



## AValiação DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE PÊRA (*Citrus sinensis*) AO Cancro CÍTRICO EM CONdições DE Casa DE VEGETAÇÃO.

Andressa Cazetta (PIBIC/CNPq/Uem), William Mário de Carvalho Nunes (Orientador), e-mail: andressa\_cazetta@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias / Maringá, PR.

5.01.00.00-9 Agronomia / 5.01.02.00-1 Fitossanidade

**Palavras-chave:** Pera, resistência, *Xanthomonas*.

### Resumo

A bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* é a principal causadora do Cancro Cítrico, afetando quase todas as variedades comerciais de laranja do mundo. Ela pode se instalar, através dos estômatos, hidatódios, lenticelas ou ferimentos, sendo os principais sintomas lesões salientes com um halo amarelo nas folhas e nos frutos as lesões semelhantes agravadas com a queda antes da maturação. O objetivo do trabalho foi avaliar a resistência de genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade Pêra a bactéria *X. citri*, em condições parcialmente controladas (casa de vegetação). As variedades escolhidas foram Pera 460, 331, 436 e 329, inoculadas com agulha de 0,55 x 0,20 mm imediatamente após a imersão na suspensão bacteriana, sendo ajustada a 108 ufc/mL. Avaliamos os diâmetros médios das lesões de cada variedade no período de 76 dias após a inoculação (DAI) através de um micrômetro, submetemos os dados ao teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

### Introdução

A bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (SCHAAD et al., 2006) é o agente causal do cancro cítrico, que ao citricultor causa sérios prejuízos. As variedades cítricas variam amplamente em relação à suscetibilidade a *X. citri* subsp. *citri*, e as que apresentem maior tempo de crescimento vegetativo são mais vulneráveis a infecção do patógeno, a resistência a bactéria está diretamente relacionada à juvenildade do tecido (GOTTWALD; GRAHAM, 1992; GRAHAM et al., 1992).

O cancro cítrico pode ser controlado através de medidas de exclusão e erradicação de plantas contaminadas (BELASQUE JR., 2006). O controle da doença garante a redução das perdas econômicas ao produtor, já que as lesões afetam de forma drástica a comercialização da fruta in natura e seu processamento industrial.

No presente trabalho o objetivo foi avaliar a resistência de genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*) ao cancro cítrico, variedade Pêra a bactéria *X. citri* subsp. *citri*, em condições parcialmente controladas (casa de vegetação).





## Materiais e métodos

### *Material biológico e implantação do experimento*

Foram avaliados no presente estudo, quatro genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade Pera, sendo Pera 460, 331, 436 e 329. Inoculadas a partir da estirpe Xcc 306, proveniente da coleção do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) e armazenada no laboratório de Biotecnologia do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada (NBA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

O experimento foi montado em condições parcialmente controladas em casa de vegetação nas instalações do NBA (23° 23' 57,8" S; 55 51° 57' 5,3" O e aproximadamente 500 m de altitude) pertencente à Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.

### *Culturas bacterianas e preparo do inoculo*

As mudas foram podadas 50 dias antes da inoculação, obtendo folhas homogêneas e imaturas conforme Vilorio et al. (2004). As culturas bacterianas e o preparo do inoculo foram feitos a partir do isolado Xcc 306 e mantida em tampão fosfato (0,075 M, pH 7,0) em geladeira. Para a sua reativação, a bactéria foi semeada em placas-de-Petri contendo meio de cultura Manitol Glutamato Yeast (10g manitol, 2g ácido L-glutâmico, 0,5g fosfato de potássio, 0,2g NaCl, 0,2g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1g extrato de levedura, 15g de ágar/L de água destilada), conforme Nocchi, (2014), por aproximadamente 48 horas a 28°C, mantidas em estufa bacteriológica. Após esse período o inoculo foi preparado em tampão fosfato (0,075M, pH 7,0) e ajustado a 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia/mL (BELASQUE JR.; JESUS JR., 2006) com auxílio de um espectrofotômetro ajustado para leitura a 600 nm.

A inoculação empregada consistiu no ferimento do limbo foliar com agulha de 0,55 x 0,20 mm imediatamente após a imersão da mesma na suspensão bacteriana. Em cada folha realizou-se seis perfurações subepidérmicas distribuídas, sendo inoculadas seis folhas por planta, num total de cinco plantas por genótipo. Durante as primeiras 24 horas após a inoculação realizou-se o molhamento em toda a casa de vegetação, atentando sempre para não ocorrer molhamento nas folhas inoculadas. Durante todo experimento as plantas permaneceram em casa de vegetação, sob temperaturas entre 13 e 35°C. As avaliações do diâmetro médio das lesões foram realizadas no período de 19, 25, 33, 39, 46, 61, 68 e 76 dias após a inoculação. Para auxiliar na mensuração utilizou-se um micrômetro. Em cada avaliação foram medidos os diâmetros de 30 lesões, no sentido longitudinal na superfície abaxial das folhas, desprezando a presença de halo amarelo ao redor da necrose. Os diâmetros das lesões nos dois ensaios e a quantificação bacteriana foram comparados entre os tratamentos por análise de variância (teste F) e teste de agrupamento de médias Scott-knott a 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Submetendo cada tratamento as condições estabelecidas de inoculação artificial, notamos que todas as variedades apresentaram susceptibilidade ao desenvolvimento de X.





