

# AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA À MANCHA MARROM DE ALTERNÁRIA EM GENÓTIPOS DO GRUPO DAS TANGERINAS

DENIS A. POLYDORO<sup>1</sup>; ROSE M. PIO<sup>2</sup>; FERNANDO A. AZEVEDO<sup>3</sup>; FRANCELINO P. COSTA<sup>4</sup>; MARINÊS BASTIANEL<sup>4</sup>; KÁTIA C. KUPPER<sup>4</sup>; RODRIGO M. STUART<sup>4</sup>

Nº 0700007

## 1. Resumo

A recente constatação de uma nova doença nos pomares brasileiros, a mancha marrom de alternária, tem causado preocupação por parte dos produtores de citros, devido aos sérios prejuízos em plantios comerciais de variedades suscetíveis, como a tangerina Ponkan e o tangor Murcott. Nesse trabalho inoculações *in vitro* com o fungo *Alternaria alternata* foram realizadas em 56 diferentes variedades do grupo das tangerineiras, visando encontrar as mais tolerantes. Para isso, inicialmente um teste de patogenicidade com onze diferentes isolados de *A. Alternata* foi montado para seleção do mais agressivo. Posteriormente, efetuaram-se as inoculações em folhas destacadas e, aproximadamente três dias após, fez-se a contagem do número de lesões por folha, e uma estimativa da severidade da doença, com auxílio de escala diagramática. Mais da metade das variedades apresentou sintomas da doença, porém com diferente grau de suscetibilidade. Variedades como a tangerina Sul da África e o tangelo Orlando foram as mais suscetíveis; por outro lado o grupo das satsumas e mexericas, e algumas tangerinas, mostraram-se resistentes, indicando novas opções para a citricultura nacional.

## 2. Abstract

The recent confirmation of a new disease in the Brazilian orchards, the alternaria brown spot, has caused preoccupation among citrus growers, because of the serious damages in commercial crops of susceptible varieties, such as the Ponkan tangerine and Murcott tangor. In this research, *in vitro* inoculations of the *Alternaria alternata* fungus were held in 56 different varieties of tangerine groups, aiming to find varieties with more tolerance. First, a pathogenicity test with eleven different *A. alternata* isolates was made to select the most aggressive one. After this, inoculations in detached leaves were held and, approximately three days after, the number of lesions in each leaf was counted, and the disease severity estimated with diagrammatic scale help. More than a half of varieties showed symptoms of the disease, however with different levels of susceptibility. Varieties like South African tangerine and Orlando tangelo were the most susceptible; on the other hand the satsumas and willow leaf group and some tangerines showed resistance and, indicating new options to the national citriculture.

---

1. Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia Agrônômica, CCA/UFSCar, Araras -SP, denisp@cca.ufscar.br.

2. Orientador: Pesquisadora Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC

3. Co-orientador: Pesquisador Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC

4. Colaboradores: Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC

### 3. Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de citros e o maior exportador de suco concentrado de laranja. Apesar de ter como principal espécie produzida a laranja-doce, merecem destaque, nos pomares brasileiros, as tangerinas e alguns de seus híbridos, quando têm como destino o mercado nacional de frutos *in natura* e potencial a exportação de frutos.

Nos pomares de tangerinas e híbridos destas, a mancha marrom de alternária causada pelo fungo *Alternaria alternata*, tem sido considerada a mais séria doença fúngica na atualidade. Sua alta severidade em regiões de clima úmido, onde o controle é muito difícil, tem ocasionado o abandono de plantios comerciais de variedades altamente suscetíveis (PERES et al., 2003).

