

124

Circular
Técnica

Resistência da laranjeira doce 'Navelina ISA 315' à clorose variegada dos citros

A clorose variegada dos citros

A clorose variegada dos citros (CVC), causada pela bactéria *Xylella fastidiosa*, é uma das doenças bacterianas de maior importância para a citricultura brasileira, tendo sido observada pela primeira vez em 1987, no Triângulo Mineiro e nas regiões Norte e Noroeste do Estado de São Paulo (ROSSETI; DE NEGRI, 1990).

Os sintomas da CVC são descritos como: clorose nas folhas da parte mediana e superior da planta, estendendo-se por toda a planta, folhas com sintomas de deficiências nutricionais (zinco, boro) e carência de potássio (frutos pequenos), manchas cloróticas na face ventral da folha que, em folhas mais velhas, correspondem a círculos de goma em tom palha na face dorsal, além de frutos com tendência em frutificação em pencas, pequenos, enrijecidos e impróprios para a comercialização (ROSSETI; DE NEGRI, 1990).

A CVC pode ser transmitida por enxertia e por cigarrinhas das famílias Cicadellidae (subfamília Cicadellinae e Cercopidae), de forma persistente e não circulativa. Além disso, pode ocorrer transmissão por enxertia natural de raízes entre plantas contaminadas. (NUNES et al., 2004; HE et al., 2000; YAMAMOTO et al., 2002).

Reação das espécies e variedades de citros à CVC

Por um lado, em relação à suscetibilidade, com maior ou menor grau, todas as variedades de laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) estudadas até o momento mostraram-se suscetíveis à CVC. Por outro, plantas de outras espécies cítricas e gêneros relacionados, como *Fortunella* e *Poncirus*, não apresentaram sintomas ou não tiveram a presença da bactéria constatada em condições naturais (LARANJEIRA et al., 2005).

Entre as cultivares de laranjeira doce, foram relatadas diferenças em relação ao grau de expressão de sintomas, sendo as cultivares 'Valência', 'Pera' e 'Barão' as mais suscetíveis, já as 'Rubi', 'Westin' e 'Ovale' apresentam menos sintomas foliares, podendo haver diferenças na expressão de sintomas dentre clones de laranjeira 'Natal' (MACHADO et al., 1992; LARANJEIRA et al., 2005; LI et al., 1998). Machado et al. (1997) relataram a ocorrência de sintomas mais rápido nas cultivares 'Pera' e 'Barão', após 3 a 4 meses da sobre-enxertia em laranjeira 'Pera' com sintomas típicos. Já para a cultivar 'Hamlin', a expressão dos sintomas foi mais lenta, apesar de ser positiva em testes sorológicos. Ainda segundo os autores, ocorrem diferenças na velocidade de expressão dos sintomas.

A laranjeira 'Folha Murcha' é considerada como menos afetada pela CVC, ocorrendo diferenças na severidade e na incidência em função do porta-enxerto em condições de sequeiro (MOLINA et al., 2010; CANTUARIA-AVILÉS et al., 2011).

Para Souza et al. (2006), as cultivares de laranjeira doce 'Navelina ISA 315', 'Navelina SRA 332' e 'Newhall Navel SRA 343' apresentaram-se como hospedeiras assintomáticas de *X. fastidiosa*. Stuchi et al. (2007), em continuidade

Cruz das Almas, BA
Novembro, 2017

Autores

André Luiz Fadel

Centro de Citricultura,
Cordeirópolis, SP

**Helvécio Della
Coletta Filho**

Centro de Citricultura,
Cordeirópolis, SP

**Eduardo Sanches
Stuchi**

Embrapa Mandioca e
Fruticultura, Cruz das
Almas, BA

ao estudo, relataram que apenas a 'Navelina ISA 315' permaneceu sem sintomas após sete anos em condições de campo, mesmo sob alta pressão de inóculo ou após receber inoculações artificiais via subenxertia com plantas sintomáticas.

Com base nessas constatações, avaliou-se a resistência da laranjeira doce 'Navelina ISA 315' em relação à CVC, por observação visual de sintomas típicos em nível de campo e em casa de vegetação, e pela presença e quantificação de *X. fastidiosa*.

Caracterização da área experimental

Foram desenvolvidas duas pesquisas na Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro (EECB), em Bebedouro, Estado de São Paulo (latitude 20°53'16" S, longitude 48°28'11" W, clima Cwa: subtropical-inverno moderado e seco, verão quente e chuvoso). O solo da área experimental é Latossolo Vermelho Distrófico típico, textura média. Os tratamentos culturais foram os usualmente preconizados para a cultura de citros no Estado de São Paulo.

Testes com plantas sobre-enxertadas no campo

Em novembro de 2006, oito plantas com quatro anos da cultivar 'Pera' (*Citrus sinensis* L. Osbeck.), enxertadas em limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), com sintomas típicos de CVC em grau 3 (plantas com mais de 50% da copa com sintomas), de acordo com Coletta-Filho et al. (1997), foram submetidas à poda drástica. Essas plantas apresentavam sintomas típicos severos de CVC, verificando-se a não obrigatoriedade de PCR para confirmar infecção. Os sintomas de CVC podem ser observados nas Figuras 1A.

