

## **O MANEJO NUTRICIONAL DOS CITROS AFETA O CRESCIMENTO DE RAÍZES DE PLANTAS INFECTADAS PELO HLB?**

DIOGO A. PAVAN<sup>1</sup>; DIRCEU DE MATTOS JÚNIOR<sup>2</sup>; HELVÉCIO D. COLLETA FILHO<sup>3</sup>; RODRIGO M. BOARETTO<sup>4</sup>

Nº 11110

### **RESUMO**

A citricultura é uma das atividades agrícolas de maior importância econômica e social para o Brasil. Contudo, a ocorrência do huanglongbing (HLB, ex-greening) tem causado sérios prejuízos ao setor devido à severidade da doença e à dificuldade de controle. O agente causal do HLB é uma bactéria restrita ao floema (*Candidatus Liberibacter*) que parece causar disfunção dos vasos por bloquear o tecido infectado, prejudicando o transporte de carboidratos na planta, crescimento e funcionamento das raízes, levando à sua morte econômica. Estratégias como a aplicação de nutrientes via foliar como forma de suprir a demanda da planta não atendida pelas raízes e o uso de outras substâncias, denominadas eliciadores, têm sido empregados comercialmente em pomares da Flórida. O presente trabalho propôs estudar se a aplicação de nutrientes, eliciadores e suas misturas via foliar contribui para o melhor desenvolvimento radicular, e conseqüentemente a formação da produção de plantas jovens de citros infectadas ou não pelo HLB, mantidas em rizotrons. Os resultados do experimento demonstraram que o HLB prejudicou o desenvolvimento das raízes e conseqüentemente o crescimento das plantas jovens de limão Cravo. As aplicações foliares com B, Zn e Mn, presentes nos tratamentos Micros e CPLT, determinaram melhor desenvolvimento das plantas em relação àqueles em que não houve o suprimento desses micronutrientes. Contudo esses efeitos foram menos pronunciados naquelas plantas afetadas pela doença e não determinaram redução da ocorrência da bactéria nas suas folhas.

<sup>1</sup> Bolsista CNPq: Graduação em Eng. Agrônoma, UFSCar, Araras-SP, diogoapavan@hotmail.com.

<sup>2</sup> Orientador: Pesquisador, Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis-SP.

<sup>3</sup> Colaborador: Pesquisador, Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis-SP.

<sup>4</sup> Colaborador: Pesquisador, Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis-SP.

## ABSTRACT

The citrus industry is one of the largest farming economic and social importance for Brazil. However, the occurrence of huanglongbing (HLB, ex greening) has caused serious losses to the industry due to the severity of the disease and the difficulty of control. The causal agent of HLB is a bacterium only in the phloem (*Candidatus Liberibacter*) that seems to cause dysfunction of blood vessels to block the infected tissue, hindering the transport of carbohydrates in plant growth and function of roots, leading to economic death. Strategies such as the application of foliar nutrients in order to meet the demand not met by the plant roots and the use of other substances, called elicitors, have been used commercially in orchards in Florida. This work is proposed to study the application of nutrients, elicitors and mixtures thereof foliar contributes to better root development, and consequently the formation of the production of citrus seedlings infected by HLB or not, kept in rhizotrons. The findings showed that the HLB hindered the development of roots and consequently the growth of young plants of Rangpur Lime. The foliar applications with B, Zn and Mn, present in CPLT and Micro treatments, determined the best development of plants in relation to those in which there was not supply of these micronutrients. However, these effects were less pronounced in those plants affected by the disease and have not determined reducing the occurrence of bacteria in their leaves.

## INTRODUÇÃO

A citricultura é uma das atividades agrícolas de significativa importância econômica e social para o Brasil. Para manutenção de sua posição na pauta econômica do País, requer incrementos na eficiência da cadeia produtiva. Contudo, a ocorrência do *huanglongbing* (HLB, ex-greening) tem causado sérios prejuízos ao setor devido à severidade da doença e à dificuldade de controle (BOVÉ, 2006; BOVÉ; AYRES, 2007; GOTTWALD et al., 2007).

