

**CARACTERIZAÇÃO HORTICULTURAL E AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA À
Phytophthora Nicotianae EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE LIMOEIRO CRAVO**

RENATO PRIMON TAVEIRA FREITAS¹; FERNANDO ALVES DE AZEVEDO²,
JORGINO POMPEU JUNIOR³

Nº 11127

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar características hortícolas de diferentes genótipos de limoeiro Cravo e sua resistência à *Phytophthora nicotianae*. Para isso, 21 genótipos oriundos do BAG-Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, em Cordeirópolis/SP, foram avaliados. Frutos foram coletados no campo para aferições de massa, altura e diâmetro e abertos para quantificação das sementes (total, viáveis e abortadas), que foram posteriormente semeadas, para obtenção de plântulas que foram na sequência inoculadas com *P. nicotianae*. Paralelamente efetuaram-se avaliações de poliembrião e massa das sementes. O genótipo 881 apresentou 100% das sementes abortadas (inviáveis), já o 875 e 866 os maiores frutos e juntamente com o genótipo 865 os que obtiveram maiores produções de sementes por fruto. O genótipo 873 apresentou alta taxa de poliembrião (60%), enquanto o genótipo 872 a menor taxa (7%). O genótipo 867 apresentou menor comprimento e área de lesão causada por *P. nicotianae* sendo classificado como resistente ao fungo. Com base nos resultados deste trabalho foi concluído que genótipos que apresentam boas características podem vir a ser utilizados como porta-enxerto na citricultura brasileira.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate horticultural characteristics of different genotypes of Rangpur lime and its resistance to *Phytophthora nicotianae*. For this, 21 genotypes from the BAG-Citrus of the Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, in Cordeirópolis city, São Paulo State, were evaluated. Fruits were collected in the field for measurements of mass, height and diameter and open to quantification of seeds (total,

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Eng. Agrônoma, UFSCAR, Araras/SP, renato_primon@hotmail.com

² Orientador: Pesquisador, Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis/SP.

³ Colaborador: Pesquisador, Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis/SP.

viable and aborted), which were then planted to obtain seedlings that were further inoculated with *P. nicotianae*. Parallel assessment was made polyembryony and mass of seeds. Genotype 881 had 100% of aborted seeds (viable) while the 875 and 866 had the highest fruit and together with the genotype 865 were those who had higher production of seeds. Genotype 873 had a high rate polyembryony (60%), while the genotype was the 872 that reached the lowest rate (7%). The 867 genotype showed a lower length and area of injury caused by *P. nicotianae* being classified as resistant to the fungus. Based on the results of this study was concluded that genotypes that have good characteristics are likely to be used as rootstock in Brazil.

INTRODUÇÃO

Em 2007 o Brasil manteve a posição de maior produtor e exportador de suco de laranja. O Estado de São Paulo representou 80,4% da produção total de laranja no País (IBGE, 2008). A citricultura nacional está vulnerável a diversos problemas fitossanitários que têm surgido ao longo da sua história, que são responsáveis por grandes perdas para a cultura. Entre outros fatores, essa vulnerabilidade pode estar associada a pouca diversidade de variedades copa e porta-enxerto utilizada (TOZATTI, 2006).

Nos pomares brasileiros poucas são as variedades prevalentes de copa como: as laranjeiras doce Pêra, Valência e Hamlin [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] e de porta-enxertos - sendo o limoeiro Cravo (*Citrus limonia* Osbeck) a base dos plantios. Essa condição de risco é crítica em razão do surgimento de diversas doenças, recentemente agravada pela ocorrência no norte do estado de São Paulo, da morte súbita dos citros (MSC), que afeta principalmente laranjeiras doce enxertadas em limoeiro Cravo. Aproximadamente 85% dos porta-enxertos utilizados pela citricultura paulista é uma seleção de limoeiro Cravo (FUNDECITRUS, 2009).