A doença, embora recente no Brasil, foi relatada inicialmente em tangerina Emperor, na Austrália (KIELY, 1964), e dez anos depois em tangerina Dancy na Flórida (EUA) (WHITESIDE, 1976). Além destes países, a doença ocorre na África do Sul (SWART et al., 1996), Espanha (VICENT et al., 2000), Argentina (PERES et al., 2003) entre outros. No Brasil a presença da mancha marrom foi confirmada nos Estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo afetando seriamente os pomares formados pela variedade de tangerina Ponkan (*C. reticulata* Blanco) e tangor Murcott (*C. sinensis* L. Osbeck x *C. reticulata* Blanco), principais variedades cultivadas no País, e em tangerina Dancy (GOES et al., 2001). A presença da doença vem inviabilizando a produção, principalmente do tangor Murcott no Estado de São Paulo, fazendo com que muitos citricultores erradiquem seus pomares, devido ao elevado número de pulverizações necessárias e, conseqüentemente drástico aumento no custo de produção.

Dessa forma, a busca por novas opções de variedades com maior tolerância à mancha marrom de alternária é muito importante e, foi o principal objetivo desse trabalho.

### 4. Material e métodos

#### 4.1. Genótipos avaliados

Um total de 56 variedades de tangerinas e híbridos foram selecionados, incluindo mexericas, tangores, tangelos e satsumas. As variedades escolhidas encontram-se no Banco Ativo de Germoplasma de Citros do Instituto Agronômico que está instalado desde 1930 no Centro APTA Citros Sylvio Moreira.

#### **4.2. Inoculação de *Alternaria alternata***

Inicialmente, testes de patogenicidade utilizando-se onze diferentes isolados de *A. alternata*, patotipo tangerina, foram realizados em folhas destacadas de tangor Murcott para selecionar o mais agressivo. Inóculo inicial foi obtido a partir de lesões típicas da doença, que foram desinfestadas superficialmente através de lavagens (etanol 70%, hipoclorito 3% de cloro ativo e água destilada esterilizada), sendo então inoculadas em meio de cultura BDA (200g batata, 20g dextrose, 15g Agar/L), acrescido do fungicida carbendazin para inibir a proliferação de fungos contaminantes, e incubadas à 27°C em fotoperíodo de 12 horas.

Após 48 horas de crescimento, o micélio emergente foi transferido para meio de cultura BDA e incubado nas mesmas condições do inóculo inicial. Após uma semana, confirmou-se a identidade do isolado através de microscopia óptica das estruturas de reprodução assexuada. Em seguida, foram transferidos 50 discos (5mm), com crescimento micelial, para meio de  $\text{CaCO}_3$  para indução de esporulação (30g de  $\text{CaCO}_3$ , 20g de sacarose e 20g de Agar/L), seguido da adição de 2mL de água destilada esterilizada na superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas à 27°C por quatro dias sob fotoperíodo de 12 horas.

Na seqüência, foram adicionados 10mL de água destilada esterilizada nas superfícies das placas e, com a ajuda de uma espátula estéril, através de raspagens os conídios foram retirados da superfície da placa, filtrados em duas camadas de gazes esterilizadas e quantificados em hematocítômetro, sendo a suspensão de esporos ajustada para a concentração final de  $10^4$  conídios/mL.

Para a inoculação, folhas jovens de Murcott foram coletadas no campo, lavadas em água corrente e acondicionadas em placas de petri, contendo uma camada de papel de filtro e uma pequena porção de algodão que foram bem umedecidos. Em seguida borrifou-se a suspensão de esporos dos diferentes isolados nas folhas selecionadas (2mL/folha), sendo as mesmas incubadas BOD (27°C, fotoperíodo 12 horas, umidade relativa 56%).

A metodologia descrita acima (adaptada de Peever et al., 1999) também foi utilizada para as inoculações das folhas das 56 variedades em estudo. Após seleção do isolado mais agressivo, esse foi multiplicado e a inoculação foi realizada em quatro folhas por genótipo, que foram mantidas em BOD (27 °C; fotoperíodo 12 horas, umidade relativa 56%).

As avaliações da doença, em ambos os casos, foram realizadas 72 horas após inoculação, e consistindo na determinação do número de lesões/folha e da área lesionada (% da folha tomada pela doença). Observações da doença em campo também foram realizadas anotando-se presença ou ausência (+ ou -), em frutos e folhas.