Em março de 2007, quando as brotações encontravam-se com 1,0 cm de diâmetro, realizou-se a enxertia em "T" invertido utilizando borbulhas de plantas assintomáticas da laranjeira 'Navelina ISA 315' (Figura 1) oriundas das três plantas originais estabelecidas em campo no ano de 2000. A cultivar Navelina ISA 315 foi introduzida do ISA (Istituto Sperimentale per l'Agrumicoltura, Acireale - Italia). Essas plantas, apesar de expostas

a condições naturais de infecção por sete anos, não apresentaram sintomas de CVC, mas foram positivas para presença de *X. fastidiosa* via PCR, tanto na observação de duas plantas sem inoculação como a da planta central inoculada com muda infectada, que foi plantada junto ao tronco e foi subenxertada na copa da Navelina (STUCHI et al., 2007). A Figura 1A dá uma boa ideia do estado das plantas antes da poda, e a Figura 1B à direita mostra a brotação da Pera após a poda.

Em dezembro de 2008, já se havia formado uma nova copa da variedade 'Navelina ISA 315', ficando essas plantas com a seguinte composição: limoeiro 'Cravo' (porta-enxerto), laranjeira 'Pera' (interenxerto) e laranjeira 'Navelina ISA 315' (copa).

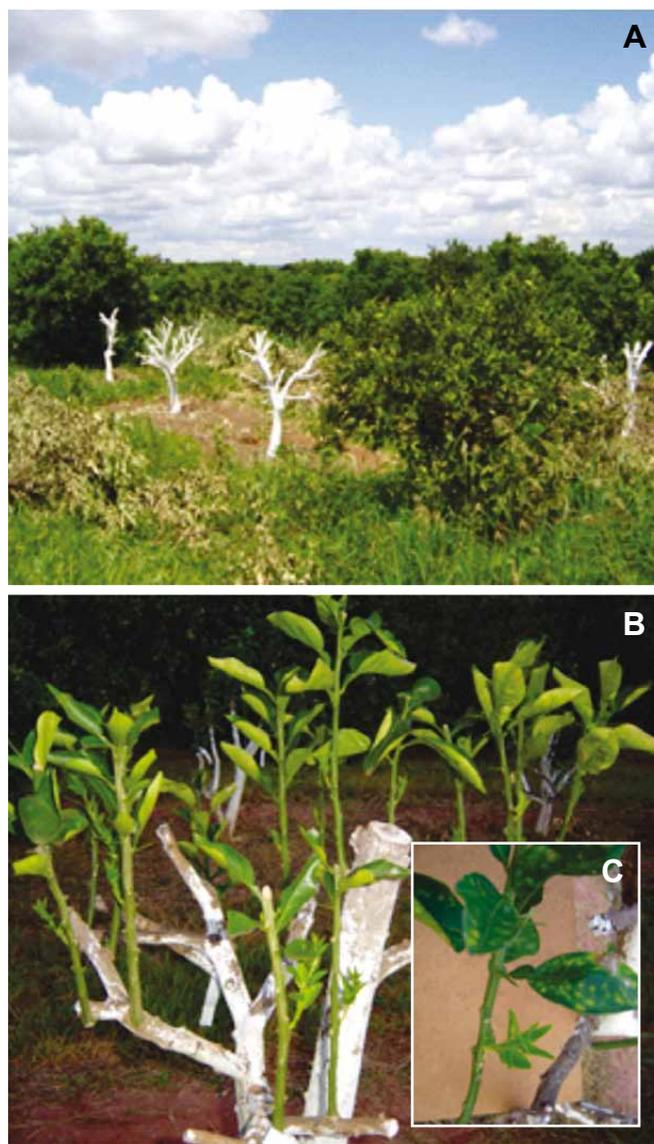


Figura 1. Vista parcial das plantas sintomáticas de CVC de laranjeira 'Pera' após a poda de topo (A), ramos após a enxertia da cultivar 'Navelina ISA 315' sobre a antiga copa da cultivar Pera (B), detalhe da borbulha em ramo da cultivar Pera com sintomas de CVC (C).

As avaliações foram realizadas no verão (janeiro) e no inverno (agosto) de 2009, bem como no outono (abril) e na primavera (novembro) de 2010. A avaliação foi realizada visualmente em todas as folhas de cada ramo da cultivar 'Navelina ISA 315' que se originaram dos ramos sobre-enxertados, para presença de sintomas da CVC e sua severidade com base na escala diagramática desenvolvida por Amorim et al. (1993).

Todas as folhas, com a mesma porcentagem de área lesionada, independente da planta, foram coletadas e compuseram um grupo (amostra). Para fins de padronização, nos ramos que apresentaram folhas com diferentes graus de severidade, coletaram-se apenas aquelas com maior severidade e foi considerada sua nota como representativa para o grupo. As folhas sem sintomas também foram avaliadas e compuseram um grupo então classificado como de grau zero, na escala diagramática proposta por Amorim et al. (1993). Quando constatada a ausência de sintomas nas folhas de toda a planta (nota 0% na escala diagramática), optou-se por agrupar cada uma delas em uma amostra composta; nesse caso, cada amostra foi composta de acordo com o número de ramos sobre-enxertados, coletando-se uma folha para cada ramo.

Todas as amostras foram submetidas a avaliações de presença e quantificação de *X. fastidiosa*. Para isso, o DNA total foi purificado a partir dos pecíolos e nervuras centrais, de acordo com a metodologia CTAB adaptada de Murray & Thompson (1980), e

a quantificação por PCR em tempo real (qPCR) foi realizada de acordo com o protocolo utilizado por Oliveira et al. (2002).