As variedades cítricas foram cultivadas por quase dois mil anos na forma de pé franco, ou seja, via sementes. No século XIX, uma podridão de raízes epidêmica, causada por *Phytophthora* spp., destruiu as árvores de laranja doce e levou à utilização de laranja azeda (*C. aurantium* L.) como porta-enxerto (MÜLLER, et al, 2005). Posteriormente, o uso deste porta-enxerto trouxe danos consideráveis para a citricultura brasileira por sua intolerância ao vírus da tristeza dos citros (CTV), provocando a morte de milhões de plantas. O uso dos porta-enxertos permitiu superar fatores bióticos e abióticos e obter ganhos de produtividade, mas foi também

responsável por grandes adversidades como a gomose, a tristeza dos citros, o declínio e atualmente - a morte súbita dos citros (POMPEU JUNIOR & BLUMMER, 2005).

A maioria dos porta-enxertos não atendem à demanda atual da citricultura (MOURÃO FILHO, 2002). Por isso o Centro APTA Citros Sylvio Moreira, do Instituto Agrônomo (CAPTAC-SM, IAC), possui um programa de melhoramento genético, onde se encaixa esse trabalho - que teve por objetivos avaliar características (fruto e semente) e resistência a *Phytophthora nicotianae*, de 21 genótipos de limoeiro Cravo.

MATERIAL E MÉTODOS

Análises físicas dos frutos

Foram amostrados dez frutos por genótipo de limoeiro Cravo em três plantas distintas (repetições) do BAG – Citros do CAPTAC-SM, IAC, no mês de junho de 2010, onde se coletaram dois frutos em cada quadrante da planta mais dois internos. Posteriormente foram encaminhados ao Laboratório de Melhoramento de Citros.

A massa dos frutos foi determinada através da pesagem das amostras em balança digital, com capacidade máxima para 15 quilos. Após pesagem calculou-se a massa média dos frutos. Para a aferição da altura e diâmetro dos frutos utilizou-se uma 'canaleta graduada' em centímetros onde os dez frutos (amostra) foram colocados justapostos (ápice-base) e pela região equatorial, posteriormente calculou-se a altura e diâmetro médio, respectivamente.

Na sequência os frutos foram divididos ao meio pela região equatorial, tomando-se cuidado para não se cortar as sementes, em seguida elas foram retiradas do fruto manualmente, contadas e classificadas (normais e abortadas).

Determinação do número de embriões e taxa de poliembria das sementes

Dentre todas as sementes de cada repetição, retirou-se uma subamostra de dez para a realização da contagem de embriões. A metodologia empregada foi da contagem direta descrita por Moreira et al (1947), que consiste na quantificação visual dos embriões que compõem a semente. As sementes tiveram as películas que as envolvem (testa e tegumento) removidas (Figura 1).

Ensaio de inoculação de *Phytophthora nicotianae*

Sementes dos diferentes genótipos de limoeiro Cravo foram plantadas em tubetes de plástico, contendo substrato comercial ('Rendimax' + adubo peletizado de liberação lenta 'Osmocote', na formulação 18-05-09). Após desenvolvimento inicial

(três meses), as plântulas foram transplantadas para sacolas de três litros, onde permaneceram por mais cinco meses. Dois genótipos foram perdidos nesse processo

O isolamento e manutenção da *P. nicotianae* foram realizados na Clínica de Fitopatologia do CAPTAC-SM, IAC. Já a inoculação foi realizada nas hastes das plantas com oito meses de idade a altura de 10 cm do substrato, segundo o método descrito por Siviero et al. (2002) que consiste em: desinfecção com álcool da superfície do tronco a ser inoculada; incisão na casca com furador de rolhas, retirando-se um disco de 5 mm de diâmetro, expondo a zona cambial; introdução de um disco igual de micélio de *P. nicotianae* virulento mantido em meio de cultura; recolocação do mesmo disco da casca e proteção da inoculação com algodão e fitilho.

