

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

BC/44206

IB/81626

INSTITUTO DE BIOLOGIA

T/UNICAMP
C253r



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

MARLI REZENDE TESSARINI DE CARVALHO

REAÇÃO DE PORTA-ENXERTOS HÍBRIDOS DE CITROS À INFECÇÃO
DE TRONCO E RAÍZES POR *PHYTOPHTHORA PARASITICA*

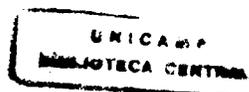
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo (a) candidato a)
Marli Rezende Tessarini de Carvalho
aprovada pela Comissão Julgadora.

15/12/2000
[Handwritten signature]

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Genética e Biologia Molecular na área de Genética Vegetal e Melhoramento

Orientador: Prof. Dr. Herculano Penna Medina Filho

2000



UNIDADE	I.B 81626
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	C253r
V. Ex.	
TOMBO BC	44206
PROC.	16-392101
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREC	R\$ 11,00
DATA	26/04/01
N.º CPD:	

CM-00155032-0

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

C253r **Carvalho, Marli Rezende Tessarini de**
 Reação de porta-enxertos híbridos de citros à infecção de tronco de raízes por *Phytophthora* parasitica/Marli Rezende Tessarini de Carvalho. -- Campinas, SP. [s.n.], 2000.
 87f: ilus.

Orientador: Herculano Penna Medina Filho
 Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.

1. Citros. 2. Porta-enxertos. 3. Gomose. 4. Híbridos. I. Medina Filho, Herculano Penna. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 15 de Dezembro de 2000.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Herculano Penna Medina Filho (Orientador)

Assinatura

Prof. Dr. Aquiles Eugênio Piedrabuena

Assinatura

Prof. Dr. Paulo Mazzafera

Assinatura

Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini

Assinatura

Dr. Oliveira Guerreiro Filho

Assinatura

Dra. Rosa Maria Lizana Ballvé

Assinatura

Dra. Mirian Perez Maluf

Assinatura

Dr. Walter José Siqueira

Assinatura

À minha sogra, Edith, pelo carinho incondicional;

Ao meu sogro, Romeu (*in memoriam*), de quem

sempre recebi muito estímulo e que não

pôde ver este trabalho concluído,

Com carinho e saudade,

OFEREÇO

Aos meus filhos queridos , Ana Carolina e Lucas;

e ao meu marido, José Romeu,

por compreenderem a ausência .

Com infinito amor,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, particularmente ao Instituto de Biologia pela minha formação científica.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas, Centro de Genética, Centro de Café e Plantas Tropicais em Campinas e ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira, em Cordeirópolis, por possibilitar a realização desses estudos.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), pela Bolsa de Pós-graduação concedida.

Ao Dr. Joaquim Teófilo Sobrinho, diretor e ao Dr. Jorgino Pompeu Júnior, responsável pelo Banco de Germoplasma do CCSM, pelo apoio e pela infraestrutura necessária a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Herculano Penna Medina Filho, pela orientação competente, pelo espírito científico com que sempre conduziu as pesquisas, pela ajuda na elaboração dessa tese e pela amizade.

Ao pesquisador Eduardo Feichtenberguer da Seção de Fitopatologia do Instituto Biológico de Sorocaba, pela produção do inóculo de *Phytophthora*, e pela ajuda na orientação da técnica de inoculação.

À Dra. Rosa Maria Lizana Ballvé pela valiosa contribuição científica, pelo respeito, pelo carinho e pela extraordinária amizade que sempre me demonstrou, com afeto agradeço.

Ao Dr. Oliveiro Guerreiro Filho do Centro de Café e Plantas Tropicais do Instituto Agrônomo, pela valiosa ajuda nas discussões estatísticas, pela paciência e amizade.

Ao Prof. Dr. Aquiles Eugênio Piedrabuena, pelos poucos momentos enriquecidos com grandes lições de vida, pela ajuda e apoio incondicionais e em especial por aceitar a presidência desta Banca de Tese, carinhosamente agradeço.

À Dra. Rita Bordignon do Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agrônomo, pela intensa colaboração na execução de todas as fases desse trabalho, pelas sugestões como membro de pré-banca e pela amizade.

Ao Dr. Walter José Siqueira do Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agrônomo pelas valiosas sugestões, pela presteza nas avaliações dos experimentos e pelo constante entusiasmo.

Aos amigos do Centro de Café e Plantas Tropicais do Instituto Agrônomo, pelo constante apoio e em especial à Sra. Masako Toma Braghini pelo auxílio nas avaliações dos experimentos; José Ricardo Macedo Pezzopane e Cristiana de Gaspari pela pronta ajuda em diversas ocasiões.

À Silvia Luisa dos Santos do Centro de Café e Plantas Tropicais e Solange Camargo do Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agrônomo pela boa vontade, competência no trabalho de digitação e editoração dessa tese.

Aos doutores Paulo Mazzafera, Vera Nisaka Solferini, Rosa Maria Lizana Ballvé, Oliveira Guerreiro Filho, Rita Bordignon, Mirian Perez Maluf e Walter José Siqueira, membros da pré-banca e banca desta tese.

CONTEÚDO

	Pág.
APRESENTAÇÃO	3
RESUMO	5
SUMMARY	7
INTRODUÇÃO	9
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
Síntese	12
Considerações gerais	12
Origem e disseminação da <i>Phytophthora</i>	14
Taxonomia do gênero <i>Phytophthora</i> e as espécies que atacam os citros	15
Estruturas vegetativas e reprodutivas da <i>Phytophthora</i>	16
Ciclo de vida do fungo e epidemiologia	17
Sintomatologia	18
Uso de porta-enxertos resistentes	20
Testes de resistência à <i>Phytophthora</i>	21
Fatores que afetam o desenvolvimento da gomose e da podridão das raízes	23
Mecanismos de resistência	25
MATERIAL E MÉTODOS	27
Resistência à infecção de tronco ou “gomose de <i>Phytophthora</i>”	28
Material vegetal	28
Produção dos inóculos e inoculação das plantas	29
Tolerância à infecção de raízes causada por <i>Phytophthora parasítica</i>	32
Material vegetal	32
Produção dos inóculos e inoculação dos seedlings	35

Índice de redução devido à infecção de raízes por <i>Phytophthora parasitica</i>	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
Resistência à infecção de tronco ou “gomose de <i>Phytophthora</i>”	40
Tolerância à infecção de raízes de <i>Phytophthora parasitica</i>	49
Índice de redução devido à infecção de raízes por <i>Phytophthora parasitica</i>	54
Resistência à infecção de tronco e Tolerância à infecção de raízes	67
CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

APRESENTAÇÃO

Em 1990, na 12ª Semana da Citricultura em Cordeirópolis, o Instituto Agrônomo de Campinas apresentou à comunidade um plano geral de melhoramento genético de citros baseado em estratégias tradicionais de hibridações controladas e avaliações agronômicas para a determinação do potencial de utilização dos materiais produzidos.

No desenvolvimento desse programa, ênfase especial foi dada ao melhoramento de porta-enxertos visto que a totalidade dos pomares comerciais de laranjas, tangerinas, limas, limões e pomelos são constituídos de plantas enxertadas em porta-enxertos específicos, os quais não somente conferem atributos especiais às copas, como também determinam, na maioria das vezes, a própria viabilidade econômica da atividade. Historicamente, não só no Brasil como em todo o mundo, as grandes alterações no panorama citrícola são acompanhadas, ou mesmo são conseqüência, de mudanças dos porta-enxertos. É bastante conhecida, por exemplo, a catástrofe da citricultura brasileira ocorrida na década de 40, quando da introdução do vírus da tristeza (CTV), o qual dizimou todos os pomares de laranjas do país, cerca de 10 milhões de plantas, devido à intolerância do porta-enxerto laranja Azeda, sobre o qual as copas de laranjas estavam então, enxertadas. A substituição da laranja Azeda pelo limão Cravo, que é tolerante à tristeza, possibilitou que o Brasil se tornasse o maior produtor e exportador de suco concentrado de laranja do mundo. As implicações sócio-econômicas dessa substituição do porta-enxerto foram, portanto, enormes.

Com isso, atualmente mais de 85% da nossa citricultura ficou assentada sobre um único porta-enxerto. Essa uniformidade genética torna a citricultura brasileira extremamente vulnerável. Daí a necessidade de um programa de melhoramento visando o desenvolvimento de diversidade genética e de novas opções para o citricultor, e conseqüentemente, para a indústria de sucos.

No programa de melhoramento de porta-enxertos em execução no IAC foram realizadas milhares de emasculações e polinizações controladas entre porta-enxertos selecionados. Dos frutos colhidos obtiveram-se as sementes, as quais são, nos porta-enxertos, poliembriônicas. Das várias plântulas oriundas de cada semente, identificou-

se por sete locos isoenzímicos, a planta híbrida (oriunda do embrião zigótico) e as nucelares (oriundas dos embriões apomíticos). Estas últimas se constituem em reproduções vegetativas do genitor feminino utilizado no cruzamento. Após estas identificações, os híbridos e parte dos clones nucelares (usados como controle), foram então, enxertados como uma única copa de laranja Valência e plantados no campo para avaliações agronômicas comparativas, visando indicar o potencial dos diversos híbridos como porta-enxertos. Cabe aqui salientar que, como os cítricos são altamente heterozigotos, os híbridos entre eles são geneticamente diferentes entre si, mesmo quando originários dos mesmos pais.

Esses híbridos em crescimento nesse campo de seleção no Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” do Instituto Agronômico em Cordeirópolis se encontravam na segunda frutificação quando foram, estudados quanto a reação à gomose de *Phytophthora* inoculada no tronco. Paralelamente, progênies nucelares de alguns desses híbridos foram estudadas no Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agronômico em Campinas quanto a reação à podridão de raízes causada pelo mesmo fungo.

A *Phytophthora* representa a principal doença fúngica dos porta-enxertos de citros. O grau de tolerância ou resistência do porta-enxerto a essa doença é uma característica comercial extremamente importante, motivo pelo qual deve ser considerada como um dos critérios de seleção num programa de melhoramento. Por essa razão, constituiu-se no objeto de estudo dessa tese.

