



REAÇÃO DE ESPÉCIES CÍTRICAS À *Xanthomonas citri* subsp. *citri* EM FOLHAS DESTACAS

Aline Maria Orbolato Gonçalves-Zuliani¹; Larissa Siqueira Soares²; Paula Thais Requena Nocchi²; Diego Henrique Pereira Catan²; Carlos Alexandre Zanutto³; William Mário de Carvalho Nunes⁴

RESUMO: O uso de genótipos resistentes no controle do cancro cítrico é uma opção viável ao produtor e sustentável ao ambiente. Para avaliar genótipos promissores, experimentos de campo são realizados. No entanto estudos mostram que espécies de citros apresentaram sintomas típicos aos apresentados no campo quando a inoculação de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* foi aplicada artificialmente. O objetivo do trabalho foi avaliar genótipos cítricos com diferentes níveis de resistência ao cancro cítrico em inoculação de folhas destacadas. Um total de nove acessos de diferentes espécies cítricas foram investigados por inoculação com agulhas em folhas destacadas. Após a coleta e desinfecção das folhas, foram inoculadas por perfuração com agulha (0,55 x 0,20 mm). O inoculo de *X. citri* foi ajustado a uma concentração de 10⁹ UFC/mL por espectrofotômetro 600 nm. As avaliações foram realizadas com auxílio de um micrômetro que mediu o diâmetro das lesões. Ocorreram diferenças significativas nos diâmetros de lesões dos nove acessos de citros estudados. O genótipo 'Pêra IAC' mostrou maior resistência ao patógeno, apresentando a menor média de diâmetro de lesão (1,32mm). Já a variedade 'Washington navel' apresentou o maior diâmetro de lesão (1,84 mm), sugerindo a ela uma baixa resistência a *X. citri*. A avaliação de variedades, visando resistência ao cancro cítrico pelo método de folhas destacadas mostrou ser uma importante ferramenta para auxiliar nos programas de melhoramento de citros, visto que mostra resultados semelhantes aos obtidos em condições de casa-de-vegetação e campo.

PALAVRAS-CHAVE: Cancro cítrico; inoculação; lesões; resistência.

1 INTRODUÇÃO

O cancro cítrico, uma doença bacteriana causada pela *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (SCHAAD et al., 2006) vem se destacando pelos danos e perdas ocasionados a citricultura brasileira. Esse patógeno penetra nos tecidos vegetais do hospedeiro, tendo como porta de entrada estômatos, hidatódios, lenticelas ou ferimentos (GOTWALD, GRAHAM, 1992; GRAHAM et al., 1992).

O estudo da resistência de genótipos ao cancro cítrico em condições controladas de casa-de-vegetação não exclui a necessidade de estudos em campo. No entanto, avaliações prévias nessas condições controladas podem auxiliar no estudo da resistência

¹ Doutoranda do curso de pós-graduação em agronomia da Universidade Estadual de Maringá; Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CAPES. alineorb@hotmail.com

² Mestrandos do curso de pós-graduação em agronomia da Universidade Estadual de Maringá; Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CAPES, CNPq. paizinhos_larissa@hotmail.com

³ Eng. Agrônomo, Dr. da Universidade Estadual de Maringá; Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. cazanutto@uem.br.

⁴ Orientador, Professor Doutor do curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá; Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM. william.nunes@pq.cnpq.br

(VILORIA et al. 2004). O uso da inoculação em folhas destacadas pode ser uma técnica mais rápida, de menor custo e com maiores números de genótipos ou repetições, não dependendo de um espaço, como casa-de-vegetação ou área no campo para se instalar o experimento. Além disso, a rápida informação em relação às plantas de citros que mostrem potencial resistência a *X. citri* seria muito útil em programas de melhoramento genético de citros. Diante disso o estudo teve como objetivo avaliar diferentes genótipos de citros com diferentes níveis de resistência ao cancro cítrico em metodologia de inoculação de folhas destacadas, mantidas em tubo Falcon.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Avaliou-se oito genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*): ‘Valência Mutação’ (03), ‘Castellana iva 64-3’ (05), ‘Bey Navel’ (17), ‘Washington Navel’ (24), ‘Baia Leng’ (16), ‘Pêra IAC’ (22), ‘Pera ovo’ (20), ‘Salustiana SPA 11’ (11) e ‘Khailily White’ (23), sendo que a estirpe de *Xanthomonas citri* utilizada na inoculação das plantas estudadas foi a Xcc 306. As folhas utilizadas no experimento foram coletadas de plantas cítricas localizadas em um pomar experimental na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), município de Maringá, Paraná.