As plântulas inoculadas foram mantidas em ambiente com iluminação artificial e fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 26°C e umidade relativa de 85%. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições por genótipo. Como padrões de suscetibilidade e resistência, utilizaram-se plantas de tangerina Sunki (*C. sunki* hort. ex Tanaka) e *Poncirus trifoliata* L. Raf, respectivamente.

As lesões decorrentes foram avaliadas após 45 dias da inoculação, aferindo-se o comprimento – com paquímetro digital e área lesionada - *software* IMAGEJ.

Análises estatísticas

Os valores médios de todas as avaliações foram submetidos à análise de variância e comparados estatisticamente pelo teste Scott-Knott - 5%, com utilização do *software* SASM-Agri.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises físicas dos frutos

O genótipo 866 foi o que apresentou frutos maiores, em relação à altura, diâmetro e massa (Tabela 1). Este, por sua vez, não diferiu quanto o diâmetro do 875, 873 e 867. Por outro lado os genótipos 872 e 881 foram os menores.

TABELA 1. Massa (M), altura (A) e diâmetro (D) dos frutos de diferentes genótipos de limoeiro Cravo (Cordeirópolis/SP, 2011)

Genótipos	M (g)	A (cm)	D (cm)	Genótipos	M (g)	A (cm)	D (cm)
866	175,00 a*	7,43 a	6,87 a	861	108,33 d	5,90 e	5,96 c
875	153,50 b	7,00 b	6,50 a	884	107,83 d	5,80 e	5,83 c
873	147,50 b	7,03 b	6,90 a	869	103,33 d	5,83 e	5,76 c
867	136,67 c	6,47 c	6,64 a	871	100,67 d	5,53 e	5,76 c
860	128,67 c	6,27 d	6,33 b	864	100,00 d	5,73 e	5,76 c
868	126,67 c	6,30 d	6,13 b	862	98,33 d	5,73 e	5,66 c
874	125,83 c	6,27 d	6,20 b	882	94,83 d	5,46 e	5,66 c
863	125,00 c	6,20 d	6,20 b	865	90,00 e	5,46 e	5,60 c
880	119,33 c	6,10 d	6,10 b	872	77,17 e	5,23 e	5,26 d
883	113,17 d	5,93 d	5,93 c	871	71,50 e	5,23 e	5,09 d
859	108,33 d	5,97 d	5,96 c	CV%	8,21	3,62	3,51

* médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si (Scott-Knott – 5%).

Número de sementes, embriões e taxa de poliembria das sementes

Os genótipos 875, 866 apresentaram número de sementes - total e viável - superiores aos demais acessos. Não se observaram diferenças entre os genótipos quanto ao número de embriões (Tabela 2). Segundo classificação proposta por Moreira et al. (1947), onde variedades são classificadas em diferentes porcentagens de ocorrência de poliembria - taxas: baixa, menor que 30%; média, entre 30 e 59% e alta, acima ou igual a 60%. A partir destes dados foi possível verificar que a maioria dos genótipos foram classificados com média porcentagem de poliembria (Tabela 2). Estes dados diferem dos encontrados por Prates & Pompeu Junior (1981) e por Moreira et al. (1947), que classificaram o limoeiro Cravo como de baixa taxa de poliembria. A Figura 1 mostra poliembria em semente de limoeiro Cravo.