RESUMO

Quatrocentos e oitenta e seis híbridos entre limão Cravo (C), *Poncirus trifoliata* (T), tangerina Sunki (S) e laranja Azeda (A), além de 132 plantas referentes aos genitores foram estudados quanto à reação à infecção de tronco por *Phytophthora parasitica*, no campo. Outros 1739 seedlings nucelares de algumas progênies dos híbridos foram estudadas em estufa em substrato de argila expandida quanto à reação nas raízes quando inoculadas com a mesma *Phytophthora*. Além dessas, também foram incluídos nesse estudo, os genitores e os clones de Trifoliata Rich 16-6, citrumelo Swingle, limão Volkameriano e as tangerinas Cleópatra e Suenkat. A classificação do grau de resistência à gomose de tronco em plantas adultas no campo pode ser eficientemente realizada somente quando baseada na média da área de lesões de número razoável de plantas nucelares. Isso é devido às grandes variações observadas em plantas individuais do mesmo clone e por essa razão, é ineficiente a seleção precoce de híbridos individuais. Quanto a gomose de tronco, o Trifoliata Davis A e a laranja Azeda São Paulo se mostraram bastante resistentes, desenvolvendo em geral, lesões reduzidas. A tangerina Sunki 200 e o limão Cravo Limeira desenvolveram lesões maiores, tendo a Sunki, a tendência em desenvolver lesões maiores que o Cravo. Híbridos de Trifoliata apresentaram, no geral, lesões intermediárias e os híbridos de Azeda, mostraram uma grande amplitude de variação na área das lesões. Da mesma forma se comportaram os híbridos recíprocos entre Sunki e Cravo. O nível de tolerância à podridão de raízes é bem determinado em progênies nucelares de clones e de híbridos, em substrato de argila expandida, avaliando-se a taxa de sobrevivência dos seedlings e a redução no vigor da parte aérea nas plantas sobreviventes, comparadas com o lote controle não inoculado. Isso se deve as altas correlações entre esses dois parâmetros com a redução do peso das raízes, da parte aérea, do diâmetro do caule, da altura da planta bem como com as notas subjetivas para o aspecto geral das raízes e parte aérea, enfolhamento e coloração das plantas. Esse teste para avaliação da tolerância à podridão de raízes, em substrato de argila expandida, desenvolvida neste trabalho, mostrou-se muito simples e eficiente sendo inédito na literatura. Mostraram-se

tolerantes à podridão das raízes, os trifoliatas Davis A e Rich 16-6 e o citrumelo Swingle. A tangerina Sunki e seus híbridos com limão Cravo e um híbrido TxA se mostraram intolerantes. O limão Cravo, a tangerina SuenKat, o limão Volkameriano, a maioria dos híbridos de Trifoliata e de Azeda têm um nível de tolerância intermediário, apesar de alguns serem um pouco mais tolerantes, porém sem atingir o nível dos Trifoliatas e do citrumelo Swingle. Em relação à resistência conjunta, à gomose de tronco e à podridão de raízes causada por *Phytophthora*, os híbridos mais promissores são aqueles entre o Trifoliata Davis A e Sunki 200, assim como seus recíprocos.

SUMMARY

Four hundred and eighty six hybrids between Rangpur lime (R), *Poncirus trifoliata* (T), Sunki mandarin (S) and Sour orange (O), besides 132 individuals of genitors were tested for gummosis caused by *Phytophthora parasitica* in the field. Others 1739 nucelars seedlings to some hybrids progenies were tested in greenhouse, in expanded clay substrate for root rot reaction upon inoculation with same *Phytophthora*. In addition to these were included in this work, the genitors and the clones Rich16-6 trifoliata, Swingle citrumelo, Cleopatra and Sunki mandarins and Volkamer lemon. The level of resistance to gummosis can be estimated from inoculation of adult plants in the field only when based on the mean lesions of reasonable number nucelar plants. This is due to the great variations observed in single individuals of the same clone under well-controlled conditions. For this reason, it was inefficient the attempts of early selection of hybrids based on the lesion area developed by single adult individuals. The Davis A trifoliata and São Paulo Sour orange were quite resistant, displaying reduced lesions. Sunki 200 mandarin and Limeira Rangpur lime developed larger lesions, although Sunki tend to develop larger lesions than Rangpur. In general, Trifoliata hybrids showed intermediate lesions and the Sour orange hybrids were quite variable displaying, large amplitude of variation. This same behavior was observed among reciprocal SxR hybrids. The level of tolerance to root rot can be determined in nucelar progenies of clones and hybrids tested in infested expanded clay substrate. Survivor rate and reduction of plant vigor of the surviving plants, relative to non inoculated plants, are easily estimated and well correlated to root weight, shoot weight, seedling diameter and height as well as leaf ess and leaf color. This test to tolerance to rot caused by *Phytophthora parasitica* in expanded clay substrate, here developed was efficient and simple. Trifoliates Davis A and Rich 16-6 as well as Swingle citrumelo showed high tolerance while Sunki, its all hybrids with Rangpur and a hybrid TxO were intolerant. Rangpur, Suen Kat, Volkamer and the majority of hybrids of Trifoliata and of Sour orange displayed an intermediate level of tolerance although some of them were a little more tolerant without however

attaining the level of the trifoliates or of the Swingle. According to the reaction to both gummosis and root rot the most promising hybrids were those between trifoliolate Davis A and the Sunki 200 mandarin as well as its reciprocals.

INTRODUÇÃO

O Brasil ocupou durante a década de 90, uma posição privilegiada no agronegócio mundial como o maior produtor de laranja e exportador de suco concentrado, respondendo por quase metade do volume mundial de suco produzido. Essa atividade agro-industrial tem gerado 1,5 bilhões de dólares anuais para a economia brasileira. O Estado de São Paulo participa com mais de 95% do volume de suco exportado.

Dois terços da produção total, são transformados em suco, 85% dos quais destinam-se ao mercado externo. O mercado interno, além do consumo da fruta fresca, tem se mostrado promissor para o consumo de suco fresco e integral, crescendo em um ritmo anual de aproximadamente 60 e 150%, respectivamente.

Para continuar competitivo num mercado de oferta abundante torna-se necessário aumentar a produção por área de plantio e diminuir os custos de produção. Essas duas metas estão intimamente relacionadas à eficiência do processo produtivo e à qualidade do material genético utilizado, tanto nas variedades de copas como nas de porta-enxertos. A ampliação da base genética, principalmente dos porta-enxertos, é altamente recomendável, uma vez que estes podem contribuir na indução de maior produtividade, melhor qualidade de fruta e suco e principalmente tolerância ou resistência à várias doenças que afetam as variedades de copa.

Algumas doenças têm limitado severamente a utilização de alguns porta-enxertos, não só no Brasil como em todos os países citrícolas do mundo. Nos Estados Unidos, por exemplo, o limão rugoso (*Citrus jambhiri*) já foi o porta-enxerto responsável por mais de 60% dos pomares sendo que, atualmente, ele é raramente utilizado devido à grande suscetibilidade ao declínio, doença de etiologia ainda desconhecida, responsável por grandes perdas de plantas cítricas. O citrange Carrizo (*Poncirus trifoliata* x *Citrus sinensis*), promissor substituto do limão rugoso, mostrou-se também suscetível ao declínio. A utilização da laranja Azeda (*C. aurantium*) é incerta devido a sua intolerância ao

vírus da tristeza. Em regiões infestadas com nematóides, poucas são as opções de porta-enxertos resistentes. As laranjas-doce têm despertado interesse como porta-enxertos, por induzir altas produções, boa qualidade de frutos, tolerância à nematóide e ao vírus da tristeza. No entanto, seu uso é muito limitado devido a alta suscetibilidade à *Phytophthora* (TIMMER & CASTLE, 1985; SMITH *et al.* 1987).

No Brasil, a laranja Azeda (*C. aurantium*), considerada resistente à *Phytophthora*, era o porta-enxerto mais utilizado até a década de quarenta, e foi substituída pelo limão Cravo devido a sua intolerância ao vírus da tristeza. O limão Cravo (*C. limonia*), que até hoje se constitui no principal porta-enxerto da citricultura brasileira, é por sua vez menos tolerante à infecção de *Phytophthora* que a laranja Azeda, o que parece ter causado um aumento considerável na incidência e na severidade dos danos causados por esse fungo (FEICHTENBERGER, 1996).

São vários os danos causados pela infecção das espécies de *Phytophthora*, dependendo do órgão da planta infectado. Os mais sérios problemas são a infecção do tronco, conhecida como "podridão do pé" ou "gomose de *Phytophthora*", e a infecção de raízes e radículas, conhecida como "podridão das raízes". A podridão do pé ou gomose é um problema sério em pomares adultos e a "podridão das raízes" é o mais sério problema em viveiros.

Devido à importância praticamente universal da gomose e da podridão das raízes, muitas investigações têm sido conduzidas no sentido de avaliar porta-enxertos de citros para a resistência à *Phytophthora*.

Em programas de melhoramento de porta-enxertos, onde se tenta associar características de interesse agrônomo, adaptabilidade edafoclimática e resistência a diversas doenças, um dos primeiros critérios utilizados na seleção de novos porta-enxertos, é o nível de resistência à *Phytophthora*.

No programa de melhoramento de porta-enxertos do Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agrônomo de Campinas, foi obtido um grande número de híbridos, dentre estes, aproximadamente,

seiscentas novas plantas, as quais foram enxertadas com copa de laranja Valência e se encontram em fase de avaliação agrônômica e tecnológica. Esses híbridos são provenientes de cruzamentos entre os clones *Poncirus trifoliata*, laranja Azeda (*C. aurantium*), tangerina Sunki (*C. sunki*) e limão Cravo (*C. limonia*). A avaliação desses diversos híbridos originados de cada cruzamento com relação à *Phytophthora*, constituiu-se no objetivo do presente trabalho.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Síntese

As doenças fúngicas de maior importância econômica dos citros no Brasil são causadas por várias espécies de *Phytophthora*. No Estado de São Paulo a *Phytophthora parasitica* é a principal espécie responsável pelas doenças e conseqüente perdas em pomares e viveiros. A *Phytophthora* apresenta estruturas de resistência, como clamidósporos e oósporos, que permanecem dormentes no solo em condições desfavoráveis ao desenvolvimento do fungo, sendo endêmicas na maioria das áreas citrícolas, dificultando o seu controle. A utilização de porta-enxertos resistentes constitui-se na principal forma de controle, devido à relativa suscetibilidade exibida pelas copas comerciais. Testes para avaliação da resistência à *Phytophthora* têm sido realizados e, não raro, classificações conflitantes acerca do nível de resistência de alguns clones têm sido relatadas. Nem sempre se observa na literatura uma estreita correlação entre o grau de resistência de um clone à infecção de tronco e à infecção de raízes, apesar de ambas serem causadas pelo mesmo fungo. Embora diversos fatores ambientais e fisiológicos do hospedeiro possam influenciar o desenvolvimento da doença, seus efeitos e magnitudes estão longe de serem bem quantificados. Talvez sejam estas as prováveis causas dessas contradições.

Considerações gerais

Os citros são membros da família Rutaceae, sub-família Aurantioideae, sub-tribo Citrinae, da qual faz parte o grupo dos “Verdadeiros Citros”, composto por 6 gêneros. A classificação taxonômica de *Citrus* é complexa tendo sido reconhecida inicialmente por TANAKA (1954), 145 espécies e posteriormente, 157. HODGSON, (1961) considerou 36 espécies enquanto que SWINGLE & REECE, (1967) reconheceram como válidas

somente 16 espécies.

A reprodução assexuada por semente é de ocorrência generalizada tanto em *Citrus* como em *Poncirus trifoliata*, na qual vários embriões são formados em uma única semente. Dos vários embriões desenvolvidos, normalmente um único é de origem sexual, resultado da união do gameta masculino e feminino. Os demais são assexuados, formados a partir de células somáticas do nucelo, sendo geneticamente idênticos à planta mãe (FROST & SOOST, 1968). Essa característica é de grande valor para a reprodução comercial de porta-enxertos, porque permite a produção de progênies geneticamente uniformes. No entanto, para o melhoramento, constitui-se em um problema, uma vez que as progênies são formadas pela mistura de plantas híbridas e nucelares (BORDIGNON, 1995).