Testes com plantas em viveiro protegido com inoculação por enxertia de plantas infectadas com a bactéria *X. fastidiosa*

Nesta segunda pesquisa, foram utilizados dois clones de Navelina ISA 315, um denominado "original", portador de *Citrus Cachexia Viroid* (CCaVd) e *Citrus Dwarfing viroid* (CDVd), e estava livre de sintomas de CVC; entretanto a PCR específica para *X. fastidiosa* não foi realizada. O segundo foi submetido à limpeza clonal por microenxertia e recebeu pré-imunização com o isolado protetivo PIAC do vírus da tristeza dos citros, no Centro APTA Citros "Sylvio Moreira" – IAC. Dez mudas de cada um dos clones (com e sem viroides) enxertadas em limoeiro 'Cravo' foram estabelecidas em casa de vegetação, onde foram inoculadas com *X. fastidiosa*.

Para a inoculação de *X. Fastidiosa*, preparou-se plantas inóculo por enxertia de plantas jovens de limoeiro 'Cravo' com ramos de plantas adultas de laranja 'Pera' com sintomas avançados de CVC. Estas permaneceram ligadas às plantas até a perfeita soldagem dos câmbios. Em julho de 2009, as denominadas plantas inóculo foram enxertadas nas plantas experimentais via encostia. Foram utilizadas dez mudas de laranja 'Pera IAC' como controle da eficiência da inoculação (Figura 2).



Foto: Eduardo Sanchez Stuchi

Figura 2. Inoculação de *X. fastidiosa* em plantas da cultivar 'Navelina ISA 315' e 'Pera IAC' por encostia de plantas infectadas. Bebedouro, SP, 2009

As avaliações de sintomas de CVC foram visuais, realizadas em abril de 2010 e janeiro de 2011, seguindo-se do mesmo critério adotado para as plantas de campo. Em janeiro de 2011, foram coletadas dez folhas representativas da copa de cada planta, que compuseram amostras individuais para avaliação da presença de *X. fastidiosa*.

Após a avaliação de janeiro de 2011, todas as plantas foram transferidas ao campo em delineamento de blocos casualizados, com o intuito de avaliar o desempenho das plantas infectadas com *X. fastidiosa* em condições naturais de cultivo e infecção pelo inseto vetor. Em abril de 2012, cada planta foi avaliada visualmente para sintomas de CVC de acordo com a escala diagramática proposta por Amorim et al. (1993). Posteriormente, foram coletadas de forma sistematizada dez folhas de cada grupo de plantas ('Navelina ISA 315' originais, 'Navelina ISA 315' microenxertadas e pré-imunizadas, e do controle laranjeira 'Pera IAC'), as quais foram utilizadas para extração de DNA total e qPCR, de acordo com a mesma metodologia utilizada no experimento I.

Os resultados do qPCR foram submetidos ao teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade da variância (Teste de Box-Cox), seguido de análise de variância e teste de comparação de médias (Tukey $P < 0,05$) (SAS® 9,2 software).

Resistência de 'Navelina ISA 315' à CVC

Nas plantas de campo (primeira pesquisa), observou-se que a presença da bactéria *Xylella fastidiosa* apresentou redução na cultivar ao longo do período de estudo, com tendência à diminuição no número de plantas infectadas e da concentração da bactéria a partir da segunda avaliação.

Com exceção de um único ramo em uma planta na avaliação em agosto de 2009, todas as demais plantas de 'Navelina ISA 315' não apresentaram sintomas típicos de CVC entre março de 2007 e novembro de 2010, ou seja, de forma geral, ao longo de 45 meses, as plantas permaneceram hospedeiras assintomáticas de *X. fastidiosa*.

As análises de ramos da laranjeira 'Pera' (interenxerto) só foram possíveis a partir da segunda avaliação, quando então alguns ramos da copa original começaram a brotar, porém na base do tronco principal, logo acima da enxertia original, ou seja, próximo ao porta-enxerto. Nesse caso, as folhas da cultivar 'Pera', que compuseram as amostras, foram classificadas nos níveis de 6% e 35% (AMORIM et al., 1993) nas avaliações de agosto de 2009 e novembro de 2010, respectivamente, seguindo o critério de folhas com maior incidência como amostra representativa. Aspectos dessas plantas podem ser vistos na Figura 3.

Na Figura 4, é possível observar a cultivar 'Navelina' "ISA 315" assintomática, sobre-enxertada em 'Pera IAC' infectada, ao lado da cultivar 'Pera IAC' com grau 3 de severidade de CVC. Já a Figura 6 mostra os efeitos da CVC no tamanho dos frutos das duas cultivares de laranja doce.



Figura 3. 'Navelina ISA 315', planta sem sintomas de CVC propagada via sobre-enxertia em laranjeira 'Pera' infectada com *X. fastidiosa*. Detalhe, ramo remanescente de laranjeira 'Pera' (interenxerto) com sintomas de CVC. Bebedouro, SP, 2010

Em um estudo envolvendo híbridos de laranja 'Pera' x tangor 'Murcott', também foi observado que, a partir de 60 dias após a inoculação, houve uma diminuição no título de *X. fastidiosa* na progênie resistente à CVC (COLETTA-FILHO et al., 2007). Isso corrobora com os resultados obtidos no presente trabalho para laranjeira 'Navelina ISA 315' em condições de campo, cuja maior tolerância à CVC já foi relatada em trabalhos anteriores, tendo sido destacada como promissora pela não observação de sintomas típicos de CVC quando comparada a diversas cultivares de laranjeira doce (SOUZA et al., 2006; STUCHI et al., 2007).