Ramos dos oito genótipos estudados, com a mesmo estágio de maturação e com boa sanidade (sem sintomas ou sinais de patógenos) foram coletados de plantas do pomar experimental da FEI. Os ramos foram lavados e desinfetados com Hipoclorito 1% e com auxílio de um estilete foi feito o corte das folhas, sendo este próximo ao pecíolo e o ramo. Imediatamente após o corte, a folha foi inoculada com perfuração com agulha (0,55 x 0,20 mm), com oito perfurações por folha, sendo o inoculo ajustado a uma concentração de 10^8 UFC/mL (BELASQUE JR, JESUS JR, 2006) em espectrofotômetro a 600 nm. Após a inoculação as folhas foram mantidas em tubo Falcon, o qual continha cerca de 1,5 ml de água de torneira (Figura 1).

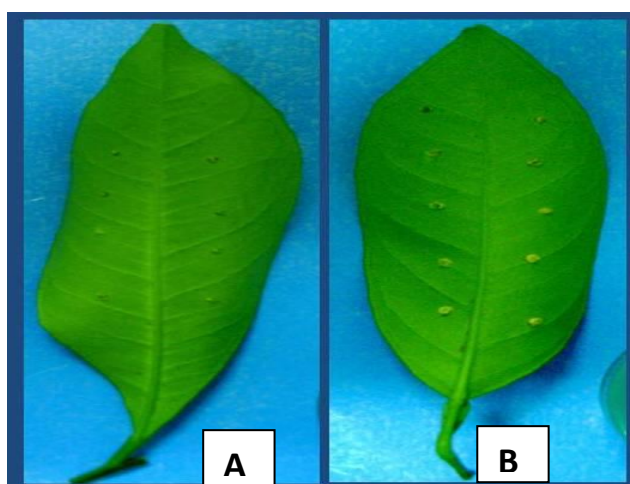
Foram feitas oito repetições de cada genótipo, e as avaliações foram realizadas pela medida do diâmetro de lesões com auxílio de um micrômetro externo (*Disma* 0–25mm). As avaliações iniciaram aos sete dias após a inoculação, sendo feitas outras duas avaliações a cada três dias. Os resultados obtidos para diâmetro de lesões foram analisados utilizando-se o software SISVAR, versão 5.1. O teste utilizado para a comparação das médias dos parâmetros avaliados foi o de Scott Knott, ao nível de 5% de significância.



Figura 1. Ensaio com Folhas de citros destacadas. A - Folhas destacadas mantidas em tubo Falcon sob estante de isopor. B- Preenchimento do tubo Falcon com água de torneira na metade do pecíolo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No ensaio de inoculações de *X. citri* mantidas como folhas destacadas em tubo Falcon os sintomas se iniciaram nos cinco dias após a inoculação nas variedades 'Castellana ivia' e 'Washington navel' e aos seis dias nas demais variedades. As lesões iniciaram na parte abaxial da folha como pústulas brancas, esponjosas e salientes (Figura 2), sendo que na superfície adaxial ao final do experimento foi possível observar lesões escurecidas e grossas em coloração marrom a castanho claro. Esses sintomas descritos estão de acordo com os relatados por Wang et al. (2011).



*A – 'Pera IAC'; B – 'Washington Navel'

Figura 2. Diferentes respostas dos genótipos de citros inoculados com *Xanthomonas citri*.