O agente causal do HLB é uma bactéria restrita ao floema (*Candidatus Liberibacter* spp.) que parece causar disfunção dos vasos do floema pela deposição de caloses e produção de P-proteínas que bloqueiam o tecido infectado, prejudicando o transporte de carboidratos na planta, crescimento e funcionamento das raízes, levando à sua morte econômica (SPANN; SCHUMANN, 2009).

Estratégias como a aplicação de nutrientes via foliar como forma de suprir a demanda da planta não atendida pelas raízes e o uso de outras substâncias, denominadas eliciadores, que possam induzir a sinalização e a expressão da

resistência adquirida das plantas ao HLB, têm sido empregados comercialmente em pomares da Flórida (EUA) (MATTOS Jr. et al., 2010). Isso permitiria a planta tolerar os efeitos da doença causados pela reduzida distribuição de carboidratos das folhas para as raízes e conseqüentemente melhorar a absorção de água e nutrientes. Contudo, informações acerca do manejo nutricional associado aos eliciadores em pomares comerciais não são ainda suportadas cientificamente para a tomada de decisão para o amplo emprego como ferramenta que contribua para o controle do HLB.

Assim, o conhecimento de fatores que possam afetar o crescimento das raízes de plantas saudáveis ou infectadas pelo HLB é importante para o estabelecimento de um manejo dos citros que busque a manutenção da produtividade do setor.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se a aplicação de nutrientes, eliciadores e suas misturas via foliar contribui para o melhor desenvolvimento radicular, e conseqüentemente a formação da produção de plantas jovens de citros infectadas ou não pelo HLB, mantidas em rizotrons.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local de desenvolvimento**

A pesquisa foi desenvolvida em casa de vegetação localizada no Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (CCSM/IAC) em Cordeirópolis - SP. Mudanças de limão Cravo (*Citrus limonia* Osbeck) com cerca de 150 dias, foram transplantadas para 40 rizotrons, com capacidade para acondicionamento de 30 kg de solo franco arenoso cada um, onde permaneceram por todo o período experimental.

### **Plantas teste**

Aos 90 dias antes do plantio, mudas de limão Cravo foram separadas em dois lotes, dos quais um recebeu a infecção das plantas com *Ca. Liberibacter asiaticus* (Las) através da sobre-enxertia de duas borbulhas provenientes de ramos sintomáticos de laranjeira Pêra. A enxertia foi realizada em lados opostos da haste principal das plantas, que foram identificadas como “infectadas”.

### **Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi em esquema fatorial completo 5 x 2 (tratamentos x infecção por HLB = positivo e negativo), distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições, totalizando 40 unidades experimentais, cada qual formada por um rizotron contendo uma planta. Após o período de adaptação inicial das plantas nos rizotrons, de cerca de 15 dias, foram feitas as aplicações dos

seguintes tratamentos: i) tratamento 1 (CTRL) – aplicação de solução nutritiva via solo, 500 mL/rizotron (N, P, K e B - 225 mg/L de N, 31 mg/L de P, 180 mg/L de K e 0,5 mg/L de B) + aplicação de uréia via foliar (2,5 g/L); ii) tratamento 2 (Micros) – aplicação de T1 + micronutrientes via foliar (250 mg/L de B, 750 mg/L de Zn, 500 mg/L de Mn na forma de sulfatos – relação 1,5:1 Zn:Mn); iii) tratamento 3 (Phi) – aplicação de T1 + fosfito via foliar (2,5 ml/L de H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>); iv) tratamento 4 (AS) – aplicação de T1 + salicilato de amônio via foliar (0,23 ml/L); v) tratamento 5 (CPLT) – aplicação de T1 + T2 + T3 + T4. A aplicação via solo foi realizada aos 15, 35, 49, 70, 91, 105 dias após o plantio (DAP), e as foliares aos 35, 49, 58, 70, 84, 98, 112 DAP. A aplicação via solo foi feita utilizando-se um becker graduado (volume de 500 mL), as foliares foram por meio de pulverizações realizadas com auxílio de um borrifador manual.