Em relação aos ramos da laranjeira 'Pera' (interenxerto), é possível que ramos brotados na base do tronco principal, ou seja, próximos ao porta-enxerto, requeiram maior tempo para a colonização da bactéria (COLETTA FILHO et al., 1997).

No Experimento II, nenhuma das plantas apresentou sintomas na avaliação de abril de 2010, mesmo cerca de nove meses após a enxertia das plantas fonte de *X. fastidiosa*. Em relação à quantificação da bactéria, a maioria das plantas avaliadas foi negativa para presença de *X. fastidiosa* (Figura 7A).

Em relação aos ramos da laranjeira 'Pera' (interenxerto), é possível que ramos brotados na base do tronco principal, ou seja, próximos ao porta-enxerto, requeiram maior tempo para a colonização da bactéria (COLETTA FILHO et al., 1997).

No Experimento II, nenhuma das plantas apresentou sintomas na avaliação de abril de 2010, mesmo cerca de nove meses após a enxertia das plantas fonte de *X. fastidiosa*. Em relação à quantificação da bactéria, a maioria das plantas avaliadas foi negativa para presença de *X. fastidiosa* (Figura 7A).

Apenas a planta nº 2 da cultivar Navelina ISA 315 microenxertada e pré-imunizadas e a planta nº 3 do controle de 'Pera IAC' foram positivas, sendo que 'Pera IAC' apresentou a maior concentração (Figura 7A).

Com base nos resultados dessa primeira avaliação, optou-se por fazer uma avaliação das folhas das plantas fonte de *X. fastidiosa* via PCR, para comprovar se a bactéria ainda se encontrava presente. De acordo com os resultados, 73,3 % das plantas inóculo foram positivas para presença de *X. fastidiosa*, mesmo após nove meses da enxertia. Com base nesses dados, na segunda avaliação de janeiro de 2011, foram consideradas somente as plantas experimentais cuja planta fonte de *X. fastidiosa* foi positiva para a presença da bactéria (Tabela 1).

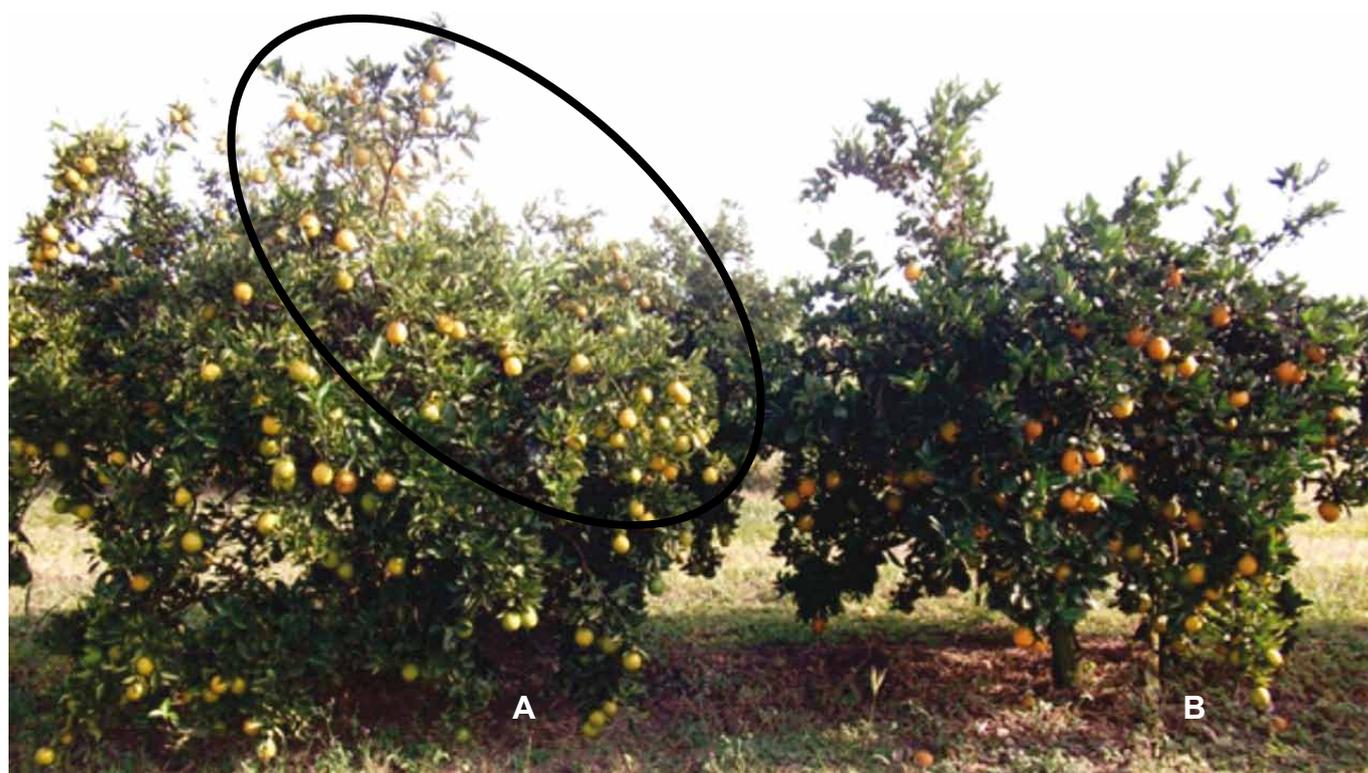


Figura 4. Planta da cultivar 'Pera' com sintomas de CVC, grau 3 (A); planta da cultivar 'Navelina ISA 315' sem sintomas de CVC, propagada via sobre-enxertia em laranjeira 'Pera' infectada com *X. fastidiosa* (B). Bebedouro, SP, 2010