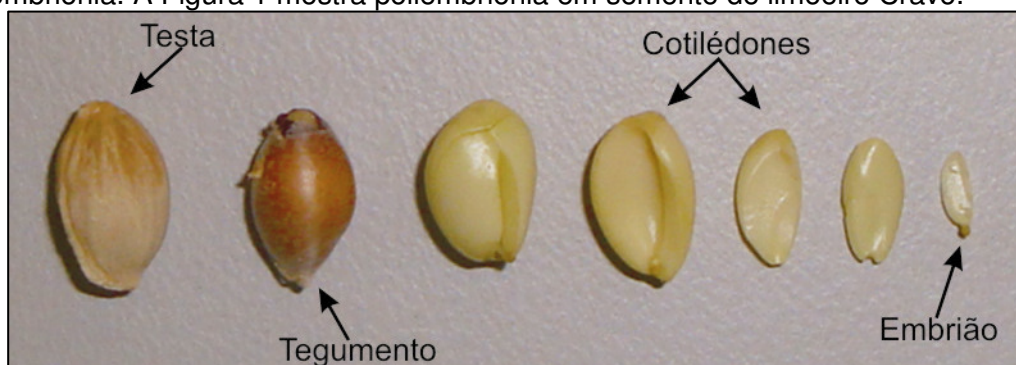


FIGURA 1. Esquema da preparação de uma semente de *C. limonia*, para a contagem de embriões e seus componentes – evidenciando poliembria (Cordeirópolis/SP, 2010).

TABELA 2. Número médio de sementes (NMS) embriões (NME) e taxa de poliembria de diferentes genótipos de limoeiro Cravo (Cordeirópolis/SP, 2011)

Genótipos	NMS nº		NME nº	TP %	Genótipos	NMS nº		NME nº	TP %
875	29,30	a*	1,7	60	868	13,50	c	1,4	33
866	28,33	a	1,4	33	873	13,23	c	1,9	60
865	18,77	b	1,3	23	869	12,53	d	1,9	57
860	18,60	b	1,3	27	884	12,13	d	1,4	33
874	17,90	b	1,6	47	881	11,50	d	**	**
883	16,93	b	1,2	23	861	9,80	e	1,6	43
867	16,90	b	1,8	53	863	9,73	e	1,4	33
880	15,17	c	1,2	23	862	8,87	e	1,6	43
864	14,97	c	1,4	33	859	8,47	e	1,5	40
872	14,93	c	1,1	7	882	6,50	e	1,3	33
871	13,90	c	1,3	30	CV%	12,84			

* médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si (Scott-Knott – 5%);

** ausência de sementes normais.

Resistência à *Phytophthora nicotianae*

A Tabela 3 traz os resultados referentes ao ensaio de inoculação de *Phytophthora nicotianae* nos diferentes genótipos de limoeiro Cravo, 45 dias após a inoculação.

TABELA 3. Comprimento da lesão (C.L em mm), área da lesão (A.L em mm²) ocasionada por *Phytophthora nicotianae* em genótipos de limoeiro Cravo (Cordeirópolis/SP, 2011)

Genótipos	C.L		A.L		Genótipos	C.L		A.L	
Sunki	19,16	a*	139,53	a	859	12,93	b	88,93	b
882	18,19	a	94,83	b	863	12,74	b	94,23	b
871	17,88	a	85,50	b	866	12,32	b	83,97	b
872	17,84	a	94,43	b	861	11,75	b	72,30	b
869	15,92	a	85,13	b	884	11,31	b	94,30	b
864	15,42	a	78,90	b	868	10,81	b	56,23	c
865	14,71	a	67,10	b	883	10,39	b	76,50	b
873	13,81	b	51,17	b	867	9,64	c	53,50	c
875	13,80	b	107,53	b	Trifoliata	6,59	c	37,67	c
880	13,62	b	81,13	b	CV%	8,83		24,14	
862	13,04	b	57,80	c					

* médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si (Scott-Knott – 5%);

A tangerina Sunki, que é um porta-enxerto comercial, foi o que mostrou maior comprimento e área de lesão devido a sua alta suscetibilidade à *P. nicotianae* (Tabela 3 e Figura 2). Por outro lado, *Poncirus trifoliata* mostrou alta resistência (Figura 2), resultados similares ao observado por MEDINA FILHO et al. (2004). Ainda observando-se os dados da Tabela 3 verifica-se que os genótipos 882, 871, 872, 869, 864 e 865 foram altamente suscetíveis, não diferindo do padrão tangerina Sunki.



Figura 2. Lesões de *Phytophthora nicotianae* nos padrões - tangerina Sunki – suscetível, trifoliata – resistente e o genótipo 867 – resistente (Cordeirópolis/SP, 2011).