### **Avaliações**

Foram realizadas medidas de comprimento das raízes observadas na parede de vidro dos rizotrons em intervalos de 7 dias, com a utilização de uma régua graduada. Avaliou-se também o número de ramificações, altura de plantas, comprimento total de ramos, número de folhas em cada planta, estimativa da área foliar, comprimento total das raízes através de imagens (fotos). Para verificação dos efeitos da aplicação dos nutrientes, eliciadores e suas misturas via foliar, foi feita uma coleta aleatória de 5 folhas em cada planta para análise das plantas infectadas com HLB através da técnica de PCR quantitativo, para apurar se houve mudança no desenvolvimento da doença. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste t e pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O desenvolvimento das raízes do limoeiro Cravo foi afetado pela condição de sanidade das plantas (Tabela 1). As aplicações foliares com micronutrientes, eliciadores e suas misturas afetaram o sistema radicular das plantas nos diferentes tratamentos. As diferenças foram mais marcantes para as aplicações de micronutrientes via foliar (= Micros e CPLT), cujas taxas de crescimento, ramificações e comprimento de raízes foram maiores que os tratamentos que não receberam B, Zn e Mn. Verificou-se também que as aplicações isoladas do fosfito de potássio (Phi) e do salicilato de amônio (AS) causaram certo prejuízo às raízes, cuja taxa de crescimento, por exemplo, foi de 0,21 cm/dia para as plantas com HLB no tratamento Phi e o número de raízes principais foi 9, para as plantas infectadas no tratamento AS (Tabela 1).

**TABELA 1.** Desenvolvimento radicular de plantas jovens de limão Cravo sadias e infectadas com HLB em função da aplicação foliar de misturas micronutrientes e eliciadores.

em HLB em função da aplicação total de misturas micorrizantes e enclavados.							
Tratamento <sup>(1)</sup>		Taxa crescimento <sup>(2)</sup>		N. ramificações <sup>(3)</sup>		Comprimento <sup>(2)</sup>	
		1 <sup>a</sup> <sup>(4)</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
		----- cm dia <sup>-1</sup> -----				----- cm -----	
Sadio	CTRL	0,35 abc	0,06 ab	11 bc	118 ab	33,8 ab	3,4
	Micros	0,38 ab	0,06 ab	12 ab	119 ab	35,8 ab	4,7
	Phi	0,35 abc	0,08 ab	12 ab	101 abc	32,1abc	4,2
	AS	0,26 bc	0,04 ab	12 b	78 bc	23,8 bc	3,2
	CPLT	0,45 a	0,06 ab	13 a	143 a	42,4 a	4,2
	Média	0,36	0,06	12	112	33,6	3,9
HLB	CTRL	0,26 bc	0,06 ab	10 bc	52 c	25,2 bc	3,7
	Micros	0,27 bc	0,05 ab	11 bc	90 bc	25,4 bc	2,9
	Phi	0,21 c	0,07 ab	11 bc	81 bc	19,6 c	3,6
	AS	0,25 bc	0,04 b	9 c	67 c	24,6 bc	2,2
	CPLT	0,30 bc	0,08 a	10 bc	99 abc	26,1 bc	5,5
	Média	0,26	0,06	10	78	24,2	3,6
Teste F		*	ns	**	*	*	ns
CV, %		26,8	55,5	9,6	30,3	28,5	58,2

(<sup>1</sup>) CTRL = controle sem aplicação foliar de micronutrientes e eliciadores; Micros = Zn (750 mg L<sup>-1</sup>), Mn (500 mg L<sup>-1</sup>) e B (250 mg L<sup>-1</sup>); Phi = fosfito de potássio (2,5 ml L<sup>-1</sup>); AS = salicilato de amônio (0,23 ml L<sup>-1</sup>); e CPLT = Micros+Phi+AS.