Foto: Eduardo Sanches Stuchi



Figura 5. Frutos das cultivares 'Pera' e 'Navelina ISA 315', ambas infectadas com *X. fastidiosa*. Bebedouro, SP, 2010

Tabela 1. Presença de *X. fastidiosa* em amostras de plantas, fonte de inóculo em casa de vegetação determinada por PCR, onze meses após inoculação.

Planta fonte de inóculo	'Navelina' "original"	'Navelina' "microenxertada e pré-imunizada"	'Pera IAC'
1	-	+ ¹	- ²
2	-	+	-
3	+	+	+
4	-	+	+
5	+	+	+
6	+	+	-
7	+	+	+
8	+	+	-
9	+	+	+
10	-	+	+

⁽¹⁾ Presença de *X. fastidiosa*

⁽²⁾ Ausência de *X. fastidiosa*

Com base nestes dados, na segunda avaliação de janeiro de 2011, foram consideradas somente as plantas experimentais cuja planta fonte de *X. fastidiosa* foi positiva para a presença da bactéria (Tabela 1)". Ou seja, na avaliação de janeiro de 2011 (Figura 3B), foram consideradas somente as plantas inóculo positivas. Na avaliação de abril de 2012, as plantas já estavam em condições de campo em condições naturais de infecção, dois anos após a análise de presença de *X. fastidiosa* na plantas inóculo, tempo que se considerou

suficiente para a evolução no título da bactéria, mesmo nas plantas inóculo inicialmente negativas pela PCR não quantitativa.

Na avaliação de janeiro de 2011, todas as plantas não apresentaram sintomas novamente, porém a cultivar 'Pera IAC' (Figura 7B), que teve a presença da bactéria confirmada na planta fonte de inóculo, apresentou aumento no número de plantas em que a bactéria esteve presente. Já a planta n° 3 apresentou aumento na concentração em relação à primeira avaliação. Somente na planta n° 5 não foi constatada a presença da bactéria, apesar de sua respectiva planta fonte de inóculo estar infectada com *X. fastidiosa* (Tabela 1). A planta n° 2 da 'Navelina ISA 315' "microenxertada" e "premunizada" apresentou redução total no título da bactéria cerca de nove meses após a primeira avaliação.

Em abril de 2012, nenhuma planta da laranjeira 'Navelina ISA 315' ("original" ou microenxertada e premunizada) apresentou sintomas de CVC, após 33 meses da inoculação de *X. fastidiosa* via enxertia de plantas infectadas e 15 meses em condições de campo. Em todas as plantas da cultivar 'Pera IAC' foram observados sintomas de CVC, com moda estatística de 35% de acordo com a escala diagramática utilizada na avaliação.

Em relação à presença de *X. fastidiosa*, a cultivar 'Pera IAC' apresentou maior concentração da bactéria em relação à 'Navelina ISA 315' "original" ou microenxertada e premunizada, as quais não diferiram entre si (Figura 6).