A identificação das plantas híbridas, que são as de interesse para o melhoramento é facilitada quando existem marcadores. Infelizmente, em citros poucos são os marcadores morfológicos passíveis de serem utilizados, exceções feitas ao caráter folha trifoliolada presente em *Poncirus trifoliata* e à largura da asa do pecíolo de *C. aurantium* (BALLVÉ, *et al.*, 1997). Locos isoenzímicos, identificados através de eletroforese, têm sido bastante utilizados (BALLVÉ *et al.*, 1995; BORDIGNON, 2000).

A planta cítrica comercial constitui-se de dois indivíduos geneticamente distintos, a copa e o porta-enxerto, que interagem entre si e com o ambiente. O porta-enxerto influencia diversas características da variedade copa, como: adaptabilidade às condições ambientais, características hortícolas e resistência a doenças.

O início da utilização generalizada de plantas cítricas enxertadas deu-se justamente em função da capacidade dos porta-enxertos de induzir resistência às diversas doenças. Historicamente, na citricultura os graves problemas de sanidade têm sido resolvidos pela substituição dos porta-enxertos.

A utilização de plantas cítricas enxertadas iniciou-se por volta de 1840 devido à disseminação generalizada da “gomose de *Phytophthora*” ou “podridão do pé” causada por fungos de *Phytophthora spp* em todas as regiões citrícolas do mundo. No Brasil, o uso de plantas enxertadas deu-se por volta do início do século XX, sendo a laranja Caipira o porta-enxerto mais utilizado. Devido a sua suscetibilidade à *Phytophthora* e

baixa resistência à seca, foi substituída pela laranja Azeda que estava se tornando o porta-enxerto mais utilizado do mundo (POMPEU JR, 1991). A laranja Azeda (*C. aurantium*) passou então a ser utilizada como porta-enxerto devido a sua tolerância a esses fungos e por quase duas décadas foi o principal porta-enxerto da nossa citricultura. Em 1940, um novo patógeno, o vírus da tristeza (CTV), determinou a substituição do porta-enxerto. O limão Cravo (*C. limonia*), apesar de ser menos tolerante a "*Phytophthora*" que a laranja Azeda, passou a ser utilizado em larga escala, devido principalmente à sua rusticidade e resistência ao CTV.

Atualmente, a incidência e a severidade das doenças causadas por *Phytophthora spp* têm aumentado muito, constituindo-se em um dos principais problemas da cultura não só no Brasil, como em todos os outros países produtores de citros. (CARPENTER & FURR; 1962, GRAHAM, 1990, 1995; MATHERON, *et al.*, 1998).

Origem e disseminação da *Phytophthora*

A "gomose de *Phytophthora*" dos citros é conhecida desde o século X, em observações na Península Ibérica. A primeira grande epidemia ocorreu nos Açores a partir de 1832, tendo sido observadas em Portugal manifestações severas em 1845. Daí se alastrou para a Espanha e em seguida para o sul da França em 1851; norte da Itália em 1855, e depois para a Grécia. Na América do Norte foi observada em 1875 na Califórnia, tendo o primeiro surto importante da doença, ocorrido na Flórida, em 1879.

Na América do Sul, o primeiro caso documentado foi em 1709, em Lima (Peru), e somente em 1917 no Brasil (ALENCAR, 1941). A "gomose de *Phytophthora*" passou a ter importância econômica após o aparecimento do vírus da tristeza. A laranjeira Azeda (*C. aurantium*), que apresenta baixa suscetibilidade à doença, era o porta-enxerto mais utilizado. Como *C. aurantium* é intolerante a esse vírus, foi substituída pelo limão Cravo (*C. limonia*), que passou então a ser utilizado em larga escala.

Nos últimos anos, com o aparecimento de outros problemas fitossanitários, principalmente o declínio, evidenciou-se a necessidade de diversificação de porta-

enxertos e novas alternativas para a substituição do limão Cravo têm sido consideradas. Para tanto, têm-se optado por porta-enxertos que não se apresentam muito suscetíveis ao declínio. No entanto, dentre os principais porta-enxertos que estão sendo utilizados, estão incluídos aqueles que apresentam maior suscetibilidade aos fungos do gênero *Phytophthora*, como as tangerinas Cleópatra e Sunki e a laranja Caipira.

Outro fator que tem contribuído para a expansão geográfica da doença nos novos campos do Estado de São Paulo e no Brasil é a utilização de mudas contaminadas. De acordo com FEICHTENBERGER (1996), a *Phytophthora* vem sendo encontrada na maioria dos viveiros comerciais inspecionados.

Taxonomia do gênero *Phytophthora* e as espécies que atacam os citros

A taxonomia do gênero *Phytophthora* tem sido estudada desde 1931 quando TUCKER reconheceu 13 diferentes espécies. WATHERHOUSE *et al.*, (1963) reconheceram 6 grupos com 43 espécies, NEWHOOK *et al.*, (1978), reconheceram também 6 grupos divergindo, porém, na classificação das espécies, o que permanece ainda em discussão (ROSSETTI, 1969; FEICHTENBERGER, 1982; BRASIER, 1983; GALLEGY, 1983; WATHERHOUSE *et al.*, 1983; BIELENIN *et al.*, 1988; OUDEMANS & COFFEY, 1991; ZITKO *et al.*, 1991; BRASIER & HANSEN, 1992).

Das espécies de *Phytophthora* descritas, as que são capazes de induzir doença em plantas cítricas são *P. citrophthora* (Sm & Sm.) Leonian, *P. seringae* (Kleb.) Kleb., *P. hibernalis* Carne, *P. palmivora* (Butler), *P. cactorum* (Lebert & Cohn) Schroter, *P. cinnamoni* Rands, *P. citricola* Saw., *P. dreschleri* Tucker, *P. megasperma* Drechsler var. *megasperma*, *P. boehmera* Saw. e *P. parasitica* Dast. (*P. nicotianae* B. de Haan var. *parasitica* (Dast.) Waterh.).

Phytophthora parasitica contribui para grande parte da polêmica à cerca da sistemática, por existirem as variedades *nicotianae* e *parasitica*. Essa divisão foi feita, primeiramente, por TUCKER, (1931), que se baseava principalmente na especificidade

do hospedeiro. Desta forma, um isolado capaz de causar sintomas em tabaco era referido como *P. parasitica* var. *nicotianae* e todos outros isolados eram classificados simplesmente como *P. parasitica* var. *parasitica*. Análises de isoenzimas não revelaram evidências que justificassem esta separação dentro da espécie, nem mesmo qualquer divergência genética entre formas que infectam tabaco ou citros (OUDEMANS & COFFEY, 1991).

Das espécies de *Phytophthora*, as mais comuns e responsáveis por perdas significativas em citros em todo o mundo são *P. parasitica* e *P. citrophthora*.

Nos Estados Unidos, na Flórida e no Texas, *P. parasitica* é a espécie que está mais comumente associada com a doença (GRIMM & HUTCHISON, 1973; LUTZ *et al* 1991; TIMMER & MENGE, 1988; ZITKO & TIMMER, 1994) chegando a ser responsável por 95% dos casos de infecções (TIMMER, 1991). No estado da Califórnia, tanto *P. parasitica* como *P. citrophthora* são comuns.

No Brasil, *P. parasitica* e *P. citrophthora* são as espécies mais encontradas nas várias regiões produtoras. No Estado de São Paulo, *P. parasitica* é a espécie mais associada às perdas significativas tanto em viveiros, como em pomares comerciais, sendo responsável pela grande maioria dos casos da doença (FEICHTENBERGER, 1996).

Estruturas vegetativas e reprodutivas da *Phytophthora*

Os fungos do gênero *Phytophthora*, que atacam os citros apresentam diversas estruturas vegetativas e reprodutivas, entre as quais se incluem: micélio, esporângios, zoósporos, clamidósporos e oósporos.

Esporângios são esporos assexuais de forma geralmente globosa, que se formam nas hifas diferenciadas, denominadas esporangióforos. Os esporângios podem germinar formando tubos germinativos ou zoósporos.

Zoósporos são esporos assexuais dotados de dois flagelos, que permitem a sua locomoção à curtas distâncias, em meio líquido. Não apresentam parede celular, por

isso seu ciclo de vida é curto, sendo considerados como a principal estrutura infectiva do fungo (HICKMAN, 1970; MATHERON & MATEJKA, 1988).

Clamidósporos são esporos assexuais protegidos por uma parede celular espessa. A maior ou menor capacidade de sobrevivência do clamidósporo é determinada pela espessura dessa parede celular. Esse tipo de estrutura é produzido em abundância em *P. parasitica*.

Oósporos são os esporos sexuais formados no interior dos gametângios femininos, os oogônios. Apresentam também parede celular espessa que lhes conferem resistência às condições adversas. O seu papel no ciclo de vida do fungo ainda não está totalmente esclarecido, entretanto, podem contribuir para o aparecimento de variação genética, embora a detecção de variações através de recombinação seja de ocorrência rara na natureza (ZENTMEYER & ERWIN, 1970; FELD *et al.*, 1979; ÉRSEK, *et al.*, 1995; BRASIER, 1992).

Ciclo de vida do fungo e epidemiologia

Os fungos do gênero *Phytophthora* são endêmicos no solo de pomares de citros na maioria das áreas citrícolas no mundo.

A infecção geralmente ocorre através dos zoósporos, os quais são liberados quando há presença de água abundante. Os zoósporos “nadam” para a zona de alongação das raízes ou são atraídos por substâncias exsudadas de ferimentos nas mesmas (TIMMER & MENGE, 1988). Na superfície das raízes, ou de outros órgãos, germinam e produzem hifas que infectam os tecidos suscetíveis. Podem ainda encistar, e desta, forma permanecer viáveis no solo por longos períodos.

Clamidósporos e oósporos são considerados estruturas de resistência do fungo. Em *P. parasitica*, a produção de clamidósporo ocorre em condições desfavoráveis ao desenvolvimento micelial do fungo, ou seja, baixa disponibilidade de oxigênio e nutrientes, baixas temperaturas (15 a 18°C), onde o desenvolvimento de raízes é reduzido, havendo um volume menor de tecidos a serem infectados. Essas condições

geralmente ocorrem nos meses frios e secos do ano. Em temperatura abaixo de 15°C, os clamidósporos podem se tornar dormentes, até que a germinação seja estimulada por condições favoráveis como; umidade e temperatura elevada (28 a 32°C), alta disponibilidade de oxigênio e de nutrientes no solo ou exsudados de raízes (LUTZ & MENGE, 1991; TIMMER & MENGE, 1988), o que ocorre geralmente nos meses quentes e chuvosos do ano (FEICHTENBERGER, 1996). Os oósporos podem permanecer dormentes no solo ou em restos de cultura por longos períodos, germinando em condições de alta umidade e níveis elevados de oxigênio e alternância entre períodos de altas e baixas temperaturas. Oósporos são importantes para o aparecimento de variações genéticas nas populações do fungo, devido à ocorrência de recombinantes sexuais. No início da estação chuvosa, com o micélio dormente, os clamidósporos ou oósporos presentes no solo ou em órgãos infectados da planta podem germinar formando esporângios, que poderão produzir um grande número de zoósporos. Estes germinam produzindo hifas, que poderão infectar tecidos suscetíveis. Caso as chuvas sejam prolongadas, o fungo iniciará a produção de novos propágulos, principalmente esporângios e zoósporos, resultando na ocorrência de infecções severas em raízes e radículas e surtos epidemiológicos de podridão parda dos frutos (FEICHTENBERGER, 1990,1996).

