT

Natural colonization of leaves of 'Pêra' sweet orange and related varieties by *Guignardia citricarpa*

The purpose of this research was to evaluate the differences in the colonization and production of structures in the leaves of 'Pêra' sweet orange (*Citrus sinensis*) clones and related varieties by *Guignardia citricarpa*. The natural colonization and the production of reproductive structures in the leaves and *in vitro* of ten 'Pêra' sweet orange was quantified in the following clones: Bianchi, Dibbern C.V., EEL, IAC 2000, Olímpia 15161, Premunizada 1212, Premunizada 1743/82, R. Gullo 1569/244, R. Gullo 1570/246 and Vimusa; and in five related varieties: Redonda C.N, Ovale 968, Ovale San Lio 969, Lamb Summer and Corsa Tardia. The quantification of the colonization density of *G. citricarpa* in the leaves was obtained through isolation. Incidence and colonization density (cm²) were calculated for each clone. The

production of reproductive structures was accomplished through the moistening and drying process of the leaves. The incidence (percentage of affected leaves) and the leaf surface percentage occupied by the reproductive fungus structures were quantified. The *in vitro* production of reproductive structures was accomplished in water-agar medium. The number of immature and total reproductive fungus structures (cm²), and the percentage of picnidia with liberation of spores were quantified. Significant differences were not observed among clones related to the colonization of the leaves. But there were differences in the induction experiments, i.e., in the leaf surface percentage occupied by the reproductive fungus structures and the *in vitro* production of reproductive fungus structures.

INTRODUÇÃO

A Mancha Preta dos Citros (MPC) ou Pinta Preta, causada pelo fungo *Guignardia citricarpa* Kiely, cuja fase

anamórfica corresponde a *Phyllosticta citricarpa* (Mc Alp.) Van der Aa, é uma doença que vem causando graves e crescentes prejuízos para a citricultura brasileira, afetando todas as variedades de laranjeiras (*Citrus sinensis* L. Osbeck), principalmente, as de maturação média-tardia ('Pêra') a tardias ('Valência' e 'Natal'). Com exceção da limeira ácida (*C. latifolia* Tanaka) 'Tahiti', da laranja 'Azeda' (*C.*

* Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor. USP/ESALQ

**Bolsista FAPESP

***Bolsista CNPq

aurantium L.) e seus híbridos, todas as variedades comerciais são suscetíveis, principalmente os limoeiros verdadeiros (*C. limon* Burn), que têm papel fundamental no início das epidemias da MPC (Kotzé, 1981; Aguilar-Vildoso, 1997). No campo, as variedades cítricas apresentam diferenças de suscetibilidade devido à época de maturação dos frutos, sendo mais evidentes entre espécies e variedades. Entretanto, há um grande desconhecimento da suscetibilidade entre os diferentes clones existentes dentro das variedades.

O patógeno, durante o seu ciclo de vida, pode atingir folhas e frutos de duas formas: pelos seus esporos assexuais (picnidiosporos) que se desenvolvem nas lesões, principalmente em frutos e menos freqüentemente nas folhas, no pedúnculo e também em folhas mortas; ou pelos seus esporos sexuais (ascósporos) que se desenvolvem nas folhas em decomposição no solo (Feichtenberger, 1996; Robbs, 1990). Os esporos, quando em contato com a superfície dos tecidos suscetíveis e em condições ambientais apropriadas, podem germinar dando origem a um apressório, seguindo-se de uma hifa infetiva que penetra na cutícula e se transforma em uma pequena massa de micélio que permanece quiescente ou em estado latente (McOnie, 1964; McOnie, 1967). Nas folhas e ramos, o patógeno, geralmente, iniciará novamente a sua atividade na morte destes tecidos, enquanto que nos frutos, quando estes entrarem em estágio de maturação, completando desta forma, o seu ciclo de vida nos pomares cítricos afetados.

O hospedeiro pode reagir diferencialmente no processo da patogênese ou nos diferentes tecidos afetados. Assim, a resistência horizontal ou parcial, a qual considera-se ser oligo/poligênica (Parlevliet, 1977; Nelson, 1978), possui componentes que podem estar relacionados aos diferentes passos do ciclo de vida do patógeno. Normalmente, estes componentes são determinados em tecidos vivos para a maioria dos fungos patogênicos, consistindo-se na determinação da fase latente, número e tamanho das lesões, e número de esporos por lesão. Entretanto, para patógenos, cuja fase saprofítica é importante, outros componentes devem ser avaliados. As características a serem estimadas são a colonização das folhas, a densidade de esporos ou estruturas reprodutivas, e a área colonizada em folhas em decomposição. Como a fase saprofítica é de extrema importância na epidemiologia da MPC, o mesmo será para o estudo dos mecanismos de resistência nos citros, visto que encontra-se relação entre a suscetibilidade dos hospedeiros no campo e a produção de estruturas reprodutivas em tecidos mortos, *in vitro* (Aguilar-Vildoso, 1996; Silva & Aguilar-Vildoso, 2000).