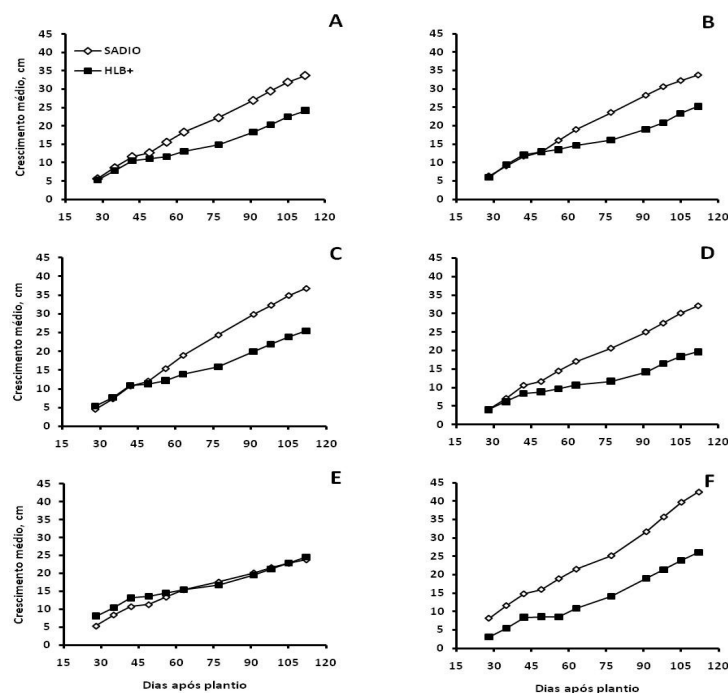
(<sup>2</sup>) Médias para avaliações realizadas em intervalos de 7 dias, para o período de 28-112 dias após plantio para os rizotrons.

(<sup>3</sup>) Número de ramificações; médias para avaliação realizada aos 112 dias após plantio para os rizotrons.

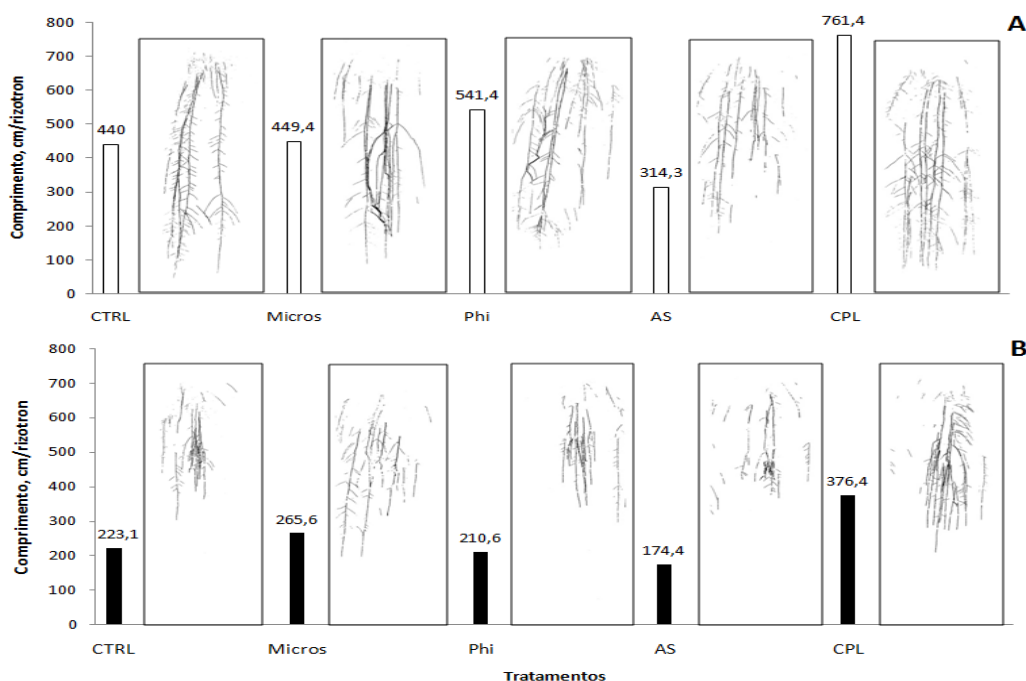
(<sup>4</sup>) 1ª = raízes de primeira ordem e 2ª = raízes de segunda ordem ou laterais.

ns, \*\* e \*: não significativo, significativo a 1 e 5%, respectivamente; médias seguidas por uma mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.