Sintomatologia

Os fungos do gênero *Phytophthora* podem infectar vários órgãos da planta em diferentes estádios de desenvolvimento. Nas sementeiras, podem infectar as sementes antes da sua completa germinação, provocando podridão seguida da morte das mesmas. Em plântulas recém-germinadas podem ocorrer lesões na base do caulículo devido ao ataque do fungo resultando no tombamento, mela ou “damping off”.

Em viveiros os fungos podem infectar folhas, brotos novos, hastes e raízes das mudas. Nos pomares podem ocorrer infecções de tronco e raízes principais, causando a “gomose ou podridão do pé”, e em raízes secundárias e radículas. Frutos também

podem ser infectados causando a doença conhecida como “podridão parda dos frutos” (FELD *et al.*, 1979; GRIMM & TIMMER, 1981; TIMMER & MENGE, 1988; FEICHTENBERGER, 1990; ROSSETTI, 1991; GRAHAM, *et al.*, 1998).

Das várias manifestações da doença a podridão do pé ou gomose em pomares e a podridão de raízes em viveiros são as mais comuns e as que causam maiores danos sendo portanto, as que mais preocupam os citricultores e viveristas.

Podridão do pé ou gomose de *Phytophthora*: Os primeiros sintomas da doença se manifestam com a morte e o escurecimento de pequenas zonas da casca com exsudação de goma no tronco e colo de porta-enxertos suscetíveis. Lesões exsudativas também podem ocorrer em raízes principais, logo abaixo do nível do solo, porém de difícil constatação da goma, por ser esta facilmente dissolvida na água do solo. Pode-se observar ainda exsudação de goma acima do ponto de enxertia, quando o cultivar de copa também é suscetível.

Em troncos de porta-enxertos que não apresentam resistência ao fungo, os tecidos infectados da casca se rompem desenvolvendo rachaduras e fendilhamentos longitudinais. Devido à infiltração da goma produzida pelas lesões, ocorre o escurecimento dos tecidos abaixo da casca, e na superfície do lenho, que podem ser colonizados por microorganismos secundários.

Quando as lesões se desenvolvem muito, circundando grande parte do caule ou das raízes, a planta entra em rápido declínio, pelo impedimento do fluxo de seiva elaborada para o sistema radicular. As lesões podem tomar todo perímetro do tronco, destruindo floema e com isso provocar a morte da planta (ALENCAR, 1941; ROSSETTI, 1947 a; TIMMER & MENGE, 1988; FEICHTENBERGER, 1990, 1996).

É comum a planta afetada apresentar sintomas reflexos setoriais na parte aérea, havendo correspondência entre a face da copa afetada e a face do tronco ou das raízes principais onde as lesões ocorrem. Esses sintomas reflexos incluem; pouco desenvolvimento de folhas novas, amarelecimento uniforme das folhas por todo limbo, florescimento e frutificação extemporâneos, produção de grande quantidade de frutos de tamanho reduzido que caem antes de ter completado o desenvolvimento, seca,

morte dos ponteiros e deperecimento progressivo da copa.

Podridão de raízes e radículas em viveiros: As podridões de raízes e radículas são muito severas em viveiros constituídos de porta-enxertos intolerantes. As raízes e radículas atacadas pelo fungo apresentam podridões que podem reduzir drasticamente a área total das mesmas. O sistema radicular afetado exibe um aspecto atípico, como se as raízes e radículas tivessem sido descascadas, devido à grande facilidade com que a casca apodrecida se solta (FEICHTENBERGER, 1990, 1996).

Na parte aérea as mudas suscetíveis podem apresentar sintomas reflexos da doença, que incluem descoloração das folhas, amarelecimento uniforme de toda a planta, murcha, seca e morte total da muda.

Uso de porta-enxertos resistentes

O uso de porta-enxertos resistentes ou tolerantes constituiu-se na principal forma de controle das doenças causadas por *Phytophthora*, uma vez que a maioria das copas comerciais exibem relativa suscetibilidade às mesmas.

Com respeito à podridão das raízes, o termo tolerância tem sido preferencialmente utilizado no lugar de resistência porque as raízes de todas as variedades e cultivares de citros são infectadas em inoculações artificiais (CARPENTER & FURR, 1962; BROADBENT, 1969; GRAHAM, 1990). No caso de porta-enxertos de citros, a tolerância foi definida, primeiramente, como a condição onde as plantas são infectadas, mas sofrem pouca ou nenhuma perda no volume final das raízes (GRAHAM, 1990). Posteriormente, tolerância foi definida como a capacidade de regeneração de raízes na presença do patógeno (GRAHAM, 1995). Essas definições foram baseadas principalmente na resposta do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* às infecções experimentais e em viveiros infectados, sendo classificado invariavelmente como resistente para infecção de tronco e tolerante para infecção de raízes. Muitos porta-enxertos são considerados resistentes à infecção de tronco como a laranja Azeda,

tangerina Cleópatra, citranges Troyer e Carrizo (TIMMER & MENGE, 1988; WHITESIDE, 1974), porém, em viveiros infestados ou quando os seedlings são inoculados para teste de tolerância à podridão das raízes, muitas dessas espécies exibem sérios problemas (SANDLER *et al.*, 1987). A laranja Azeda é considerada como resistente às infecções de tronco, porém para as infecções de raízes é classificada de moderadamente tolerante a intolerante (HUTCHISON & GRIMM, 1973; GRAHAM 1990, 1995; WIDMER *et al.*, 1998). O citrumelo Swingle e *C. macrophylla* são classificados como tolerantes, para as infecções de tronco e de raízes. O limão Cravo (*C. limonia*) é classificado como moderadamente suscetível, juntamente com a tangerina Sunki (*C. sunki*), tangerina Cleópatra (*C. reshni*), limão Volkameriano (*C. volkameriana*) e citranges Troyer e Carrizo (*Poncirus trifoliata* x *C. sinensis*), para as infecções de tronco. Outros porta-enxertos como o limão rugoso (*C. jambhiri*), pomelos (*C. paradisi*) e lima ácida (*C. aurantifolia*) apresentam alta suscetibilidade às infecções de tronco de *Phytophthora* (FEICHTENBERGER, 1996).

Das informações acima conclui-se que para o Brasil não existem muitas opções de porta-enxertos que sejam simultaneamente resistentes às infecções de tronco e tolerantes à infecção de raízes. Esse fato evidencia a necessidade de se desenvolverem novos porta-enxertos resistentes à *Phytophthora* e com outros atributos favoráveis para atender às contínuas demandas da citricultura brasileira.

Testes de resistência à *Phytophthora*

Os primeiros testes de resistência à *Phytophthora* em variedades de citros foram realizados por FAWCETT (1923), o qual estabeleceu a natureza parasítica do fungo. KLOTZ & FAWCETT (1930), utilizando o método de inoculação artificial do fungo no tronco e avaliação da área de lesão resultante, investigaram a resistência de espécies e variedades de *Citrus* e gêneros relacionados. Esse método foi posteriormente usado por outros pesquisadores (FAWCETT & BITANCOURT, 1940; ROSSETTI, 1947).

A importância da podridão das raízes foi estabelecida em 1942 por Fraser e em

1943 por Klotz & Sokoloff, citados por GRIMM & HUTCHISON, 1973.

KLOTZ e colaboradores (1958) desenvolveram a metodologia de inoculação de raízes através da imersão do sistema radicular por 18 a 20 horas em água aerada contendo propágulos de *Phytophthora* e também através de solos infestados com o fungo.

CARPENTER & FURR (1962), usando os dois métodos acima testaram 515 variedades e seleções de *Citrus* e gêneros relacionados para a tolerância à podridão das raízes causadas por *P. parasitica*. Em teste preliminar, os seedlings foram inoculados em água aerada com propágulos do fungo, e transferidos para canteiro. Os seedlings que sobreviveram foram plantados em turfa e vermiculita e reinoculados com o fungo, estabelecendo o grau de tolerância através dos sintomas da parte aérea, das raízes e através da porcentagem dos seedlings que sobreviveram.

GRIMM & HUTCHISON (1973), desenvolveram procedimento para a avaliação da tolerância de seedlings de citros à *Phytophthora parasitica*, baseada na severidade dos sintomas apresentados, após a inoculação de raízes e de caule. Os seedlings foram preliminarmente testados para a infecção de raízes em água aerada e aqueles identificados como mais resistentes foram então, plantados em uma mistura esterilizada de turfa, vermiculita e terra (3:1:1), e testados para a infecção de caule, fazendo-se um pequeno corte de V invertido, pouco acima do nível do solo, onde foi inoculado o fungo. O restante do inóculo foi diluído em água e utilizado para irrigar os seedlings. O processo de avaliação foi baseado em uma escala de notas variando de 1 a 5, de acordo com a severidade dos sintomas nas raízes e na lesões causadas no caule.

Outros pesquisadores fizeram testes em solos infestados usando diferentes estruturas do fungo como zoósporos e clamidósporos (CAMERON *et al.*, 1972; WHITESIDE, 1974).

SMITH, *et.al.*,(1987), fizeram testes para a avaliação da resistência à infecção de tronco em seedlings, plantados em solos esterilizados, utilizando método de inoculação de V invertido. Para a avaliação da resistência à infecção de tronco utilizaram uma padronização da área da lesão, provocada após a inoculação, devido às diferenças entre os diâmetros dos caules dos seedlings (porcentagem do caule afetada).

Concluíram que a lesão relativa ao diâmetro foi eficiente, principalmente para a determinação de níveis intermediários de tolerância.

GRAHAM, (1990, 1995), avaliou porta-enxertos em relação à tolerância à infecção da podridão das raízes, através da capacidade de regeneração das raízes na presença de populações de clamidósporo de *P. nicotianae*. Os seedlings foram plantados em uma mistura de terra, argila e areia, autoclavada por 6 horas. O processo de avaliação utilizado foi baseado em notas subjetivas e na quantidade de raízes que apresentavam tecidos externos da casca das raízes facilmente removíveis.

MATHERON *et al.*, (1998), fizeram testes de tolerância à podridão de raízes de tronco em mudas jovens causadas por *Phytophthora parasitica* e *citrophthora* para clones e híbridos por dois anos consecutivos. As raízes dos seedlings de vários clones e híbridos foram totalmente imersas em água destilada com esporângios e zoósporos do fungo, por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, os seedlings foram plantados em vermiculita e mantidos em câmara de incubação em casa de vegetação até a avaliação, a qual foi baseada na porcentagem de redução do peso fresco das raízes e da parte aérea. Para a avaliação da gomose, utilizaram a área de lesão provocada no caule seedlings, após a inoculação com micélio de fungo.

Classificações conflitantes com respeito à resistência ou tolerância à *Phytophthora* de alguns porta-enxertos foram relatadas nesses trabalhos. É o caso da laranja Azeda (*C. aurantium*), do citrange Carrizo (*Poncirus trifoliata* x *Citrus sinensis*) e da tangerina Cleópatra (*C. reshni*) que foram classificados desde suscetíveis a altamente tolerantes. Essas contradições têm como possível causa o fato de que esses testes de resistência ou tolerância se referirem a doenças diferentes e nem sempre existirem correlações entre elas (CARPENTER & FURR, 1962). Outro fator que pode contribuir para variações nas respostas é a utilização de diferentes espécies do fungo nos testes. A resposta à resistência do porta-enxerto a uma espécie de *Phytophthora* não deve necessariamente ser a mesma para outras espécies (MATHERON *et al.*, 1998). É necessário considerar ainda que o desenvolvimento das infecções pode ser influenciado por outras variáveis como idade, estado nutricional, vigor, o que poderia,

através de interações complexas, modificar a resposta dos diferentes porta-enxertos. Desta forma, seria recomendável se conhecer a resistência ou tolerância dos porta-enxertos com respeito às duas doenças, à infecção de tronco e à podridão das raízes.