## 5. Resultados e discussão

O teste preliminar realizado com diversos isolados de *A. alternata*, possibilitou a seleção de um bastante agressivo que foi utilizado nas inoculações das diversas variedades. O isolado selecionado (A1-3) é proveniente de sintomas de frutos de tangelo Nova, variedade bastante suscetível à doença e, apresentou grande número de lesões em folhas de Murcott (26,6 lesões).

Na seqüência estão apresentados (tabela 1) os resultados obtidos após inoculação das folhas dos genótipos avaliados nesse trabalho.

**Tabela 1.** Reação das variedades de tangerinas e híbridos quanto à suscetibilidade e resistência à *A. alternata*, quando expostas à infecção natural e inoculação (BAG – citros, Cordeirópolis/SP).

Variedades	Infecção com inoculação		Infecção natural*	
	Número de lesões/folha	Severidade (% área da folha lesionada)	Sintomas típicos em folhas	Sintomas típicos em frutos
<b>1. Tangerinas e híbridos</b> ( <i>Citrus reticulata</i> Blanco)				
Sul da África	320,0 a	18,50 a	+	+
Empress	226,7 ab	12,00 ab	+	+
Green Rind	166,7 bc	18,50 a	+	+
Creola	83,3 cd	7,25 abc	+	+
Span Americana	65,0 cde	2,50 bc	+	+
Ponkan 2	60,0 de	12,00 ab	+	+
Weshart	53,0 def	2,50 bc	+	+
Ponkan 7	46,7 def	2,50 bc	+	+
Ponkan 1	46,7 def	2,50 bc	+	+
Ponkan Casca Verde	36,7 defg	2,50 bc	+	+
Dancy	27,3 defgh	7,25 abc	+	+
Muscia	24,7 defgh	2,50 bc	+	+
Szwinkon	23,3 defgh	2,50 bc	+	+
Emperor	4,0 fgh	2,50 bc	-	-
Cravo	3,7 gh	2,50 bc	-	+
Vermelha 12	3,7 gh	2,50 bc	-	-
Vermelha	3,0 gh	2,50 bc	-	-
Ponkan 4	2,0 gh	2,50 bc	+	-
Ponkan Casca Verde 2	1,3 h	1,25 c	-	-
Ellendale Early	0,3 h	2,50 bc	-	-
King x Dancy	0,0 h	0,00 c	-	+
Hansen	0,0 h	0,00 c	-	+
Wilking	0,0 h	0,00 c	-	-
Vermelha 17	0,0 h	0,00 c	-	-
Ellendale Late	0,0 h	0,00 c	-	-
Ellendale	0,0 h	0,00 c	-	-
Ladu x Szinkon	0,0 h	0,00 c	-	+
Szinkon	0,0 h	0,00 c	-	-
Szinkon x Tizon	0,0 h	0,00 c	-	+
Szinkon x Batangas	0,0 h	0,00 c	-	-
Fremont	0,0 h	0,00 c	-	-
Thomas	0,0 h	0,00 c	-	-
<b>2. Satsumas</b> [ <i>C. unshiu</i> (Mark.) Marc.]				
Japão	0,0 h	0,00 c	-	-
Wase	0,0 h	0,00 c	-	-
Owari	0,0 h	0,00 c	-	-
Sem sementes	0,0 h	0,00 c	-	-

..continuação Tabela 1

<b>3. Mexericas</b> ( <i>C. deliciosa</i> Ten.)				
Pernambucana 2	18,7 efgh	18,50 a	+	+
Córsega	0,7 h	1,25 c	+	+
Siracusa	0,0 h	0,00 c	-	-
Paiva	0,0 h	0,00 c	-	-
114412	0,0 h	0,00 c	-	-
1060	0,0 h	0,00 c	-	-
Tardia da Sicília	0,0 h	0,00 c	-	-
<b>4. Tangelos</b> ( <i>C. reticulata</i> Blanco x <i>C. paradisi</i> Macfad.)				
Orlando	300,0 a	2,50 abc	+	+
Osceola	61,7 de	7,25 abc	+	+
Seminole	48,3 def	2,50 bc	+	+
Nova	46,7 def	7,25 abc	+	+
Mineola	38,3 defgh	7,25 abc	+	+
<b>5. Tangores</b> [ <i>C. reticulata</i> Blanco x <i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck]				
Murcott Irradiada	83,3 cd	12,00 ab	+	+
Dweet	50,0 def	2,50 bc	+	+
Murcott	10,3 fgh	2,50 bc	+	+
Temple	4,3 gh	1,25 c	+	-
Temple 3	2,3 gh	2,50 bc	+	-
Temple 2	1,7 h	1,25 c	-	-
Temple 1	0,0 h	0,00 c	-	-