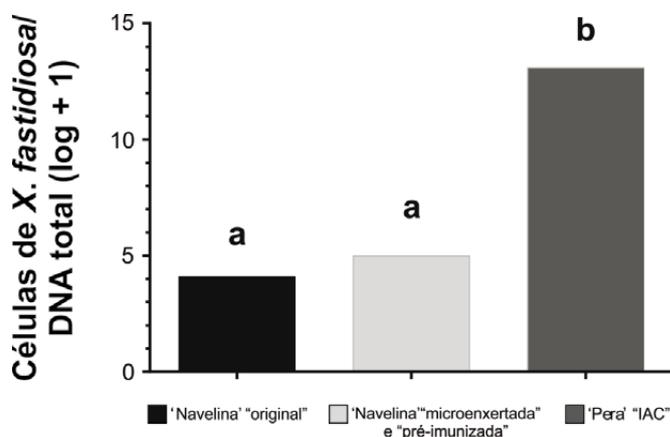


Figura 6. Concentração média de *X. fastidiosa* nas laranjeiras 'Navelina ISA 315' e 'Pera IAC' após 33 meses da inoculação de *X. fastidiosa* via enxertia de plantas infectadas e 15 meses após cultivo em campo. Dados transformados em Log + 1. Colunas seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Phoma tracheiphila é o agente causal do "Mal Secco", que afeta diversos Citros, principalmente limões verdadeiros (*C. lemon*), mas não está presente no Brasil. Plantas de limão 'Cravo' e cidra 'Etrog', inoculadas com o viroide causador da exocorte (CEVd) apresentaram redução na infecção por *P. tracheiphila*, sendo que, para cidra 'Etrog', o isolamento de *P. tracheiphila* em plantas infectadas e livres de CEVd foi de 9% e 100% respectivamente (SOLEL et al., 1995). Resultados obtidos por Rossetti et al. (1984) demonstram que plantas de limão 'Siciliano' enxertadas em limoeiro 'Cravo' e inoculadas com estirpes de CEVd apresentaram redução nas lesões causadas por *Phytophthora citrophthora*. Resultados semelhantes envolvendo as cultivares de laranja doce 'Valencia' e 'Washington Navel' e limão 'Lisboa' infectados com viroides (CVd-Ia, CVdIIa e CVdIIb) foram obtidos em estudo mais recente por Semancik et al. (2005). Especulase sobre a possibilidade de que possam existir interações semelhantes entre viroides e outros microorganismos, como *X. fastidiosa*, já que a cultivar em estudo está infectada CCaVd e CDVd. Entretanto, em todas as plantas de 'Navelina ISA 315', não foram observados sintomas, e a concentração bacteriana média foi equivalente entre os clones "original" e microenxertado e premunizado.

Não é descartada a possibilidade que algumas bactérias endofíticas possam estar inibindo o desenvolvimento de *X. fastidiosa*, já que Araújo et al. (2002) associaram a presença de *Curtobacterium flaccumfaciens* com maior frequência em plantas assintomáticas. Por outro lado, outras como *Methylobacterium* spp. podem em alguns casos estimular o crescimento de *X. fastidiosa*; sendo possível relacionar a presença de sintomas de CVC com o equilíbrio populacional entre *C. flaccumfaciens*, *Methylobacterium* spp. e *X. fastidiosa* (LACAVA et al. 2004).

Laranjeira et al. (1998) relatam que a cultivar Baianinha, em condições de campo na região de Mirassol e Barretos-SP, apresentaram sintomas de CVC cerca de nove meses após o plantio, o que também ocorreu com clones de Bahia em Mirassol e em Cordeirópolis. Já para Machado et al. (1997), as cultivares Bahia e Baianinha não apresentaram sintomas de CVC mesmo após três anos de sobre-enxertia em plantas sintomáticas, nem foi detectada a presença da bactéria nessas cultivares.

Uma cultivar é considerada resistente quando é possível suprimir totalmente o efeito do patógeno ou até certo ponto. Nesse caso, o patógeno pode infectar a planta ou não, mas nenhum dano é observado (Agris, 2005). A cultivar 'Navelina ISA 315' pode ser considerada resistente à CVC tendo-se por base os seguintes resultados: as três plantas "originais" permaneceram assintomáticas para CVC até novembro de 2010, quase 10 anos em condições naturais de cultivo e de transmissão, sendo que somente uma planta foi positiva para presença de *X. Fastidiosa*. Essas plantas apresentaram boa produção e qualidade de frutos característica de cultivares de Baianinha. A produção aos quatro anos de idade foi de aproximadamente 15 kg por planta e, aos 10 anos, foi de 100 kg por planta, em média (Figuras 7, 8 e 9; Tabelas 2 e 3).



Foto: Eduardo Sanches Stuchi

Figura 7. 'Navelina ISA 315', planta original introduzida da Itália com 4 anos de plantio em condições naturais de infecção de *X. fastidiosa*, sem sintomas de CVC. Bebedouro, SP, 2004



Foto: Eduardo Sanches Stuchi

Figura 8. 'Navelina ISA 315', planta original introduzida da Itália com 7 anos de plantio em condições naturais de infecção de *X. fastidiosa*, sem sintomas de CVC. Bebedouro, SP, 2007



Figura 9. 'Navelina ISA 315', três plantas originais introduzidas da Itália com 7 anos de plantio em condições naturais de infecção de *X. fastidiosa*, sem sintomas de CVC. Bebedouro, SP, 2007

Tabela 2. Valores médios de massa (g), diâmetro (mm), altura (mm), sólidos solúveis totais (SST), acidez, ratio e rendimento de suco (RS) em frutos da cultivar 'Navelina ISA 315' "original". Bebedouro, SP, 2006

Cultivar	Massa	Diâmetro	Altura	SST	Acidez	Ratio	RS
	g	mm	Mm	Brix ^o	%		%
'Navelina ISA 315' "original"	242	76,5	8,55	8,4	0,38	22,11	40,7

Tabela 3. Valores médios de massa (g), diâmetro (mm), altura (mm), sólidos solúveis totais (SST), acidez, ratio e rendimento de suco (RS) em frutos das cultivares do grupo das Baianinhas (laranja-de-umbigo - "navel") 'Newhall' e 'Navelina ISA 315'. Bebedouro, SP, 2010

Cultivar	Massa	Diâmetro	Altura	SST	Acidez	Ratio	RS
	g	mm	Mm	Brix ^o	%		%
'Newhall'	237 a	73,4 a	83,0 a	8,84 c	0,65 a	13,74 b	40,52 a
'Navelina ISA 315' original	181 b	67,0 b	75,2 b	10,86 b	0,45 b	24,04 a	34,54 b
'Navelina ISA 315' sobre-enxertada	190 b	68,8 b	76,6 b	11,96 a	0,49 b	24,51 a	37,66 ab
C.V. (%)	6,16	7,17	2,68	3,5	4,52	12,43	8,96

Letras distintas na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Considerações Finais

Plantas jovens da cultivar enxertadas em limoeiro 'Cravo' e que foram inoculadas com suspensão bacteriana de *X. fastidiosa* não apresentaram sintomas de CVC e, após 45 meses, não foram mais positivas para presença de *X. fastidiosa* (FADEL et al., 2014).