As variedades estudadas mostraram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade nas medidas do diâmetro das lesões, quando inoculadas artificialmente e mantidas sob condições de folhas destacadas em tubo Falcon. A variedade 'Pera IAC' (1,32mm) apresentou os menores diâmetros de lesões, diferindo significativamente de todas as outras. As variedades 'Khailily White' (1,48mm) e 'Pera ovo' (1,52mm) não diferiram significativamente entre si. Também não apresentaram diferenças entre si às variedades 'Baia leng' (1,56mm), 'Salustiana SPA11' (1,61mm), 'Castellana ivia' (1,62mm), 'Valencia Mutação' (1,64mm) e 'Bey navel' (1,65mm). A variedade 'Washington navel' (1,84mm) apresentou os maiores diâmetros de lesões comparadas às demais (Tabela 1). Visualmente foi possível observar a diferença na resistência ao cancro cítrico entre a 'Pera IAC' e 'Washington navel' (Figura 2). Esses resultados concordam com os trabalhos de Amaral et al. (2010) desenvolvidos em casa de vegetação, quando classificam a variedade 'Pêra IAC' e 'Washington navel' como moderadamente resistente e altamente suscetível a *X. citri*, respectivamente. Em condições de campo, Vargas (2008) classificou a 'Pêra IAC' como moderadamente resistente e a variedade 'Washington navel' como suscetível.

Tabela 1. Médias dos diâmetros das lesões dos genótipos laranja doce estudados.

N ° Genótipos	Genótipos	Média de Lesões (mm)
22	'Pêra IAC'	1,32 a
23	'Khailily White'	1,48 b
20	'Pêra ovo'	1,52 b
16	'Baia Leng'	1,56 c
11	'Salustiana SPA 11'	1,61 c
05	'Castellana ivia'	1,62 c
03	'Valencia Mutação'	1,64 c
17	'BeyNavel'	1,64 c
24	'Whashington navel'	1,84 d

Médias nas colunas seguidas por letras diferentes diferem pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$) com coeficiente de variação de 8,81%.

4 CONCLUSÃO

O genótipo 'Pêra IAC' e 'Washington navel' mostraram resultados semelhantes aos apresentados em condições de campo e casa de vegetação. Evidenciando que a avaliação da resistência de variedades pelo método de folhas destacadas mostrou ser uma importante ferramenta em estudos de resistência de genótipos cítricos à *X. citri*.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, A.M.; CARVALHO, S.A.; SILVA, L.F.C.; MACHADO, M.A. Reaction of genotypes of citrus species and varieties to *Xanthomonas citri* subsp. *citri* under Greenhouse conditions. **Journal of Plant Pathology**, 92, p. 519-524, 2010.
- BELASQUE JR, J.; JESUS JR, W.C. Concentração de inoculo e método de inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **Laranja**, 27, p. 263-272, 2006.
- GOTTWALD, T.R. & GRAHAM, J.H. A device for precise and nondisruptive stomatal inoculation of leaf tissue with bacterial pathogens. **Phytopathology**, 82, p. 930-935, 1992.
- GRANHAM, J.H.; GOTTWALD, T.R.; RILEY, T.D.; ACHOR, D. Penetration through leaf stomata and growth of strains of *Xanthomonas campestris* in citrus cultivars varying in susceptibility to bacterial diseases. **Phytopathology**, 82, p. 1319-1325, 1992.
- SCHAAD, N. W.; POSTNIKOVA, E.; LACY, G.; SECHLER, A.; AGARKOVA, I.; STROMBERG, V.K.; VIDAVER, A.K. Emended classification of xanthomonad pathogens on citrus. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 29, p. 690-695, 2006.
- VARGAS, R.G. Resistência de variedades de *Citrus* sp. à *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* em condições de campo na região noroeste do estado do Paraná. **[Dissertação de Mestrado]** Univers. Est. de Maringá-UEM, 49p, 2008.
- VILORIA, Z.; DROUILLARD, D.L.; GRAHAM, J.H.; GROSSER, J.W. Screening triploid hybrids of 'Lakeland' limequat for resistance to citrus canker. **Plant Disease**, 88, p. 1056-1060, 2004.
- WANG, Y.; FU, X.Z.; LIU, J.H.; HONG, N. Differential structure and physiological response to canker challenge between 'Meiwa' kumquat and 'Newhall' navel orange with contrasting resistance. **Scientia Horticulturae**, 128, p. 115-123, 2011.