\* avaliações realizadas em campo desde 2005

Do total de variedades avaliadas, apenas 23 não apresentaram sintomas da doença *in vitro*. Pode-se notar nos resultados acima, que o grupo das satsumas tem grande resistência à doença, tanto *in vitro* quanto em inoculação natural em campo, o que também foi observado por Reis (2006). Além delas, destacam-se também as mexericas, que foram resistentes em quase sua totalidade.

Um grupo de 12 variedades de tangerinas se mostrou bastante promissor, por não apresentar sintomas de mancha marrom de alternária. Confrontando os resultados da inoculação *in vitro* com observações a campo, nota-se que há um menor número de variedades com folhas sintomáticas no campo, evidenciando maior agressividade do fungo sob inoculação.

Dentre os genótipos sintomáticos neste estudo, destacam-se alguns descritos anteriormente como altamente suscetíveis em outros países, tais como a Dancy e híbridos diretos ou indiretos desta variedade (tangelos Minneola, Seminole, Orlando e Osceola), a tangerina Ponkan e o tangor Murcott (PEEVER et al., 2000).

## 6. Conclusões

Há grande diferença de suscetibilidade à mancha marrom de alternaria entre variedades do grupo das tangerineiras.

As satsumas e a maioria das mexericas são resistentes, além de algumas tangerinas.

## 7. Referências Bibliográficas

- GOES, A.; MONTES DE OCA, A.G. & REIS, R.F. Ocorrência de la mancha de alternaria em mandarina 'Dancy' en el Estado de Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.386, 2001 (Suplemento).
- KIELY, T.B. Brown spot of Emperor mandarin. **Agricultural Gazette** February, p.854-856, 1964.
- PEEVER, T.L., CANILHOS, Y.; OLSEN, L.; IBÁÑEZ, A.; LIU, Y.C. & TIMMER, L.W. Population genetic structure and host specificity of *Alternaria spp.* Causing brown spot of Minneola tangelo and rough lemon in Florida. **Phytopathology**, v.89, p.851-860, 1999.
- PEEVER, T.L.; OLSEN, L.; IBÁÑEZ, A. & TIMMER, L.W. Genetic differentiation and host specificity among populations of *Alternaria spp.* causing brown spot of grapefruit and tangerine x grapefruit hybrids in Florida. **Phytopathology**, v.90, p.407-414, 2000.
- PERES, N.A.R.; AGOSTINI, J.P. & TIMMER, L.W. Outbreaks of *Aternaria* brown spot of citrus in Brazil and Argentina. **Plant Disease** v.87, p.750, 2003.
- REIS, R.F. **Esporulação *in vivo*, período de suscetibilidade dos tecidos e reação de tangerinas e híbridos a *Alternaria alternata***. 2005. 81p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.
- SWART, S.H.; WINGFIELD, M.J.; SWART, W.J. & SCHUTTE, G.C. Brown spot of Minneola tangelo and efficacy of fungicidal sprays programmes for disease control in South Africa. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, v.1, p.379-384, 1996.
- VICENT, A.; ARMENGOL, J.; SALES, R.; ALFARO-LASSALA, F. & GARCIA-JIMÉNEZ, J. First report of *Alternaria* Brown Spot of citrus in Spain. **Plant Disease**, v.84, p.1044, 2000.
- WHITESIDE, J.O. A newly recorded *Alternaria* induced Brown Spot disease on Dancy tangerines in Florida. **Plant Disease Reporter**, v.60, p.326-329, 1976.