

AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE *Xanthomonas citri* subsp. *citri* EM GENÓTIPOS DE LARANJA DOCE (*Citrus sinensis*) EM DIFERENTES CONDIÇÕES.

Ana Flávia Pedrão (PIBIC/CNPq/UEM), William Mário de Carvalho Nunes (Orientador), e-mail: flaviapedrao7@gmail.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: Cancro Cítrico, folhas destacadas, genótipos.

Resumo

O Cancro Cítrico causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp *citri*, constitui-se em uma das doenças mais problemáticas dos citros. Dentre os sintomas estão o aparecimento de lesões necróticas em folhas, ramos e frutos, provocando a queda prematura destes e perda na sua qualidade. Neste trabalho buscou-se avaliar a severidade de cancrose nas folhas inoculadas com *X. citri* em diferentes condições (em casa de vegetação e folhas destacadas). Os genótipos testados foram Valência Frost, Pera IAC e África do Sul, inoculados com agulha imediatamente após a imersão na suspensão bacteriana, sendo ajustada a 10^8 ufc/mL. No experimento realizado em casa de vegetação, avaliou-se os diâmetros das lesões, como auxílio de um paquímetro eletrônico, aos 1, 9, 18, 27, 36, 45 e 54 dias após a inoculação (DAI), enquanto que no experimento com folhas destacadas foram avaliadas aos 9 DAI. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Introdução

O Cancro Cítrico, cujo agente etiológico é a bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (SCHAAD et al., 2006), trata-se de uma das mais importantes doenças dos citros, uma vez que afeta tanto a comercialização quanto o processamento dos frutos. Os genótipos variam amplamente em relação a susceptibilidade a bactéria, ou seja, aqueles que apresentam maior tempo de crescimento vegetativo são mais vulneráveis a infecção do patógeno (GOTTWALD; GRAHAM, 1992; GRAHAM et al., 1992).

A inoculação em folhas destacadas é um modo de acelerar as avaliações de resistência, apresenta baixo custo e permite avaliar um grande número de genótipos, sem depender de grande espaço.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a severidade de cancrose nas folhas em duas diferentes condições (em casa de vegetação e folhas destacadas), utilizando três genótipos distintos de laranja, inoculadas artificialmente com *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.

Materiais e métodos

Material Biológico e Implantação do Experimento

Avaliou-se três genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*), sendo eles, Valência Frost, Pera IAC e África do Sul. Estes foram inoculados a partir da estirpe Xcc 306, proveniente da coleção do Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus) e armazenada no laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada (NBA), da Universidade Estadual de Maringá (UEM). O experimento foi instalado em condições parcialmente controladas, em casa de vegetação, nas instalações do NBA, pertencente à UEM, Maringá, Paraná. Para a condição de folhas destacadas, estas foram coletadas das plantas cítricas situadas na mesma casa de vegetação.

Preparo do Inoculo

As mudas foram podadas 50 dias antes da inoculação e o inoculo foi preparado a partir do isolado Xcc 306, o qual encontrava-se em tampão fosfato (0,075 M, pH 7,0) em geladeira. Para a reativação da bactéria, esta foi semeada em placas de Petri contendo o meio de cultura Manitol Glutamato Yeast [MGY] (10g manitol, 2g ácido Lglutâmico, 0,5g fosfato de potássio, 0,2g NaCl, 0,2g MgSO₄7H₂O, 1g extrato de levedura, 15g de ágar/L de água destilada), conforme Nocchi, (2014), por aproximadamente 48 horas a 28°C e mantida em estufa bacteriológica. Posteriormente, o inoculo foi preparado em tampão fosfato (0,075 M, pH 7,0) e ajustado a 10⁸ unidades formadoras de colônia/mL (BELASQUE JR.; JESUS JR., 2006) com auxílio de um espectrofotômetro ajustado para leitura a 630 nm. O método de inoculação empregado consistiu no ferimento do limbo foliar com uma agulha imediatamente após a imersão desta na suspensão bacteriana. Realizou-se em cada folha oito perfurações subepidérmicas, sendo inoculadas dez folhas por genótipo.

No experimento montado em casa de vegetação, foram inoculadas duas plantas por genótipo, sendo cinco folhas inoculadas em cada uma. Durante as primeiras 24 horas após a inoculação, a casa de vegetação foi molhada, atentando-se para que não ocorresse o molhamento das folhas inoculadas. Ao longo de todo o experimento, as plantas permaneceram na casa de vegetação, sob a faixa de temperatura de 13 a 35°C.