Fatores que afetam o desenvolvimento da gomose e da podridão das raízes

Como já mencionado anteriormente, o desenvolvimento da gomose e da podridão das raízes é influenciado por algumas variáveis além da resistência dos porta-enxertos. Estas variáveis podem estar relacionadas tanto com o porta-enxerto quanto com o patógeno.

Do ponto de vista do patógeno, vários são os fatores químicos e físicos capazes de influenciar o desenvolvimento da doença. Fatores químicos como a fertilidade, salinidade, disponibilidade de nutrientes e pH do solo, variam consideravelmente em seus efeitos, inibindo ou favorecendo o desenvolvimento das diversas estruturas do fungo (SCHMITTHENNER & CANADAY, 1983; TSAO & OSTER, 1981; TIMMER *et al.*, 1989). Dos fatores físicos que afetam o desenvolvimento da doença, os que estão relacionados com as condições climáticas têm recebido especial atenção.

Para algumas espécies de *Phytophthora*, as condições climáticas determinam a distribuição geográfica da doença, como é observado, por exemplo, em *P. cinnamomi*, que em climas frios tem uma atividade patogênica restrita. Muitos autores têm demonstrado a influência das condições climáticas, principalmente da umidade e temperatura nos níveis de infecção. Umidade do solo é considerada como a condição fundamental para a manifestação das várias doenças induzidas por *Phytophthora* (STOLZY *et al.*, 1960; KLOTZ *et al.*, 1971; WHITESIDE, 1970; TIMMER & MENGE, 1988). O próprio ciclo de vida da *Phytophthora* requer, para ser completado, uma flutuação na umidade do solo. A temperatura do solo também interfere diretamente na doença, devido à grande influência que exerce no desenvolvimento das estruturas do fungo e na atividade das mesmas.

Os fatores que afetam o estado fisiológico da planta, como a superfície total da

área foliar, idade das plantas, vigor e combinação porta-enxerto/copa podem também influenciar no desenvolvimento da doença (ROSSETTI, 1947a; ROSSETTI & BITANCOURT, 1951; CARPENTER & FURR, 1962; GRIMM & HUTCHISON, 1973; SMITH *et al.*, 1987; MATHERON *et al.*, 1998). No caso de infecções de raízes, variações no nível de tolerância têm sido observadas conforme a idade das plantas. As mais novas estariam mais sujeitas à infecção do que as mais velhas. Esta diferença pode estar relacionada com uma maior concentração de fitoalexinas encontradas nas raízes de seedlings mais velhos (GRAHAM, 1990).

De acordo com ROSSETTI & BITANCOURT, (1951), o vigor vegetativo e o nível de nutrição da planta parecem relacionados com o nível de resposta à infecção. Plantas podadas, com pouca superfície foliar tendem a desenvolver lesões menores que plantas com intensas brotações novas. Também diferentes combinações de porta-enxerto/copa resultam em fonte de variação na resposta do porta-enxerto à infecção do fungo (ROSSETTI & BITANCOURT, 1951; CARPENTER & FURR, 1962; ROSSETTI & MUSUMECI, 1962; FEICHTENBERGER, *et al.*, 1975 a; ROSSETTI *et al.*, 1975; FEICHTENBERGER, *et al.*, 1975 b). Interferência de outras doenças também podem acarretar variações nas respostas do porta-enxerto à infecção, como no caso de plantas afetadas pelo viróide da exocorte, que reduz o porte e o vigor das plantas, e essas plantas são menos afetadas pela *Phytophthora* (ROSSETTI *et al.*, 1982)

Considerando a influência de vários fatores nas reações à *Phytophthora*, é importante considerar a análise conjunta do maior número possível deles que possam influenciar a atividade do patógeno e do hospedeiro quando se tem em vista uma classificação do grau de resistência ou tolerância.

Mecanismos de resistência

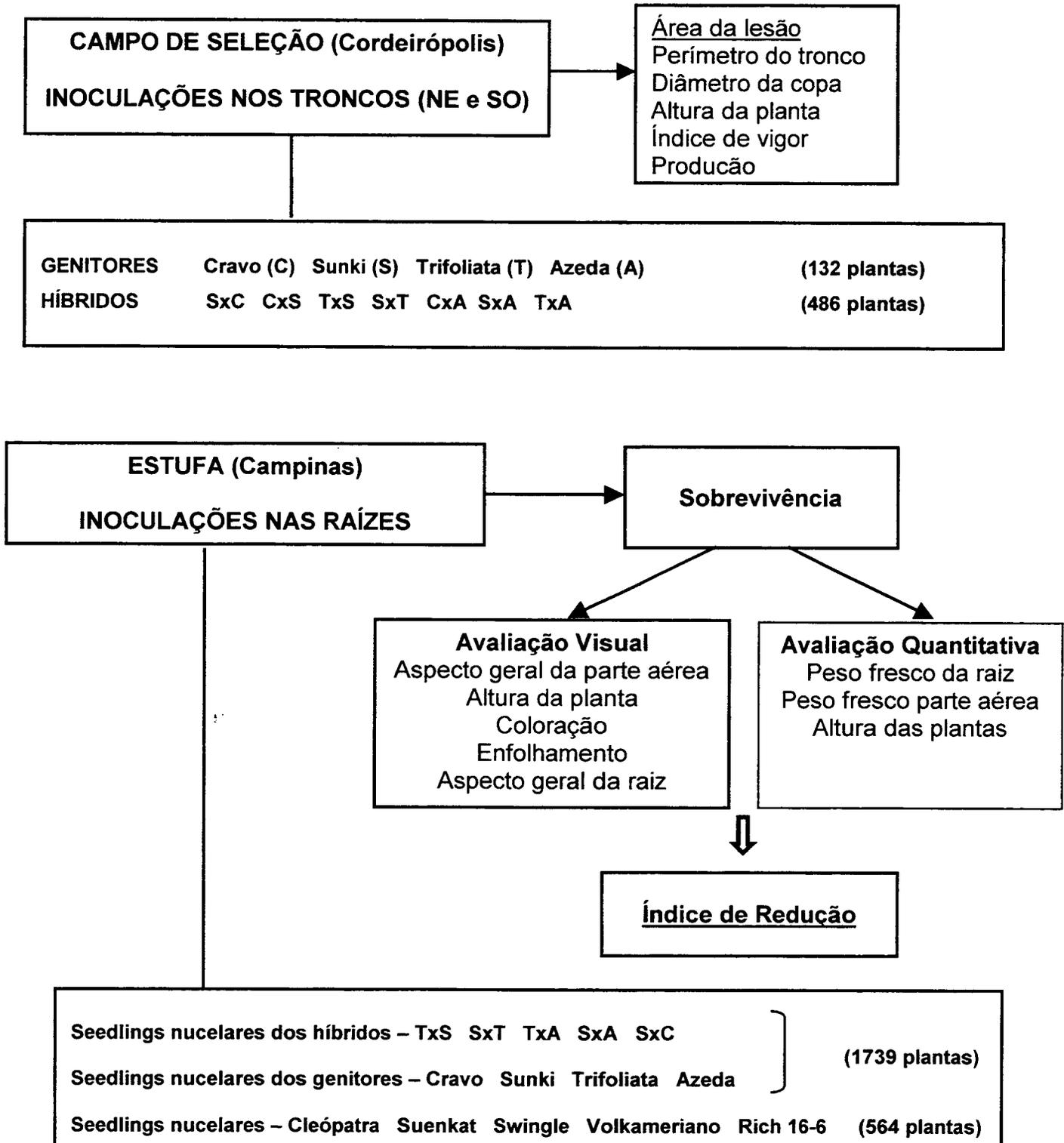
Os mecanismos de resistência dos citros às infecções de *Phytophthora* não estão ainda totalmente esclarecidos, mas é possível que vários deles estejam envolvidos, devido às grandes diferenças observadas no tipo de

resposta às infecções em função do tipo e idade do tecido infectado (FEICHTENBERGER, 1996). As fitoalexinas estão relacionadas com a expressão da resistência às infecções dos fungos de *Phytophthora*, na maioria dos hospedeiros estudados. Essas fitoalexinas geralmente não estão presentes em quantidades significantes em tecidos normais das plantas, mas são formadas em resposta às inoculações com o patógeno. Em citros, a fitoalexina relacionada à resistência é a escoparone (6,7-dimetoxicomarin) (AFEK *et.al.*1986; AFEK & SZTEJNBERG, 1988, 1989; SULISTYOWATI & KEANE, 1992).

Estudos histológicos de raízes infectadas mostram uma menor colonização inter e intracelular em tecidos de porta-enxertos tolerantes que nos intolerantes, sugerindo que o fator de tolerância presente nestas plantas atue na inibição do crescimento de *Phytophthora* (WIDMER *et al.*,1998).

MATERIAL E MÉTODOS

Esquemática e resumidamente são indicados abaixo os diversos materiais, as metodologias e as avaliações realizadas neste trabalho.



Resistência à infecção de tronco ou “gomose de *Phytophthora*”

A avaliação da resistência à gomose de *Phytophthora* foi realizada em plantas de 4 anos de limão Cravo, tangerina Sunki, laranja Azeda, *Poncirus trifoliata* e híbridos entre eles, em um campo de seleção. Foram feitas duas inoculações de *Phytophthora parasitica* no tronco de cada planta. Devido à alta heterozigozidade dos clones, esses híbridos representam, cada um, uma combinação genética diferente. Por outro lado, as plantas dos genitores são constituídas de clones nucelares portanto, geneticamente iguais.

Material Vegetal. Essas plantas pertencem a um campo de observação e seleção de porta-enxertos híbridos do Programa de Melhoramento Genético do Instituto Agrônomo de Campinas, instalado no Centro de Citricultura "Sylvio Moreira" em Cordeirópolis. Foram investigados os híbridos *Poncirus trifoliata* x tangerina Sunki (*C. sunki*) e seus recíprocos, *Poncirus trifoliata* x laranja Azeda (*C. aurantium*), limão Cravo (*C. limonia*) x tangerina Sunki e seus recíprocos, tangerina Sunki x laranja Azeda e limão Cravo x laranja Azeda, como também, clones nucelares dos respectivos genitores: limão Cravo, tangerina Sunki, laranja Azeda e *Poncirus trifoliata*. Todos os híbridos e clones nucelares haviam sido previamente identificados por eletroforese de isoenzimas (BALLVÉ *et al.*, 1995) e enxertadas com laranja Valência (*C. sinensis*) por BORDIGNON (2000). O número de plantas testadas de cada clone e de cada híbrido se encontra na Tabela 1.

Tabela 1. Número de plantas testadas para resistência à infecção de tronco de *P. parasitica* em clones nucelares e híbridos entre eles.