Sabendo-se das diferenças de suscetibilidade à MPC entre as espécies e variedades, é de grande importância a caracterização da resistência ao nível de clones dentro das variedades cítricas. Assim, a capacidade de infecção de tecidos verdes, multiplicação nas folhas em decomposição e produção de estruturas devem ser componentes chaves na interação *Citrus x Guignardia*. Portanto, este trabalho visou avaliar possíveis diferenças na colonização e produção de

estruturas nas folhas de clones de laranja 'Pêra' e variedades afins por *G. citricarpa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local

Os experimentos foram realizados na Clínica Fitopatológica de Citros, localizada no Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Citros "Sylvio Moreira" (CAPTACSM), IAC, em Cordeirópolis, SP, onde também se encontravam, em uma área experimental, os clones de laranja 'Pêra' e as variedades afins, instalados em dezembro de 1980, em blocos inteiramente casualizados com seis repetições e uma planta por parcela; em espaçamento de 7 x 5 m e enxertados em limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* L. Osbeck). O solo da área experimental é um Latossolo vermelho escuro distrófico, e o clima da região é do tipo Cwa.

Clones de laranja 'Pêra' e variedades afins

Os dez clones de laranja 'Pêra' utilizados nos experimentos foram: Bianchi, Dibbern C.V., EEL, IAC 2000, Olímpia 15161, Premunizada 1212, Premunizada 1743/82, R. Gullo 1569/244, R. Gullo 1570/246 e Vimusa; e as cinco variedades afins: Corsa Tardia, Lamb Summer, Ovale 968, Ovale San Lio 969 e Redonda C.N.

As plantas foram conduzidas sem irrigação, se encontravam no ano agrícola de 2000 e seus tecidos suscetíveis permaneceram à livre exposição ao patógeno da MPC.

Colonização natural das folhas

Para estimar a colonização natural dos tecidos foliares, coletaram-se dez folhas maduras (cor verde-escuro) de cada planta, aproximadamente a 1 m de altura, ao redor das plantas, as quais foram limpas em água corrente. Em seguida, as folhas foram imersas em álcool (96%), por 1 min, e hipoclorito de sódio (2%), por 3 min. Após a desinfecção superficial, as folhas foram cortadas em fragmentos de aproximadamente 0,36 cm² (adaptado de Glienke, 1995), e em seguida foram acondicionados dez fragmentos (cinco por folha) por placa de Petri, contendo meio cenoura-ágar-glicose, nas proporções de 200 g, 20 g e 180 g por litro, respectivamente. Este meio de cultura funciona como meio semi-seletivo à *G. citricarpa* (Campos & Aguilar-Vildoso, 2001). O meio foi autoclavado por 20 min a 120 °C.

As placas foram mantidas em câmara de crescimento a 25 °C, no escuro. Após cinco dias, foram realizadas as avaliações, contando-se o número de colônias de *G. citricarpa* que surgiram dos fragmentos de cada folha, em cada placa de Petri.

Obtiveram-se, então, a incidência e a densidade de colonização de *G. citricarpa* para cada clone de laranja 'Pêra' e afins. A incidência corresponde à porcentagem de fragmentos nos quais foi possível avaliar a presença de, pelo menos, uma colônia típica de *G. citricarpa*. A densidade de colonização consistiu-se do número médio de colônias de *G. citricarpa* isoladas por cm² de área foliar. Foi realizada

também a correlação entre a incidência e a densidade de colonização.

Produção de estruturas reprodutivas de *Guignardia citricarpa* em folhas

Para a produção de estruturas reprodutivas coletaram-se 12 folhas maduras (cor verde-escuro), aproximadamente a 1 m de altura, ao redor da planta, em seis plantas por clone de laranjeira 'Pêra' e variedades afins. As folhas foram lavadas em água corrente. Após a lavagem, as folhas foram acomodadas em bandejas de plástico, onde foram induzidas a entrarem em estágio de decomposição, sendo que diariamente sofreram processo de secagem - umedecimento, ocorrendo a produção de estruturas reprodutivas de *G. citricarpa* ou *P. citricarpa* (Kotzé, 1981), com o inóculo que naturalmente colonizou as folhas no campo, mas se encontrava na forma latente.