Em contrapartida, no experimento com folhas destacadas foram coletados ramos dos três genótipos estudados. Tais ramos (sadios e no mesmo estágio fisiológico) foram lavados e desinfetados com o uso de uma solução de hipoclorito 1%. Em seguida, os ramos foram cortados com uma tesoura de poda também esterilizada, de modo que uma parte destes ainda permanecessem junto à folha com o pecíolo. Imediatamente após o corte, as folhas foram inoculadas. Após a inoculação, as folhas foram mantidas em tubo Falcon, contendo água suficiente para cobrir parte do ramo e metade do pecíolo, sem atingir o limbo foliar. Posteriormente, o tubo foi fechado por completo, para a ocorrência da transpiração normal da folha. Durante o experimento, a água contida no tubo foi repostada sempre que necessário e as folhas mantidas em temperatura ambiente (em torno de 25°C). Ao todo, realizou-se dez repetições de folhas inoculadas para cada genótipo.

As avaliações foram feitas através da medição do diâmetro das lesões, com o auxílio de um paquímetro eletrônico. No experimento em casa de vegetação, as avaliações foram feitas aos 1, 9, 18, 27, 36, 45 e 54 dias após a inoculação (DAI), enquanto que no experimento com folhas destacadas avaliou-se aos 9 DAI. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância, fazendo-se uso do software Sisvar, versão 5.6.

Resultados e Discussão

Nos dois ensaios, todos os genótipos mostraram alguma suscetibilidade ao desenvolvimento de *X. citri* subsp. *citri*, uma vez que em todos os casos houve o aparecimento dos sintomas da doença.

Com os resultados gerados através do programa Sisvar 5.6, para o experimento em casa de vegetação, observou-se que as médias dos três tratamentos (genótipos) não diferiram a 5% de probabilidade (tabela 1), contrapondo-se aos resultados obtidos por Gonçalves-Zuliani *et al.*, (2011b), para a variedade Pêra IAC, a qual foi um dos genótipos de laranja doce avaliados que apresentou os menores diâmetros de lesões durante o ensaio.

Em concordância com o estudo de Gonçalves-Zuliani *et al.*, Amaral *et al.* (2010) também classificou a variedade Pêra IAC como um genótipo moderadamente resistente, embora os métodos de inoculação e avaliação de sintomas tenham sido contrastantes entre os dois estudos. Além disso, Amaral *et al.* categorizou a variedade Valência Frost como suscetível a Xcc. Em relação ao genótipo África do Sul, este foi identificado como resistente nos experimentos de campo realizados por Vargas *et al.* (2013).

Tabela 1: Diferenciação de cada variedade ao desenvolvimento da doença, no experimento em casa de vegetação, analisadas por agrupamento de médias através do teste de Scott-Knott.

| Tratamentos | Médias | Resultado do Teste |
|----------------|----------|--------------------|
| África do Sul | 1.590000 | a1 |
| Valência Frost | 1.710000 | a1 |
| Pêra IAC | 1.760000 | a1 |

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

Por outro lado, na tabela 2, pode-se analisar as diferentes médias obtidas após agrupamento, para o experimento de folhas destacadas. Nota-se que a variedade África do Sul foi a que apresentou menor média e conseqüentemente maior resistência a doença, diferindo significativamente das demais variedades.

Tabela 2: Médias obtidas para cada variedade quanto ao desenvolvimento da doença, no experimento de folhas destacadas, analisadas através do teste de Scott-Knott.

| Tratamentos | Médias | Resultado do Teste |
|----------------|----------|--------------------|
| África do Sul | 1.378000 | a1 |
| Valência Frost | 1.689000 | a2 |
| Pêra IAC | 1.888000 | a2 |

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

Conclusões

No experimento em casa de vegetação, as médias dos três genótipos analisados não diferiram, a 5% de probabilidade. Todavia, no experimento de folhas destacadas, pode-se afirmar com 95% de confiança, que a variedade África do Sul se mostrou mais resistente à doença, por apresentar o menor diâmetro médio de lesões.

Agradecimentos

À Deus pela proteção, a minha família por todo o apoio, ao meu orientador pela paciência, e ao CnPq pelo investimento.

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 Greesnhouse 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**, v. 27, p. 263-272, 2006.

GONÇALVES-ZULIANI, A.M.O; BELASQUE JR.,J.; ZANUTTO, C. A.; REMOLLI, J.A.; NUNES, W. M.C. Resistance of 'Pera' sweet orange (*Citrus sinensis*) genotypes to *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in field conditions. **Workshop on Xanthomonas citri/Citrus canker**, p. 78-80, 2011b.

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 suscetibility to bacterial diseases. **Phytopathology**, v. 82, p. 1319-1325, 1992.

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.

VARGAS, R.G.; GONÇALVES-ZULIANI, A.M.O.; CROCE FILHO, J.; CARVALHO, S.A.; NOCCHI, P.T.R.; NUNES, W.M.C. Avaliação da resistência de variedades de Citrus spp. à *Xanthomonas citri* subsp. *citri* na região Noroeste Paranaense, em condições de campo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.39, p.235-241, 2013.