Porta-enxertos	Plantas (n.º)
Clones	
limão Cravo Limeira (<i>C. limonia</i>)	46
trifoliata Davis A (<i>Poncirus trifoliata</i>)	31
tangerina Sunki 200 (<i>C. Sunki</i>)	46
laranja Azeda São Paulo(<i>C. aurantium</i>)	8
Total	132
Híbridos	
limão Cravo x laranja Azeda	41
tangerina Sunki x laranja Azeda	90
tangerina Sunki x limão Cravo	200
limão Cravo x tangerina Sunki	27
tangerina Sunki x <i>Poncirus trifoliata</i>	56
<i>Poncirus trifoliata</i> x tangerina Sunki	19
<i>Poncirus trifoliata</i> x laranja Azeda	53
Total	486
TOTAL	618

Produção dos inóculos e inoculação das plantas. Utilizou-se como fonte de inóculo o isolado de *Phytophthora parasitica* de número LRS 30/98 do Laboratório de Sanidade Animal e Vegetal de Sorocaba, do Instituto Biológico produzido pelo pesquisador Eduardo Feichtenberger da Seção de Fitopatologia do Instituto Biológico utilizando o procedimento de KAOSIRI *et al.*, (1998). O micélio fúngico foi obtido da margem de colônias de seis dias de idade, desenvolvidas a 24°C no escuro, em meio de cultura cenoura-agar (CA) e crescido em placas de *Petri*.

O método utilizado para a inoculação, mostrado na Figura 1,. é descrito por ROSSETTI (1947a) e segue os seguintes procedimentos:

Desinfetou-se com álcool a superfície da região do tronco a ser inoculada (Figura

1a), fez-se uma incisão na casca com o furador de rolhas, retirando-se um disco de cinco milímetros de diâmetro, expondo assim a zona cambial da planta (Figura 1b). Introduziu-se então um disco de igual diâmetro do inóculo da *Phytophthora*, retirado da placa de *Petri* (Figuras 1c e 1d), recolocando-se o mesmo disco da casca anteriormente retirado (Figuras 1e e 1f), protegendo-se a inoculação com esparadrapo. Após essa operação, com o intuito de evitar a dessecação e uniformizar o microambiente do tronco inoculado em todas as plantas, enrolou-se firmemente dois sacos de papel Kraft de 26,5 cm de largura de tal forma que a região inoculada e todo o perímetro do tronco ficasse protegido por 8 à 10 folhas de papel as quais foram então grampeadas ao tronco (Figura 1g).

Em cada planta foram feitas duas inoculações, sempre nas posições NE e SO, na altura mediana do porta-enxerto, a aproximadamente 10 cm do solo. A temperatura média ambiente em abrigo meteorológico instalado próximo ao campo variou, entre a avaliação e a inoculação, de 8,4°C à 31,4° C e a umidade relativa média diária de 65,8% a 66,7%. As lesões decorrentes foram avaliadas após 22 dias da inoculação, medindo-se o comprimento (c) e largura (l) da área lesionada após a remoção da casca do tronco próxima a inoculação, expondo-se totalmente a lesão desenvolvida. Para o cálculo da área lesionada pela *Phytophthora parasitica*, considerou-se a área da elipse ($\pi \times c/2 \times l/2$) por representar melhor que a retangular, a forma irregular das lesões.

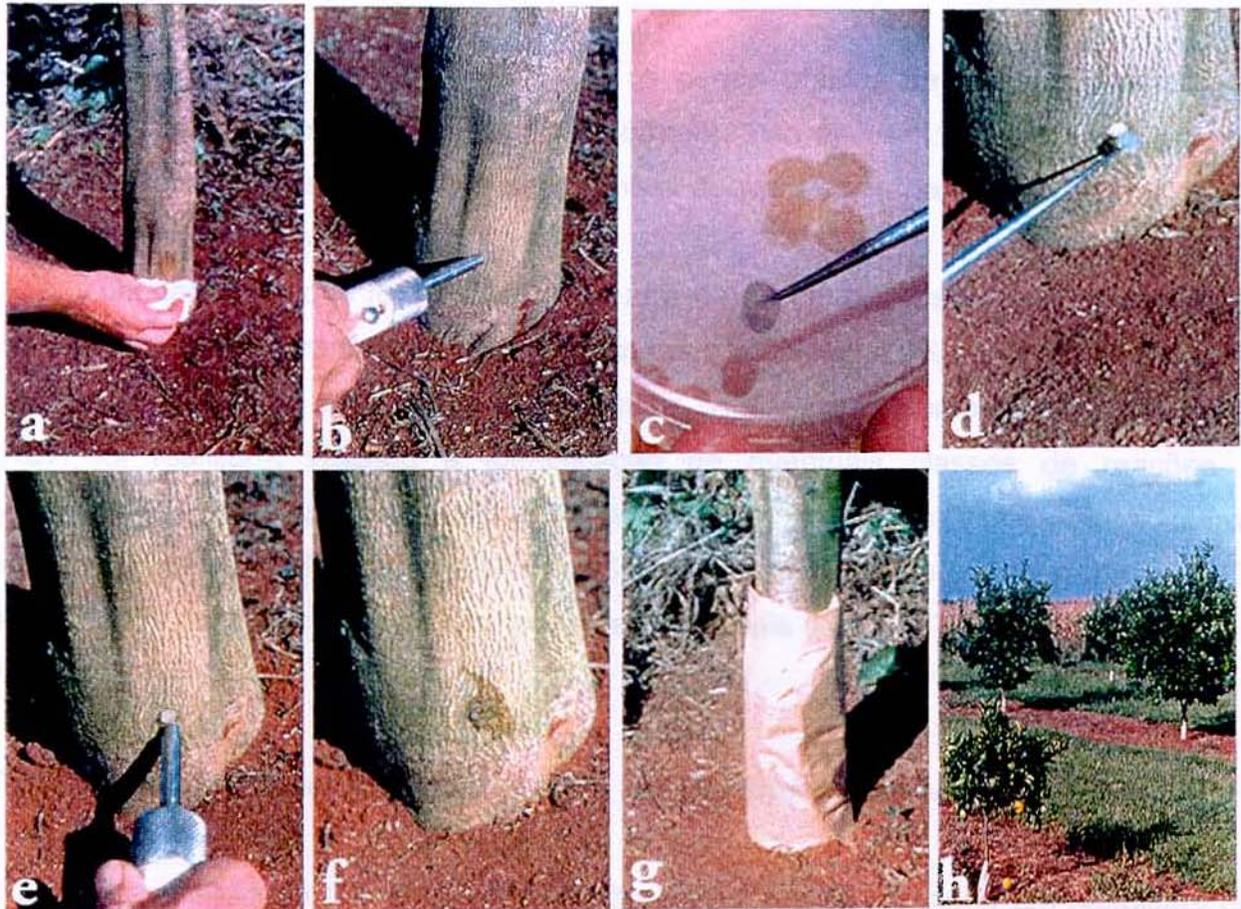


Figura 1. Inoculação de *Phytophthora parasitica* em tronco de clones e híbridos de porta-enxertos de citros. a) limpeza e desinfecção do tronco; b) incisão e remoção do disco da casca; c e d) inoculação de micélio; e) colocação do mesmo disco da casca; g) proteção da inoculação com sacos de papel e h) campo inoculado.

A fim de investigar possíveis correlações entre a área lesionada pela *Phytophthora*, o estado vegetativo e a produção de frutos pendente na planta, avaliou-se o vigor [diâmetro médio da copa (cm) + altura da planta (cm) + 10 x diâmetro tronco (cm)/100]. Como nesse campo as plantas enxertadas em laranja Azeda (*C. aurantium*) se encontram em um estado vegetativo muito reduzido devido à tristeza, esse estudo foi, com a mesma metodologia, repetido em um lote de 22 plantas de laranja Azeda de grande vigor vegetativo por serem de pé franco, instaladas no Núcleo Experimental do

Instituto Agronômico Campinas. Embora os dados obtidos das inoculações dessas plantas não tenham sido utilizados posteriormente nas análises, serviram, no entanto, como dados suplementares para aferir o nível de resistência da laranja Azeda, obtido no campo de híbridos.

Os dados obtidos foram analisados através de uma análise de variância, sendo as médias dos tratamentos, comparada pelo teste de Tukey à 5% de significância. Uma análise multivariada dos dados experimentais, Análise em Componentes Principais-ACP foi realizada visando a identificação de eventuais classes de reações à *Phytophthora parasitica*, considerando a extensão da lesão associada a outros caracteres de vigor. Para as análises estatísticas foram utilizados os programas EXCEL e ORIGIN e para a Análise em Componentes Principais o STATITCF.

Tolerância à infecção de raízes causada por *Phytophthora parasitica*

A avaliação da tolerância à podridão das raízes foi realizada em seedlings de vários clones e de algumas progênes clonais dos híbridos entre limão Cravo, tangerina Sunki, laranja Azeda e *Poncirus trifoliata*. Estes estudos foram feitos em estufa, com as plantas mantidas em substrato de argila expandida onde se procedeu à inoculação com uma suspensão de várias estruturas de *Phytophthora parasitica*.

Material vegetal: Foram testadas progênes de clones nucelares de limão Cravo (*C.limonia*), laranja Azeda (*C.aurantium*), tangerina Sunki (*C. sunki*), trifoliata Davis A (*Poncirus trifoliata*), e algumas progênes clonais dos híbridos entre eles. Além desses foram estudadas progênes dos clones trifoliata Rich16-6 (*Poncirus trifoliata*), limão Volkameriano (*C.volkameriana*), tangerina Cleópatra (*C. resnhi*) e citrumelo Swingle (*P. trifoliata* x *C. paradisi*).

Após a remoção das sementes dos frutos, procedeu-se à semeadura em caixas de isopor contendo o substrato Plantmax (Eucatex), as quais foram mantidas em casa

de vegetação. Seedlings de 6 ou 12 meses tiveram as raízes podadas uniformemente a 10 cm do colo e foram então transplantados para sacos de polietileno de 13 cm de diâmetro e 22 cm de altura, contendo argila expandida nº 0500 (Cinasita), um material inerte e estéril. Após o transplante os seedlings foram semanalmente irrigados com 90 g em 100 litros de água da formulação 7-11-27 de Nitrogênio, Fósforo e Potássio, suplementada com micronutrientes e adicionalmente pulverizados com solução contendo 4g de nitrocálcio por litro de água.

As plantas de cada progênie a serem inoculadas, foram separadas em pares por similaridade de tamanho, vigor e estado vegetativo geral, sendo uma inoculada e a outra do par, mantida como controle, sem inoculação, nas mesmas condições. Todas as plantas foram colocadas em bancadas de 0,90 x 1,70 m, com 250 plantas por bancada. No total, as plantas ocuparam 10 bancadas sendo cinco inoculadas e cinco controles e foram irrigadas duas vezes ao dia até a véspera da inoculação.

A identificação das progênies dos híbridos e o respectivo número de plantas testadas se encontram na Tabela 2.

Tabela 2. Número de seedlings de porta-enxertos de clones nucleares e progênes clonais dos híbridos testados para tolerância à infecção de raízes de *P. parasitica*.