A maior taxa de crescimento das raízes principais das plantas sadias do experimento refletiu no seu maior comprimento, comparado àquelas infectadas pelo HLB, avaliado ao longo dos 112 dias após o plantio (Figura 1A). Apenas aos 40-50 dias verificaram-se diferenças para as duas condições de sanidade das plantas para a comparação feita dentro dos tratamentos CTRL, Micros e Phi (Figura 1B, C e D). A aplicação somente do AS mostrou não promover efeito significativo no comprimento dessa classe de raízes (Figura 1E). A distribuição das raízes no plano transparente dos rizotrons e a avaliação do comprimento total avaliado para os diferentes tratamentos estudados confirmam os dados anteriores sobre o efeito da condição da sanidade da planta (sadias x afetada por HLB) e dos tratamentos foliares aplicados (Figura 2).



**Figura 1.** Crescimento de raiz de primeira ordem de plantas jovens de limão Cravo em rizotron. *Legenda:* **A.** plantas sadias x infectadas por HLB - médias para dados agrupados (n = 20); **B.** controle, sem aplicação foliar; **C.** com aplicação foliar de Zn, Mn e B; **D.** com aplicação foliar de fosfito de potássio; **E.** com aplicação foliar de salicilato de amônio; e **F.** com aplicação de micronutrientes, fosfito e salicilato - médias para dados agrupados (n = 4).



**Figura 2.** Crescimento de plantas jovens de limão Cravo sadias e infectadas com HLB em função da aplicação foliar de misturas de micronutrientes e eliciadores, avaliadas aos 105 dias após plantio para os rizotrons (altura = 95 cm e largura = 23 cm). *Legenda:* **A.** plantas sadias e **B.** plantas infectadas por HLB; CTRL = controle sem aplicação foliar de micronutrientes e eliciadores; Micros = Zn ( $750 \text{ mg L}^{-1}$ ), Mn ( $500 \text{ mg L}^{-1}$ ) e B ( $250 \text{ mg L}^{-1}$ ); Phi = fosfito de potássio ( $2,5 \text{ ml L}^{-1}$ ); AS = salicilato de amônio ( $0,23 \text{ ml L}^{-1}$ ); e CPLT = Micros+Phi+AS.

O desenvolvimento da parte aérea das plantas foi bastante similar àquele observado para as raízes no presente estudo (Tabela 2).

**TABELA 2.** Características da parte aérea de plantas jovens de limão Cravo sadias e infectadas com HLB em função da aplicação foliar de misturas micronutrientes e eliciadores avaliadas aos 100 dias após plantio.

Tratamento <sup>(1)</sup>		Com primento de ramos	N. folhas	Altura	Área foliar
		cm/planta		cm	cm <sup>2</sup> /folha
Sadio	CTRL	64,3 a	46	56,5 a	10,4 ab
	Micros	62,9 a	43	54,2 ab	12,8 a
	Phi	57,3 ab	42	55,3 ab	11,0 a
	AS	58,8 ab	40	58,4 a	11,3 a
	CPLT	60,0 ab	43	56,7 a	11,4 a
	Média	60,7	43	56,2	11,4
HLB+	CTRL	49,7 b	42	50,0 bc	7,9 bc
	Micros	52,8 ab	43	48,9 c	7,2 c
	Phi	49,7 b	42	47,8 c	8,0 bc
	AS	53,2 ab	39	49,4 c	6,9 c
	CPLT	49,1 b	47	46,7 c	6,9 c
	Média	50,9	43	48,6	7,4
Teste F		ns	ns	**	**
CV, %		13,2	13,7	6,2	20,1