Quantificaram-se as folhas que apresentavam estruturas reprodutivas do fungo, e em seguida estimou-se a área da folha ocupada pelas mesmas. A área foi obtida a partir do desenho da folha em papel vegetal, delimitando a área ocupada pelos corpos de frutificação. Cada desenho foi digitalizado, e em seguida analisados pelo software SIARCS 3.0 (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo, versão 3.0), desenvolvido pela EMBRAPA-CNPDI, para o cálculo da porcentagem da área da folha ocupada pelas estruturas reprodutivas do fungo.

Produção *in vitro* de estruturas reprodutivas

Para a produção de estruturas *in vitro*, utilizaram-se, além dos acessos citados anteriormente, duas variedades controle: Trifoliata Limeira (*Poncirus trifoliata* Rafinesque) e limoeiro 'Eureka' (*C. limon*), resistente e suscetível a MPC, respectivamente, nas observações no Banco de Germoplasma do CAPTACSM-IAC.

As colônias de *G. citricarpa* (IAC-41/99), utilizadas para a instalação do experimento, foram escolhidas porque tiveram maior capacidade de diferenciação entre as variedades cítricas, e maior correlação com as diferenças de suscetibilidade encontradas em condições de campo (Silva & Aguilar-Vildoso, 2000).

De acordo com a metodologia utilizada por Aguilar-Vildoso (1996) e Silva & Aguilar-Vildoso (2000), folhas maduras foram coletadas, lavadas em água corrente e cortadas em fragmentos circulares de 0,8 cm de diâmetro. Posteriormente, foram autoclavados (20 min a 120 °C) e acondicionados cinco discos foliares de cada variedade em placas de Petri, contendo o meio ágar-água (3% p/v). Ao lado de cada disco foliar, foram plaqueados pequenos fragmentos da extremidade das colônias de *G. citricarpa*, desenvolvidos em meio cenoura-ágar. As placas foram vedadas e incubadas em câmara de crescimento a 25 °C, no escuro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por 15 tratamentos, com oito repetições. Cada avaliação nas parcelas foi representada pela média de três fragmentos foliares, cada um com três áreas aleatórias

de observação.

Após 28 dias, realizou-se a contagem do número de estruturas reprodutivas produzidas por *G. citricarpa* nos fragmentos foliares, com o auxílio de um microscópio estereoscópio, no aumento de 5x e objetiva de 20x. Em cada campo de observação, foram quantificados o total e o número de estruturas reprodutivas sem liberação de esporos e, posteriormente, foi calculada a porcentagem de estruturas com liberação. Para a realização da análise estatística, foi atribuído aos dados o teste W de Shapiro Wilk's, que indicou uma melhor distribuição dos dados após transformação em Log x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Colonização natural das folhas

Entre os clones de laranjeira 'Pêra' e variedades afins estudados obtiveram-se, em média para a densidade de colonização, 1,04 colônias por cm² de tecido foliar, variando de 0,73 a 1,57 para as seleções Ovale 968 e R. Gullo 1569/244, respectivamente. Já para a incidência, obtiveram-se em média 46% das folhas colonizadas, variando de 33% a 58% para as seleções Ovale 968 e Corsa Tardia, respectivamente. Entretanto, não houve diferenças significativas para as duas variáveis estudadas. Houve uma alta correlação entre a incidência e a densidade de colonização, com $R^2 = 0,82$, o qual foi significativo a 95%. Isto já era esperado, pois, à medida que há uma maior incidência, maior a probabilidade de novas infecções ocorrerem na mesma folha, aumentando a densidade de colonização, à semelhança do que ocorre na relação entre incidência e severidade das doenças quando a incidência é baixa (Bergamin Filho & Amorim, 1996).

Estes resultados sugerem que realmente não houve diferenças de colonização dos tecidos foliares pelo patógeno, possuindo, os materiais avaliados, os mesmos mecanismos bioquímicos e estruturais. Esta observação fundamenta-se em que houve uma homogeneidade do inóculo no ar, na área experimental, sendo reforçada pela incidência e severidade da doença nos frutos no local (dados não apresentados), onde também não se detectaram diferenças estatísticas.

Produção de estruturas reprodutivas de *Guignardia citricarpa* em folhas

Ao contrário do isolamento de colônias de *G. citricarpa* das folhas, a produção de estruturas reprodutivas do fungo em folhas mortas apresentou diferenças significativas entre as seleções avaliadas (Tabela 1). A precisão experimental foi baixa, a qual pode ser explicada devido às plantas permanecerem expostas à livre infecção por *G. citricarpa* e também à idade da folha coletada. Constatou-se também, uma alta correlação entre a incidência e porcentagem de área ocupada pelas estruturas ($R^2 = 0,86$ e $P < 0,05$), à semelhança da colonização das folhas.