Segundo CARLOS et al (1997) as variedades de limoeiro Cravo comercializadas em São Paulo são: Cravo Limeira - 863 e Cravo Santa Bárbara – 884. Neste ensaio esses dois genótipos mostraram ser moderadamente resistentes à *P. nicotianae*. De modo geral, o limoeiro Cravo apresenta média resistência à gomose de *P. parasítica* e *P. citrophthora*, embora existam variações entre as seleções. As seleções Santa Bárbara e EEL são as mais resistentes, e Japanshe citroen, limoeiro Cravo Periforme e Borneo red lime, as mais suscetíveis (MUNTANER, 1976).

Neste trabalho o genótipo 867, apresentou alta resistência ao patógeno em estudo (Figura 2), sendo o único a não diferir (comprimento e área de lesão) do padrão resistente – *Poncirus trifoliata*.

CONCLUSÕES

A maioria dos 21 genótipos avaliados (76%) pertence à seleção tipo *Rangpur* ; diversos apresentam maior número de sementes que os materiais comerciais (863 e 884) e média taxa de poliembrionia; enquanto que o 882, 871, 872, 869, 864, 865 apresentam alta suscetibilidade à *Phytophthora nicotianae*, e o 867 pode ser considerado resistente. Há genótipos com boas características para porta-enxerto.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARLOS, E.F.; STUCHI, E.S.; DONADIO, L.C. **Porta-enxertos para a citricultura paulista**. Jaboticabal: FUNEP, 1997. 47p. (Boletim Citrícola, 1).
- FUNDECITRUS. **Morte súbita dos citros – MSC**. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/doencas/morte_subita.html>. Acesso em: 23 fev. 2009.
- IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 abr. 2008.
- MEDINA FILHO, H.P., BORDIGNON, R., SIQUEIRA, W.J., FEICHTENBERGER, E. & CARVALHO, M.R.T. Tolerância de híbridos e de clones de porta-enxertos de citros à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira** 29:169-178. 2004.
- MOURÃO FILHO, F.A.A. **Hibridação somática para melhoramento de porta-enxertos em São Paulo**. In: Seminário Internacional de Citros, 7., 2002. Bebedouro-SP. *Palestras...* Bebedouro: Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002. p.134-140.
- MOREIRA, S.; GURGEL, J.T.A.; ARRUDA, L.F. de. **Poliembrionia em Citrus**. **Bragantia**, v.7, n.3, p.69-106, 1947.
- MULLER, G.W.;TARGON, M.L.P.N.; CARVALHO, S.A.; SOUZA, A.A.; RODRIGUES, J.C.V. Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: IAC; Fundag, 2005. cap. 19, p. 569-604.
- MUNTANER, A.I.C. **Reação de seleções de limoeiro ‘Cravo’ e de *Citrus volkameriana* Pasq. a inoculações experimentais de *Phytophthora* spp.** In: CONG. BRAS. FRUTICULTURA, 3., 1975, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1976. p.127-140.
- POMPEU JUNIOR, J., BLUMMER, S. **Laranjeiras e seus porta-enxertos nos viveiros de mudas cítricas do estado de São Paulo**. Laranja, Cordeirópolis, v.29, n. 1-2, p. 35-50, 2009.
- PRATES, H. S.; POMPEU JUNIOR, J. **Determinação preliminar de poliembrionia e número médio de embriões, em sementes de *Citrus* e afins, do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo de Campinas**. Anais do 6º Congresso Brasileiro de Fruticultura, Recife, sociedade Brasileira de Fruticultura, v.2, 1981.
- SIVIERO, A.; FURTADO, E.L.; BOAVA, L.; BARBASSO, D.V.; MACHADO, M.A. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* em plântulas e plantas jovens de citros. **Fitopatologia Brasileira** 27(6), p.574-580, 2002.
- TOZATTI, G. Novas tecnologias aperfeiçoam a citricultura. In: FNP Consultoria & Comércio. **Agrianual 2007**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2006.