(<sup>1</sup>) CTRL = controle sem aplicação foliar de micronutrientes e eliciadores; Micros = Zn (750 mg L<sup>-1</sup>), Mn (500 mg L<sup>-1</sup>) e B (250 mg L<sup>-1</sup>); Phi = fosfito de potássio (2,5 ml L<sup>-1</sup>); AS = salicilato de amônio (0,23 ml L<sup>-1</sup>); e CPLT = Micros+Phi+AS.

ns, \*\* e \*: não significativo, significativo a 1 e 5%, respectivamente; médias seguidas por uma mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan.

O diagnóstico da bactéria para folhas de plantas jovens de limão Cravo coletadas demonstrou não haver diferenças entre os tratamentos estudados quando se avaliou a razão de amplificação para DNA da planta e da Las (Tabela 3).

**TABELA 3.** Diagnóstico de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em folhas de plantas jovens de limão Cravo afetadas pelo HLB em função da aplicação foliar de misturas micronutrientes e eliciadores e avaliadas aos 126 dias após plantio em rizotrons.

Tratamento <sup>(1)</sup>	Número de ciclos QPCR (CT)				18S planta/ 16S Las
	16S Las	sd	18S planta	sd	
CTRL	33,1	0,42	14,88	1,08	0,45
Micros	32,1	0,12	15,64	1,72	0,49
Phi	31,6	0,17	14,72	0,31	0,47
AS	32,7	0,33	14,68	0,21	0,45
CPLT	30,9	0,46	14,79	0,87	0,48
Teste t	-	-	-	-	ns
Controle sadio	nd	nd	-	-	-
Controle Las	19,5	0,36	-	-	0,83

(<sup>1</sup>) CTRL = controle sem aplicação foliar de micronutrientes e eliciadores; Micros = Zn (750 mg L<sup>-1</sup>), Mn (500 mg L<sup>-1</sup>) e B (250 mg L<sup>-1</sup>); Phi = fosfito de potássio (2,5 ml L<sup>-1</sup>); AS = salicilato de amônio (0,23 ml L<sup>-1</sup>); e CPLT = Micros+Phi+AS.

Legenda: CT = *threshold cycle*; sd = desvio padrão da média (n = 8); nd = não determinado.  
ns = não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.



## CONCLUSÃO

O HLB prejudicou o desenvolvimento das raízes e consequentemente o crescimento das plantas jovens de limão Cravo. As aplicações foliares com B, Zn e Mn, presentes nos tratamentos Micros e CPLT, determinaram melhor desenvolvimento das plantas em relação àqueles em que não houve o suprimento desses micronutrientes. Contudo esses efeitos foram menos pronunciados naquelas plantas afetadas pela doença e não determinaram redução da ocorrência da bactéria nas suas folhas.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, pela oportunidade de estágio.

## REFERÊNCIAS

- BOVÉ, J.M.; AYRES, A.J. Etiology of three recent diseases of citrus in São Paulo State: Sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. **IUBMB Life**, Oxford, v. 59, n. 4, p. 346-354, 2007.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v.88, p. 7-37, 2006.
- GOTTWALD, T. R.; GRAÇA, J. V.; BASSANEZI, R. B. Citrus Huanglongbing: the pathogen and its impact. **Plant Health Progress**, 2007. Disponível em: <<http://www.wapsnet.org/online/feature/huanglongbing>>. Acesso em: 14 maio 2011.
- MATTOS Jr., D.; QUAGGIO, J. A.; BOARETTO, R. M. Uso de elicitores para defesa em plantas cítricas. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, p. 65-74, 2010.
- SPANN, T.M.; SCHUMANN, A.W. The role of plant nutrients in disease development with emphasis on citrus and huanglongbing. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 122, p.169-171, 2009.