Como não houve diferenças na colonização das folhas, os resultados de produção de estruturas nas folhas colhidas no experimento, evidenciam a provável diferenciação entre os acessos de laranjeira 'Pêra' e afins, quanto à capacidade

TABELA 1 - Produção de estruturas reprodutivas de *Guignardia citricarpa*, em folhas de 15 clones de laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis*), através do processo de secagem-umedecimento

Seleção	Produção de estruturas reprodutivas de <i>Guignardi citricarpa</i>	
	Incidência* (%)	Área com estruturas (%)*
Premunizada 1212	36,35 a	9,75 a
Olímpia 15161	28,47 ab	5,71 ab
Bianchi	24,27 abc	5,53 ab
Corsa Tardia	9,10 abcd	2,76 ab
IAC 2000	24,27 abcd	2,54 ab
EEL	12,13 abcd	2,07 ab
Vimusa	12,13 abcd	1,91 b
Ovale San Lio 969	12,13 abcd	1,67 ab
Dibbern C.V.	13,65 abcd	1,39 b
R. Gullo 1569/244	6,22 bcd	1,02 b
Lamb Summer	7,58 bcd	0,94 b
Premunizada 1743/82	6,07 bcd	0,32 b
Redonda C.N.	4,55 cd	0,30 b
Ovale 968	4,55cd	0,29 b
R. Gullo 1570/246	3,03 d	0,23 b
CV(%)	49,8	41,5

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Os dados foram transformados para raiz quadrada.

de crescimento saprofítico nas folhas mortas e/ou menor favorecimento de outros microrganismos competidores, levando à produção de maiores áreas com estruturas reprodutivas do fungo. Assim, esperava-se que houvesse uma diferenciação do inóculo produzido nas folhas em decomposição, levando a diferenças tanto da quantificação da MPC e da colonização das folhas.

Entretanto, estes dados conflitantes podem ser explicados pelos trabalhos de epidemiologia do padrão espacial da doença. No caso, no início do progresso da doença no pomar, as plantas sintomáticas possuem um padrão agregado com um raio médio de 30 m (Spósito *et al.*, 2001). Considerando esta informação, cada parcela experimental teria no mínimo 3600 m² (60 x 60 m) para se tentar evitar a sobreposição do inóculo. Portanto, a seleção de acessos cítricos, no delineamento atual, somente será possível quando ocorrer diferenças de penetração dos propágulos do patógeno aos tecidos foliares (isolamento), ou da casca do fruto (quantificação da doença).

Produção *in vitro* de estruturas reprodutivas

Houve diferenciação entre os acessos e principalmente entre os clones de laranjeira 'Pêra', através da quantificação total das estruturas reprodutivas de *G. citricarpa* (Tabela 2). Entre os clones a ordem decrescente de produção de estruturas reprodutivas foi a seguinte: Vimusa, R. Gullo 1570/246, EEL, IAC 2000, R. Gullo 1569/244, Premunizada 1743/82,

TABELA 2 - Número médio de estruturas reprodutivas imaturas (ERI) e total (ERT), por cm², e porcentagem de picnídios liberando esporos (% PLE), produzidos *in vitro*, por *Guignardia citricarpa*, em folhas autoclavadas de dez clones de laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis*), cinco variedades afins e duas variedades controle, aos 28 dias

Variedade	CFT *	CFI *	% PLE
Limoeiro 'Eureka'	784,03 a	673,03 a	14,2
Redonda C.N.	600,14 ab	509,42 ab	15,1
Vimusa	485,74 abc	405,55 abc	16,5
R. Gullo 1570/246	483,96 abc	411,07 abc	15,1
EEL	458,42 abc	402,16 abc	12,3
Corsa Tardia	436,44 abc	386,97 abc	11,3
IAC 2000	435,51 abc	368,38 abc	15,4
R. Gullo 1569/244	422,86 abc	365,92 abc	13,5
<i>Poncirus trifoliata</i>	415,31 abc	351,58 abc	15,3
Premunizada 1743/82	391,97 abc	348,01 abc	11,2
Premunizada 1212	363,88 bc	308,04 abc	15,3
Bianchi	337,83 bc	299,73 bc	11,3
Lamb Summer	331,72 bc	296,59 bc	10,6
Ovale San Lio 969	325,78 bc	289,21 bc	11,2
Ovale 968	322,90 bc	293,11 bc	9,2
Olímpia 15161	297,78 bc	251,95 bc	15,4
Dibbern C.V.	265,11 c	236,51 c	10,8
CV (%)	14,9	16,6	

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%. Os dados foram transformados para Log x.