*citri* subsp. *citri*, já que em todos os casos houve presença nítida dos sintomas da doença, assim como já observado pelos pesquisadores Gottwald (1993) e Belasque Jr. et al. (2008).

As avaliações se estenderam por 76 dias e durante esse período notamos que as lesões evoluíram continuamente (figura 1), o ensaio dos diâmetros médios das lesões variou entre 1,16 até 1,84 mm. Nociti et. al (2006) em suas comparações da agressividade de linhagens de *Xanthomonas* em casa de vegetação por um período de 94 dias, constatou que a evolução dos diâmetros das lesões era contínua, sendo que os seus valores variaram de 1,28 a 5,15 milímetros.

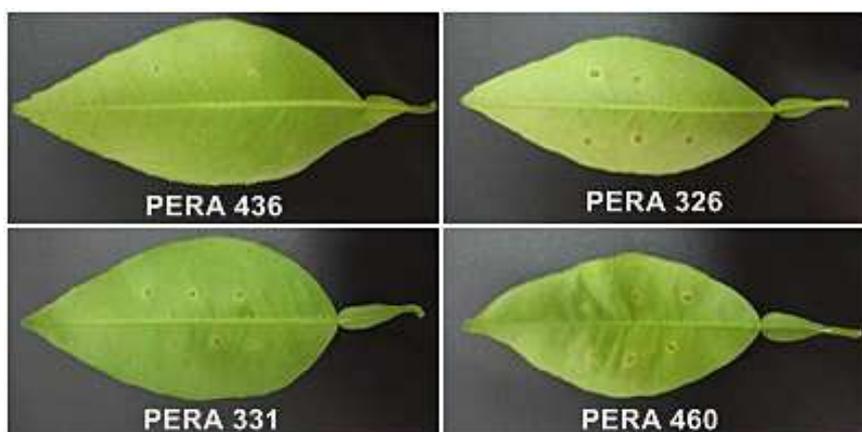


Figura 1: Diâmetro das lesões em cada variedade no 76° DAI.

Visivelmente percebemos que o desenvolvimento da doença foi diferente em cada variedade e através do teste estatístico de Scott-Knott conseguimos diferenciar a espécie que melhor se destacou na resistência a doença.

Na tabela 1, podemos analisar as diferentes médias obtidas após o agrupamento. Notamos que a variedade Pera 460 foi a que teve maior média e consequentemente menor resistência à doença, obtendo os maiores diâmetros quando analisada na Casa de Vegetação. Ainda, a variedade Pera 436 foi a que obteve a menor média, podemos dizer que está é a variedade com menor desenvolvimento da doença, concluindo sua maior resistência em Casa de Vegetação, com a obtenção dos seus menores diâmetros.

Tabela 1: Diferenciação de cada variedade ao desenvolvimento da doença, analisadas por agrupamento de médias através de Scott-Knott.

Tratamentos	Médias	Resultado do teste
<b>PERA 436</b>	1.240750	a1
<b>PERA 329</b>	1.372500	a2
<b>PERA 331</b>	1.399500	a2
<b>PERA 460</b>	1.630250	a3

\* médias seguidas pelo mesmo número não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Fonte: Sisvar 5.6





## Conclusões

A partir dos resultados obtidos, observou-se que o genótipo Pera 436 apresentou menor susceptibilidade ao cancro cítrico, enquanto que o genótipo Pera 460 foi o mais suscetível entre eles. Essa busca por cultivares mais resistentes é essencial e a melhor opção a longo prazo para o manejo e controle do cancro cítrico (Viloria et al., 2004), garantindo assim que a citricultura sofra menos com os prejuízos causados pela doença.

## Agradecimentos

À Deus, pelas bênçãos concedidas.

Aos meus pais, pela educação e por todos os anos dedicados as minhas vitórias.

A todos os integrantes do NBA, pelos ensinamentos, paciência e sabedoria.

E ao CNPq pelo investimento.

## Referências

BELASQUE JR., J.; JACIANI, F. J.; MARIN, D. R.; BARBOSA, J. C. Tamanho da amostra para quantificação do diâmetro de lesões de cancro cítrico. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 317-322, 2008.

GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H.; SCHUBERT, T.S. Citrus canker: The pathogen and its impact. **Online. Plant Health Progress** doi: 1094/PHP-2002-0812-01-RV. <http://www.apsnet.org/online/feature/citruscanker/>. 2002

GRAHAM, 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**, v. 82, p. 1319-1325, 1992.

NOCITI, L. A. S.; CAMARGO, M.; RODRIGUES NETO, J.; FRANCISCHINI, F. J. B.; BELASQUE JR., J. Agressividade de linhagens de *Xanthomonas axonopodis* pv. *aurantifolii* tipo C em lima ácida Galego. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 140-146, 2006.

NOCCHI, P.T.R. Estudo da diversidade genética de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* e avaliação de meios de cultivo. 2014. 104f. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, 2014. – UEM.