Quase todas as plantas inoculadas via enxertia por encostia de plantas infectadas não mostraram sintomas de CVC 33 meses após a inoculação e 15 meses após o transplante para condições de campo.

Plantas não inoculadas de 'Navelina ISA 315' produzidas com borbulhas de plantas microenxertadas e pré-imunizadas, e transplantadas ao mesmo tempo e no mesmo lote das transplantadas por Fadel et al. (2014), apresentam bom desenvolvimento vegetativo e permanecem assintomáticas após seis anos, produzindo frutos com a qualidade típica da cultivar, podendo ser considerada a primeira cultivar de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck.) a apresentar resistência à clorose variegada dos citros.

A resistência da cultivar Navelina ISA 315 parece ser do tipo "resistência verdadeira". Como o objetivo do trabalho se limitou em determinar a resistência da cultivar em relação à CVC, acredita-se que não seja possível até o momento inferir sobre a origem de tal resistência. Sabe-se que a cultivar em questão é hospedeira assintomática de *X. fastidiosa*, não apresentando danos à produção nem à qualidade de frutos.

Apesar de, até o momento, não ter sido realizado estudo relacionado à identificação de genes de resistência à *X. fastidiosa*, um estudo relacionado à expressão gênica relata que a bactéria, quando na cultivar Navelina ISA 315, apresenta maior expressão de alguns genes que codificam toxinas e proteínas de detoxificação, as chaperonas, assim como distintos reguladores e genes relacionados com a sobrevivência do patógeno, sugerindo que o sistema de defesa da cultivar Navelina é mais eficiente quando comparado ao da laranja 'Pera' (FEDERICI et al., 2012)

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de mestrado do primeiro autor (2009/02924), ao Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus) pelo apoio financeiro parcial, e à Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro pelo suporte financeiro e operacional, principalmente na figura dos Engenheiros Agrônomos Otávio Ricardo Sempionato, Eduardo Toller Reiff e Luiz Gustavo Parolin e do Técnico Agrícola Dimas Alves de Toledo, bem como ao Engenheiro Agrônomo Danilo Franco por sua colaboração durante a realização do trabalho. Em especial, ao Prof. Dr. Luiz Carlos Donadio, pela introdução do germoplasma no Brasil e pela ideia inicial da pesquisa.

Referências

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. New York: Academic Press, 2005. 922 p.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; PALAZZO, D. A.; BASSANEZI, R. B.; GODOY, C. V.; TORRES, G. A. M. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 42-48, 1993.
- ARAÚJO, W. L.; MARCON, J.; MACCHERONI JUNIOR, W.; ELSAS, J. D. V.; VUURDE, J. W. L. V.; AZEVEDO, J. L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, p. 4906-4914, 2002.
- CANTUARIAS-AVILÉS, T.; MOURÃO FILHO, F. de A. A.; STUCHI, E. S.; SILVA, S. R. da; ESPINOZA-NUÑES, E. Horticultural performance of 'Folha Murcha' sweet orange onto twelve rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 129, p. 259-265, 2011. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.03.039.
- COLETTA FILHO, H. D.; CARLOS, E. F.; MACHADO, M. A. Distribution of *Xylella fastidiosa* in sweet orange plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 234, 1997.
- FADEL, A. L.; STUCHI, E. D.; CARVALHO, S. A.; FEDERICI, M. T.; COLETTA FILHO, H. D. Navelina ISA 315 a cultivar resistant to citrus variegated chlorosis. **Crop Protection**, v. 64, p. 115-121, 2014.
- FEDERICI, M. T.; MARCONDES J. A.; PICCHI, S. C.; STUCHI, E. S.; FADEL, A. L.; LAIA, M. L.; LEMOS, M. V. F.; LEMOS, E. G. M. *Xylella fastidiosa*: An in vivo system to study possible survival strategies within citrus xylem vessels based on global gene expression analysis. **Electronic Journal of Biotechnology**. v. 15, n. 3, May, 2012.
- HE, C. X.; LI, W. B.; AYRES, A. J.; HARTUNG, J. S.; MIRANDA, V. S.; TEIXEIRA, D. C. Distribution of *Xylella fastidiosa* in citrus rootstocks and transmission of citrus variegated chlorosis between sweet orange (*C. sinensis* (L.) Osbeck) plants through natural root-grafts. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 622-626, 2000.
- LACAVA, P. T.; ARAÚJO, W. L.; MARCON, J.; MACCHERONI JUNIOR, W.; AZEVEDO, J. L. Interaction between endophytic bacteria from citrus plants and the phytopathogenic bacteria *Xylella fastidiosa* causal agent of citrus variegated chlorosis. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 39, p. 55-59, 2004.
- LARANJEIRA, F. F.; AMORIM, L.; BERGAMIM-FILHO, A.; AGUILAR-VILDOSO.; COLETTA-FILHO, H. D. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas e Fundag, 2005. p. 532-538.
- LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; BERGUER, R. Aspectos práticos da epidemiologia da clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 19, n. 1, p. 79-90, 1998.
- MACHADO, M. A.; TARGON, M. L. P. N.; BERETTA, M. J. G.; LARANJEIRA, F. F.; CARVALHO, S. A. Detecção de *Xylella fastidiosa* em espécies e variedades de citros sobre-enxertadas em laranja Pera com clorose variegada dos citros (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 30-33, 1997.
- MACHADO, M. A.; SILVÉRIO, J. L.; BAPTISTA, C. R.; CRISTOFANI, M.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Avaliação de transmissão e seleção de variedades à clorose variegada dos citros. **Laranja**, v. 13, p. 515-531, 1992.
- MOLINA, R. O.; GONÇALVES, A. M. O.; ZANUTTO, C. A.; NUNES, W. M. C. Populational fluctuation of vectors of *Xylella fastidiosa* Wells in sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) varieties of Northwest Paraná State, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, p. 549-554, 2010.
- MURRAY, M.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 8, p. 4321-4325, 1980.

