



ESTUDO DA RESISTÊNCIA DE ESPÉCIES CÍTRICAS À *XANTHOMONAS CITRI* SUBSP. *CITRI*

Larissa Siqueira Soares¹, Aline Maria Orbolato Gonçalves-Zuliani², Bruna Rafaela Barbieri³, Angélica Albuquerque Tomilheiro Frias⁴, Carlos Alexandre Zanutto⁵, William Mário de Carvalho Nunes.⁶

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar genótipos cítricos com diferentes níveis de resistência ao cancro cítrico por 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 10⁸ 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 pelo método de folhas destacadas mostrou ser uma importante ferramenta para auxiliar em programas de melhoramento de citros, obtendo resultados semelhantes aos em condições de casa-de-vegetação e campo.

PALAVRAS-CHAVE: Cancro cítrico; inoculação; lesões.

1 INTRODUÇÃO

Cancro cítrico é uma doença bacteriana causada pela *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (SCHAAD et al., 2006) tem se destacado pelos danos e perdas acarretados à citricultura brasileira. Esse patógeno penetra no tecido vegetal do hospedeiro, exclusivamente por 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. Entretanto, avaliações prévias nessas condições controladas podem auxiliar no estudo da resistência (VILORIA et al. 2004). O uso da inoculação em folhas destacadas se mostrou uma técnica rápida, de custo baixo e com maior número de genótipos ou repetições, não dependendo de um amplo espaço para instalação do experimento, como casa-de-vegetação ou área no campo. Ainda, a rápida expressão do potencial resistência a *X. citri* em plantas de citros, pode ser muito útil em programas de melhoramento genético. 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

Foram avaliados oito genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*): 'Valência Mutaçãõ' (03), 'Castellana ivia 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), utilizando a estirpe Xcc 306 de *Xanthomonas citri* na inoculação das plantas estudadas. As folhas utilizadas no experimento foram coletadas de plantas cítricas localizadas no 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 mesmos foram lavados e desinfetados com Hipoclorito 1%, subseqüentemente, foi feito o corte das folhas com auxílio de um estilete, sendo este próximo ao pecíolo e o ramo. Imediatamente após o corte, a folha foi

¹ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia; Nucleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CNPq. soares_lari@hotmail.com

² Eng. Agrônoma, Doutora em Agronomia; Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. alineorb@hotmail.com

³ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia; Nucleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. Bolsista CNPq. brunabarbieri91@hotmail.com

⁴ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia; Nucleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. Bolsista da Capes. angelicafrias16@hotmail.com

⁵ Eng. Agrônomo, Dr da Universidade Estadual de Maringá; Nucleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. cazanutto@gmail.com

⁶ Orientador Professor Doutor do Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá; Nucleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná. Bolsista de produtividade do CNPq. wmcnunes@uem.br



inoculada por perfuração com agulha (0,55 x 0,20 mm), com oito perfurações por folha, por inoculo previamente 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).

Realizou-se, 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 feita 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.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

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

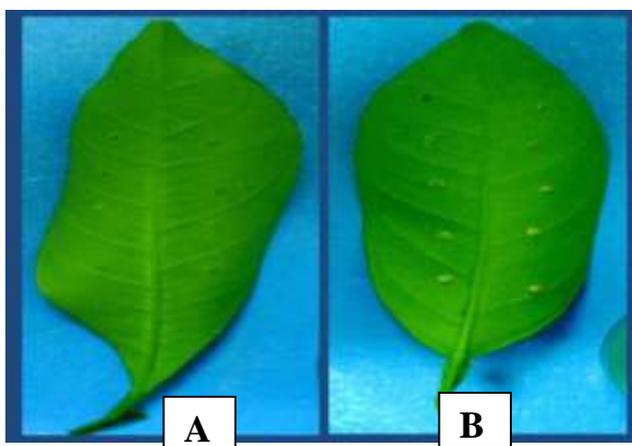


Figura 2. Diferentes respostas dos genótipos de citros inoculados com *Xanthomonas citri*. (A- ‘Pera IAC’; B – ‘Washington Navel’)

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 as variedades ‘Baia leng’ (1,56mm), ‘Salustiana SPA11’ (1,61mm), ‘Castellana ivia’ (1,62mm), ‘Valencia Mutaçao’ (1,64mm) e ‘Bey navel’ (1,65mm). A variedade ‘Washington navel’ (1,84mm) apresentou os maiores diâmetros de lesões comparado as 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 ‘Pera IAC’ e ‘Washington navel’ como moderadamente resistente e altamente suscetível a *X. citri*, respectivamente. Em condições de campo, Vargas (2008) classificou a ‘Pera IAC’ como moderadamente resistente e a variedade ‘Washington navel’ como suscetível.

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

N ^o Genótipos	Genótipos	Média de Lesões (mm)
22	‘Pera IAC’	1,32 a
23	‘Khailily White’	1,48 b
20	‘Pera 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 Mutaçãõ'	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