Porta-enxertos	Identificação	Seedlings (nº)
Clones		
limão Cravo (<i>C. limonia</i>)	Limeira	110
trifoliata (<i>Poncirus trifoliata</i>)	Davis A	28
trifoliata (<i>Poncirus trifoliata</i>)	Rich 16-6	39
tangerina Sunki (<i>C. sunki</i>)	200	197
citrumelo (<i>P. trifoliata</i> x <i>C. paradisi</i>)	Swingle	36
tangerina Cleópatra (<i>C. resnhi</i>)	Cleópatra	36
tangerina Suenkat (<i>C. Suenkat</i>)	201	27
limão Volkameriano (<i>C. volkameriana</i>)	Volkameriano	29
laranja Azeda (<i>C. aurantium</i>)	São Paulo	62
Híbridos		
<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. Sunki</i>	1774	10
	2245	13
	2244	16
	2237	6
	1777	75
	1769	94
	2197	100
	1843	64
	1842	22
	2202	24
<i>Poncirus trifoliata</i> x laranja Azeda	1775	31
	2144	5
	2259	25
tangerina Sunki x limão Cravo	1889	10
	3793	18
	3598	66
	3798	11
	3628	44
	3980	23
	3807	60
tangerina Sunki x <i>P. trifoliata</i>	3978	130
	2911	64
	3296	75
	3502	167
	3501	164
	3448	15
	3449	32
tangerina Sunki x laranja Azeda	2923	67
	3733	20
	3392	76
	3711	25
	3705	50
	3904	45
	3718	19
	3754	56
3384	13	
	3771	4
TOTAL		2303

Produção dos inóculos e inoculação dos seedlings

Utilizou-se na infestação do substrato de argila expandida o mesmo isolado LRS 30/98 da inoculação de tronco, preparado pela Seção de Fitopatologia do Instituto Biológico de Sorocaba, conforme descrição que se segue. Discos de micélio com 5mm de diâmetro foram retirados das bordas das placas de cultura do fungo de cinco dias de idade desenvolvidas em meio de cultura cenoura-agar (CA) e transferidos para 300 placas contendo 15ml do meio CA. As placas foram então mantidas a 24°C, no escuro, durante seis dias, até o micélio do fungo colonizar toda a superfície do meio. Cento e cinquenta dessas placas foram em seguida mantidas sob luz fluorescente contínua, durante cinco dias, para promover o desenvolvimento de outras estruturas do fungo como zoósporos e esporângios, enquanto que as demais continuaram mantidas no escuro, à mesma temperatura (24°C). Todas as placas foram mantidas por três dias no escuro antes da inoculação.

O método de inoculação está representado na Figura 2. O inóculo contido nas 150 placas de micélio foi adicionado ao inóculo das 150 placas das outras estruturas. O conteúdo das placas foi batido no liquidificador por 1 minuto (Figura 2 a), diluindo-se essa suspensão com água destilada, até completar o volume de 60 litros (Figura 2 b). As plantas do primeiro lote receberam cada uma 50 ml dessa suspensão, volume previamente determinado, suficiente para molhar totalmente as raízes e o substrato de argila expandida, vazando um pequeno excesso pelo fundo de cada saquinho.

A temperatura e a umidade ambiente (Figura 2 d) foram controladas. A temperatura do substrato foi registrada através de termógrafo com sensor metálico, inserido a aproximadamente 10 cm de profundidade (Figura 2 e).



Figura 2. Inoculação de *Phytophthora parasitica* em seedlings de clones e híbridos de porta-enxertos de citros. a) preparo da suspensão; b) seedlings nas bancadas em casa de vegetação; c) inoculação das plantas com suspensão de *Phytophthora parasitica*; d) registro de temperatura e umidade; e) sensor metálico para medir a temperatura do substrato; f) seedlings aos pares (inoculados e não inoculados) fora da casa de vegetação para a avaliação.

Após a inoculação, todas as bancadas da casa de vegetação foram cobertas (Figura 3) com uma proteção única de plástico, para evitar a transpiração excessiva e a necessidade de regas freqüentes e mantidas dessa forma por 60 dias. Nesse período a temperatura variou de 13,8°C à 29,0°C no substrato dentro dos saquinhos (raízes) e de 11,0°C a 31,4°C no ambiente.



Figura 3. Bancadas contendo os seedlings inoculados e não inoculados protegidos com cobertura plástica para evitar a dessecação.

As avaliações foram feitas 120 dias após as inoculações, período durante o qual algumas plantas foram inspecionadas para se acompanhar a evolução da infecção e determinar a melhor ocasião para realizar a avaliação das raízes. Semanalmente anotou-se o número de plantas mortas em cada progênie inoculada e no controle correspondente. Para o processo de avaliação, as plantas foram rearranjadas fora da casa de vegetação, de maneira que ficassem lado a lado, aos pares, as inoculadas e

não inoculadas da mesma progênie (Figura 2 f), com a finalidade de permitir uma comparação visual criteriosa em cada material genético estudado.

A reação das progênies à *Phytophthora* foi avaliada por três critérios: sobrevivência dos seedlings, redução visual (notas) e redução quantitativa (medidas e pesagens), tanto para a parte aérea como para as raízes, dos seedlings sobreviventes.

A parte aérea das plantas foi avaliada visualmente em cada progênie através de notas subjetivas de 1 a 5 (1=altamente tolerante à 5=altamente intolerante), comparativa aos controles não inoculados de cada material. Atribuíram-se separadamente notas de 1 a 5 para o aspecto geral das raízes (AGR), aspecto geral da parte aérea (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração das folhas (COL) e altura dos seedlings (ALT). Cada variável foi avaliada, em todas progênies independentemente por cinco avaliadores, sempre comparando-se as plantas inoculadas com os respectivos controles não inoculados.

O peso fresco da raiz (PFR) e da parte aérea (PFPA) foi obtido logo após a avaliação visual. A seguir determinou-se o diâmetro do caule (DIAM), com paquímetro digital, e a altura das plantas (ALT), com régua milimetrada.

A análise de variância e a comparação de médias pelo teste Tukey à 5%, foi realizada através do programa ORIGIN, realizando-se também uma análise multivariada através do programa STATITCF.

Com as avaliações acima se estabeleceu um índice de redução (IR) devido à podridão de raízes e radículas causadas por *P. parasitica*, para os diversos clones e progênies nucelares dos híbridos estudados.

Índice de redução devido à infecção de raízes por *Phytophthora parasitica*

O Índice final de Redução (IR) devido à infecção foi obtido através da multiplicação da taxa de sobrevivência da progênie inoculada, pelas taxas de redução das características quantitativas e visuais avaliadas nos seedlings que sobreviveram.

$$IR= 1+[Taxa sobrevivência \times (Redução_{QUANT} + Redução_{VISUAL} - 1)]$$

Como o sintoma mais drástico da doença é, sem dúvida alguma, a morte da planta, a taxa comparativa de sobrevivência foi o primeiro critério a ser utilizado na composição do Índice de Redução (IR). Dessa forma considerou-se igual a 1 a sobrevivência do controle não inoculado.

A taxa de redução foi calculada baseada nos dois critérios utilizados na avaliação, quantitativo e visual, cada um contribuindo com metade da porcentagem final de redução. Dentro de cada critério, a porcentagem de redução foi obtida através da média ponderada dos diversos parâmetros avaliados, atribuindo-se a eles pesos diferentes. Dessa forma na avaliação quantitativa, os pesos atribuídos foram 70% para o parâmetro peso fresco da raiz (PFR), e 30% para os demais parâmetros avaliados, sendo 10% para PFPA, 10% para DC e 10% para ALT. Portanto a redução devido aos critérios quantitativos pode ser expressa como:

$$\text{Redução}_{\text{Quant.}} = 0,35 \times R_{\text{PFR}} + 0,05 (R_{\text{PFPA}} + R_{\text{DC}} + R_{\text{ALT}})$$

Igualmente, na avaliação visual foi atribuído um peso de 70% para aspecto geral das raízes (AGR) e 30% para os outros parâmetros avaliados sendo 7,5% para AGPA, 7,5% para ENF, 7,5% para COL e 7,5% para ALT. Portanto, a redução avaliada visualmente pode ser expressa por:

$$\text{Redução}_{\text{visual}} = 0,35 \times R_{\text{AGR}} + 0,0375 (R_{\text{AGPA}} + R_{\text{ENF}} + R_{\text{COL}} + R_{\text{AL}})$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resistência à infecção de tronco ou “gomose de *Phytophthora*”

A avaliação da resistência à infecção de tronco de *Phytophthora parasitica*, foi feita através da área da lesão provocada pelo fungo após inoculação dupla (NE e SO) no tronco das plantas. Não houve diferença significativa através de teste F, à 5% entre as posições de inoculação (NE e SO) no desenvolvimento das lesões. Portanto, para as análises e considerações subseqüentes foi utilizada a lesão média desenvolvida pela planta.

Na Tabela 3, são mostradas as médias e na Figura 4 a variação observada nas das áreas das lesões desenvolvidas nos clones genitores e nos híbridos. As médias foram comparadas através do teste de Tukey à 5% de significância.

Tabela 3. Lesão média em troncos em porta-enxertos de clones e híbridos inoculados com micélio de *Phytophthora parasitica*.

Porta-enxertos	Lesão (cm ²)
Clones	
tangerina Sunki	5,47 a
limão Cravo	4,58 a
Trifoliata Davis A	2,05 b
laranja Azeda (Cordeirópolis)	0,87 c
laranja Azeda (Núcleo Exp. Camp.)	2,57
Híbridos	
Cravo x Sunki	5,81 a
Sunki x Cravo	4,67 a
Cravo x Azeda	4,13 a
Sunki x Azeda	4,10 a
Trifoliata x Azeda	2,96 b
Sunki x Trifoliata	2,46 b
Trifoliata x Sunki	2,36 b

a, b, c médias seguidas por letras iguais não são diferentes segundo teste de Tukey à 5%.