Premunizada 1212, Bianchi, Olímpia 15161 e Dibbern C.V. O limoeiro 'Eureka' foi a variedade em que o fungo produziu maior quantidade de estruturas, estando de acordo com os dados apresentados por Silva & Aguilar-Vildoso (2000), apesar de não ter diferido da maioria dos clones de laranjeira 'Pêra'.

O *P. trifoliata* que não mostrava sintomas da MPC folhas e frutos, portanto, indicada no experimento, como variedade resistente, não diferiu estatisticamente do limoeiro 'Eureka' e dos clones de laranjeira 'Pêra' e variedades afins. Provavelmente, esta espécie, apesar de resistente, permite a colonização e a produção de estruturas reprodutivas em seus tecidos mortos, servindo como hospedeiro alternativo para *G. citricarpa*.

Diferenças na resistência varietal à MPC poderão vir a ser explicadas pela densidade de estruturas produzidas nas folhas, pois colonizando a mesma área de tecido foliar, poderá ocorrer diferenças na produção de inóculo.

Com estes resultados, podemos sintetizar para os clones de laranjeira 'Pêra' e variedades afins estudados que, tanto a capacidade de crescimento nas folhas em decomposição como a densidade de estruturas reprodutivas de *G. citricarpa* ocorrem de forma diferencial.

As informações disponíveis na literatura, relativas à

resistência de seleções de citros a MPC são inexistentes, e é de extrema importância que venham a ser desenvolvidos novos trabalhos relacionados a este assunto, podendo assim, haver um melhor entendimento destes e de outros componentes de resistência, como a capacidade reprodutiva de *G. citricarpa* nas folhas mortas de citros, permitindo uma melhor diferenciação de clones de uma mesma variedade à Mancha Preta dos Citros.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo financiamento do projeto e pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor, ao FUNDECITRUS pelo financiamento de parte do projeto e ao CAPTACSM-IAC, por ter cedido o local para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR-VILDOSO, C.I. Indução de pseudotécios de *Guignardia citricarpa*, em fragmentos foliares de diferentes espécies de plantas. *Summa Phytopathologica* 22:61. 1996. (Resumo).
- AGUILAR-VILDOSO, C.I. Pinta preta espalha-se por São Paulo. *Citricultura Atual* 1:8. 1997.
- BERGAMIN FILHO, A. & AMORIM, L. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. São Paulo: Agronômica Ceres. 1996.
- CAMPOS, S.B. & AGUILAR-VILDOSO, C.I. Efeito da glicose e sacarose no crescimento micelial de *Guignardia citricarpa* e *Phytophthora parasitica*. *Summa Phytopathologica* 27:97. 2001. (Resumo).
- FEICHTENBERGER, E. Mancha preta dos citros no Estado de São Paulo. *Laranja* 17:93-108. 1996.
- GLIENKE, C. Variabilidade genética no fungo endófito *Guignardia citricarpa* Kiely detectada por RAPD. (Dissertação Mestrado). Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 1995.
- KOTZÉ, J.M. Epidemiology and control of Citrus Black Spot in South Africa. *Plant Disease* 65:945-950. 1981.
- McONIE, K.C. Source of inoculum of *Guignardia citricarpa*, the citrus black spot pathogen. *Phytopathology* 54:64-67. 1964.
- McONIE, K.C. Germination and infection of ascospores of *Guignardia citricarpa* in relation to control of black spot. *Phytopathology* 57:743-746. 1967.
- NELSON, R.R. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. *Annual Review Phytopathology* 16:359-378. 1978.
- PARLEVLIET, J.E. Evidence of differential interection in the polygenic *Hordeum vulgare-Puccinia hordei* relation during epidemic development. *Phytopathology* 67:776-778. 1977.
- ROBBS, C.F. A mancha preta dos frutos cítricos (*Phyllosticta citricarpa*) ameaça a citricultura paulista. *Laranja* 11:87-95. 1990.
- SILVA, A.S. DA & AGUILAR-VILDOSO, C.I. Efeito *in vitro* do tipo de folha cítrica na produção de corpos de frutificação de *Guignardia citricarpa*. *Summa Phytopathologica* 26:99. 2000. (Resumo).
- SPÓSITO, M.B., BASSANEZI, R.B., FARIAS, P.R., LOURENÇO, S.A., LARANJEIRA, F.F., AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, A. Spatial pattern of citrus black spot in Brazil. In: *International Workshop on Plant Disease Epidemiology* 8, Ouro Preto, MG. 2001. pp.6-11.