NUNES, W. M. C.; MEDINA, C. L.; MACHADO, M. A.; MACHADO, E. C.; CORAZZA-NUNES, M. J.; MÜLLER, G. W. Transmissão de *Xylella fastidiosa* para mudas de citros através da encostia de plantas-inóculo. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 25, n. 2, p. 349-356, 2004.

OLIVEIRA, A. C.; VALLIM, M. A.; SEMIGHINI, C. P.; ARAÚJO, W. L.; GOLDMAN, G. H.; MACHADO, M. A. Quantification of *Xylella fastidiosa* from Citrus Trees by Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, p. 1048-1053, 2002.

ROSSETTI, V. V.; DE NEGRI, J. D. Clorose variegada dos citros – revisão. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 11, n. 1, p. 1-14, 1990.

ROSSETTI, V. V.; FEICHTENBERGER, E.; SALIBE, A. A.; OLIVEIRA, D. A. Reaction of exocortis and rumple diseased lemon trees to *Phytophthora citrophthora* inoculations. In: Imagem marcado/desmarcado CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 9, 1984, Riverside, California. **Proceedings...** Riverside, California: IOCV, 1984. 377 Editado por S.M.Garnsey, L.W.Timmer, J.A.Dodds. p.180-183, 1984.

SEMANCIK, J. S.; VIDALAKIS, G.; SZYCHOWSKY, J. A.; POND, E.; MENGE, J. A. Interactions among citrus viroids and *Phytophthora citrophthora*. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 16., 2004, Monterrey. **Proceedings...** Riverside: International Organization of Citrus Virologists, 2005. p. 447-451.

SOLEL, Z.; MOGILNER, N.; GAFNY, R.; BAR-JOSEPH, M. Induced Tolerance to Mal secco Disease in Etrog Citron and Rangpur Lime by Infection with the Citrus Exocortis Viroid. **Plant Disease**, Saint Paul, v.79, n.1, p.60-61.

SOUZA, P. S.; GOES, A.; STUCHI, E. S.; JAIMES, E. P. G.; WICKERT, E.; SILVA, S. R.; DONADIO, L. C. Reação de variedades e clones de laranjas a *Xylella fastidiosa*. **Revista Brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.1, p.145-147, 2006.

STUCHI, E. S.; SILVA, S. R.; COLETTA FILHO, H. D.; FRANCO, D.; CARVALHO, S. A.; SEMPIONATO, O. R.; DONADIO, L. C.; ALVES, K. C. S. Navelina ISA 315 sweet orange: a citrus variegated chlorosis (CVC) resistant cultivar. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 17., 2007, Riverside. **Program & Abstracts...** Adana, Riverside: International Organization of Citrus Virologists, 2007. p.89.

VERNIERE, C.; PERRIER, X.; DUBOIS, C.; DUBOIS, A.; BOTELLA, L.; CHABRIER, C.; BOVÉ, J. M.; DURAN-VILA, N. Interactions between citrus viroids affect symptom expression and field performance of Clementine trees grafted on trifoliolate orange. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, p. 356-368, 2006.

YAMAMOTO, P. T.; ROBERTO, S. R.; PRIA JUNIOR, W. D.; FELIPPE, M. R.; MIRANDA, V. S.; TEIXEIRA, D. C.; LOPES, J. R. S. Transmissão de *Xylella fastidiosa* por cigarrinhas *Acrogonia virescens* e *Homalodisca ignorata* (Hemiptera: *Cicadellidae*) em plantas cítricas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 28, p. 178-181, 2002.

Circular Técnica, 124

Embrapa Mandioca e Fruticultura
Endereço: Rua Embrapa, s/n, Caixa Postal 07,
44380-000, Cruz das Almas - Bahia
Fone: (75) 3312-8000
Fax: (75) 3312-8097
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac



1ª edição
On-line (2017)

Comitê de publicações

Presidente: Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa
Secretária: Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro
Membros: Áurea Fabiana Apolinário Albuquerque Gerum,
Cícero Cartaxo de Lucena, Clóvis Oliveira de Almeida,
Eliseth de Souza Viana, Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki,
Leandro de Souza Rocha, Marcela Silva Nascimento,
Tullio Raphael Pereira de Pádua

Expediente

Supervisão editorial: Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa
Revisão de texto: Adriana Villar Tullio Marinho
Normalização bibliográfica: Lucidalva Ribeiro G. Pinheiro
Editoração eletrônica: Anapaula Rosário Lopes