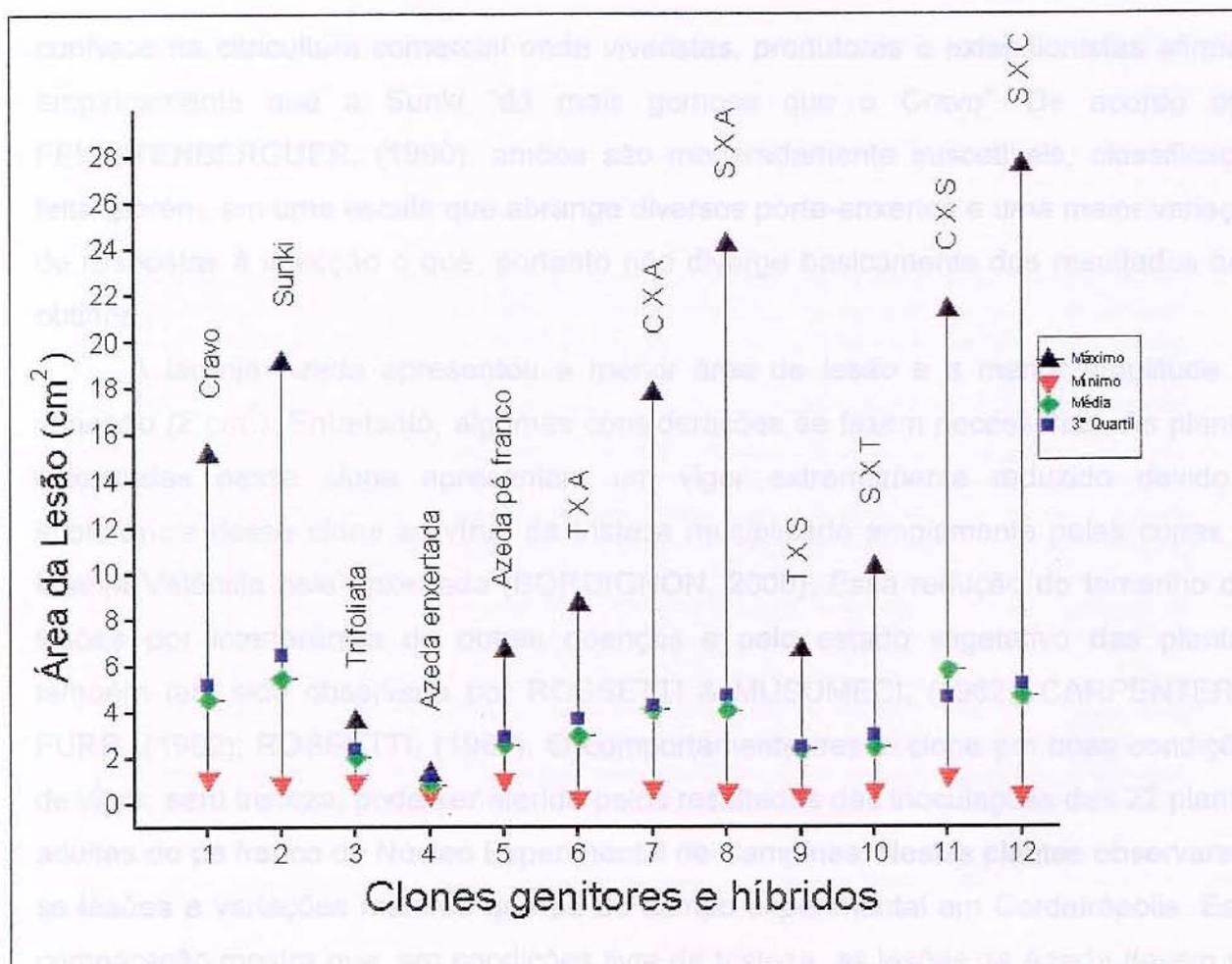


Figura 4. Área das lesões desenvolvidas após inoculação de *Phytophthora parasitica* no tronco dos genitores e dos híbridos.

Com respeito aos clones, os resultados obtidos mostraram que Trifoliata e Azeda desenvolveram lesões menores que os da tangerina Sunki ou limão Cravo. A Sunki embora não diferindo estatisticamente do Cravo mostrou, entretanto, uma tendência para o desenvolvimento de lesões maiores como pode ser observado na Figura 4, com médias e amplitudes de variação maiores que a Sunki. De outra forma, essa mesma tendência pode ser verificada ao se analisar os valores limites dos terceiro quartil de ambos. Enquanto que no Cravo esse valor é de 5,5 cm² de lesão, na Sunki ele se eleva a 6,5 cm². Essas diferenças, embora não muito grandes, vêm corroborar o que se

conhece na citricultura comercial onde viveristas, produtores e extensionistas afirmam empiricamente que a Sunki “dá mais gomose que o Cravo”. De acordo com FEICHTENBERGUER, (1990), ambos são moderadamente suscetíveis, classificação feita ,porém, em uma escala que abrange diversos porta-enxertos e uma maior variação de respostas à infecção o que, portanto não diverge basicamente dos resultados aqui obtidos.

A laranja Azeda apresentou a menor área de lesão e a menor amplitude de variação (2 cm²). Entretanto, algumas considerações se fazem necessárias. As plantas enxertadas nesse clone apresentam um vigor extremamente reduzido devido à intolerância desse clone ao vírus da tristeza multiplicado amplamente pelas copas de laranja Valência nele enxertada (BORDIGNON, 2000). Essa redução do tamanho das lesões por interferência de outras doenças e pelo estado vegetativo das plantas, também tem sido observada por ROSSETTI & MUSUMECI, (1962); CARPENTER & FURR, (1962); ROSSETTI, (1969). O comportamento desse clone em boas condições de vigor, sem tristeza, pode ser aferido pelos resultados das inoculações das 22 plantas adultas de pé franco do Núcleo Experimental de Campinas. Nestas plantas observaram-se lesões e variações maiores que as do campo experimental em Cordeirópolis. Essa comparação mostra que, em condições livre de tristeza, as lesões da Azeda devem ser maiores que aquelas que se desenvolvem no Trifoliata e também parecem indicar que o seu nível de resistência é maior que o do Cravo. Esse resultado vem corroborar a idéia corrente de que, após 1940, com a substituição da laranja Azeda pelo limão Cravo, aumentaram os casos de perda de plantas por gomose de tronco nos pomares, pelo fato do Cravo ser supostamente mais suscetível que a Azeda.

É notória entre os clones (Figura 4), a superioridade do Trifoliata que se expressa por uma reduzida área de lesões e por uma reduzida amplitude de variação, na qual o limite do terceiro quartil é 2,6 cm² e a lesão máxima, 3,6 cm². Os Trifoliatas são conhecidos como porta-enxertos resistentes à gomose, o que se confirma plenamente com os resultados do presente trabalho.

Os híbridos, entre Sunki, Cravo e Azeda apresentaram as maiores médias de área de lesão e também uma grande amplitude de variação (Figura 5), exceto aqueles

em que um dos genitores é o Trifoliata. Nesses últimos casos, não somente são menores as médias, como também são visivelmente menores as amplitudes de variação dos terceiros quartis, o que dá uma idéia clara da tendência de distribuição dos valores observados.



Figura 5. Lesões de diferentes tamanhos observados nos híbridos.

Considerável variação no tamanho das lesões também foi observada por outros pesquisadores (CARPENTER & FURR, 1962, MATHERON, *et al.*, 1998), razão pela qual sugerem que na análise das lesões produzidas sejam consideradas as condições fisiológicas das plantas, como o vigor e a interferência de outras doenças. No presente caso, o qual estão envolvidos grande número de híbridos com combinações genéticas diversas, é bem plausível considerar possível que as plantas apresentem, além de uma constituição genética diferente com respeito a resistência à *Phytophthora*, também diferenças quanto à outros fatores fisiológicos, que poderiam influir no crescimento do fungo nos tecidos das plantas. Esses híbridos, conforme relatado por BORDIGNON, (2000), apresentam uma enorme variação quanto ao vigor, produção total em três colheitas, início de produção, produtividade por m² de projeção da copa, enfolhamento,

tamanho do fruto, brix e acidez do suco, entre outras características, além de um grau variável de tolerância à tristeza, principalmente entre os híbridos de Azeda e Trifoliata.

É interessante salientar, que no geral, os híbridos apresentaram uma amplitude de variação bem maior que os genitores. Isso indica que nessa variação total dos híbridos existe um considerável componente genético. Isso sendo verdadeiro, seria possível conjecturar que alguns dos híbridos entre Sunki e Cravo, com lesões pequenas tenham geneticamente um maior nível de resistência que ambos os genitores. Embora desejável, parece improvável essa perspectiva, a julgar pela performance geral dos genitores e desses híbridos, os quais tendem a ter lesões grandes. Como, no entanto os híbridos de Sunki e Cravo com Trifoliata têm em média lesões muito menores, com menores variações que as observadas em CxS ou SxC seria então muito mais provável encontrarem-se híbridos mais resistentes que Sunki ou que Cravo entre seus híbridos com Trifoliata. Somente testes futuros com progênies clonais desses híbridos CxS e SxC, trarão informações seguras sobre essa questão.

Entretanto, é importante salientar que os híbridos de Trifoliata tiveram lesões bem inferiores aos híbridos que não são provenientes deste clone, evidenciando que o Trifoliata transmite à maioria de seus híbridos pelo menos um considerável grau de resistência à gomose de tronco. Esse fato é extremamente interessante e tem importantes implicações no melhoramento e seleção de porta-enxertos em geral e principalmente no prosseguimento das seleções desses híbridos.

Entre os híbridos de Azeda, CxA e SxA mostraram comportamento semelhante, com tendência a terem grandes lesões. Esses, porém foram aparentemente diferentes dos híbridos entre TxA, os quais têm lesões menores. Entretanto, comparativamente ao Trifoliata ou a própria Azeda, esses híbridos desenvolveram também lesões grandes. Isso parece indicar que a resistência da laranja Azeda parece não ser transmitida a seus híbridos. As lesões menores dos híbridos TxA são devidas ao Trifoliata, da mesma forma que os híbridos de TxS e SxT. É interessante analisarem-se esses resultados observados nos híbridos de Azeda. Parece claro que os híbridos de Azeda (CxA, SxA, TxA) têm uma tendência clara, evidenciada pela amplitude do terceiro quartil, em produzir híbridos com lesões grandes.

O nível de resistência dos clones Trifoliata, Cravo, Sunki e Azeda e dos híbridos entre esses clones representados por plantas de quatro anos de idade em condições de campo foi também estudado através de uma Análise em Componentes Principais (ACP). Essa análise possibilitou caracterizar a resposta dos clones e híbridos, levando em consideração as possíveis interferências de outras características das plantas consideradas na ACP como variáveis. Nas análises realizadas, a reação de cada indivíduo F_1 pode ser comparada à apresentada pelos genitores.

Os eixos principais da ACP foram calculados a partir das variáveis, perímetro do tronco (PT), altura da planta (ALT), diâmetro da copa (DCP), índice de vigor (IV) e produção pendente (PD). Deve-se salientar que apenas a variável produção pendente (PD) não apresentou correlação com a área da lesão (AL) desenvolvida na planta, por isso não foi considerada nas análises subsequentes.

De maneira geral, a variabilidade total representada em cada uma das figuras (Figura 6, Figura 7 A à G) foi superior a 90%, com exceção referente aos híbridos de Sunki x Cravo e recíprocos que apresentaram respectivamente 77% e 76,5%. O eixo 1, explicado pelas variáveis PT, ALT, DCP e IV poderia ser denominado eixo do vigor vegetativo e o eixo 2, explicado pela variável AL, seria o eixo da reação à *Phytophthora* expresso pela característica área da lesão. Assim, no eixo 1 a direção do vetor IV indica o grau crescente de vigor das plantas analisadas e, no eixo 2, quanto mais abaixo, menor a área da lesão desenvolvida e maior a possibilidade de um nível de resistência superior.

Para os clones, a dispersão dos indivíduos sugere a existência de três grupos distintos, mostrados na Figura 6, separados pelo vigor vegetativo das plantas e nível de resistência, representados nos eixos 1 e 2 respectivamente.

O primeiro grupo, representado pela laranja Azeda, apresenta reduzido vigor vegetativo e pequena área de lesão. Um segundo grupo é representado pelos indivíduos de Trifoliata que apresentam um nível de vigor intermediário e de resistência ligeiramente superior ao apresentado pelas plantas de Azeda. Finalmente, um terceiro grupo reúne a tangerina Sunki e o limão Cravo. Os representantes desse grupo são bem mais vigorosos que aqueles enxertados em Trifoliata e Azeda. No entanto, nota-se

que as plantas deste grupo apresentam uma maior variabilidade na área das lesões, ocorrendo um bom número de indivíduos com lesões grandes, como pode ser observado pelo posicionamento dos indivíduos que se situam na parte superior do eixo 2, sendo portanto esse grupo representado pela Sunki e Cravo, considerado mais suscetível à gomose quando comparado aos grupos do Trifoliata ou da Azeda.

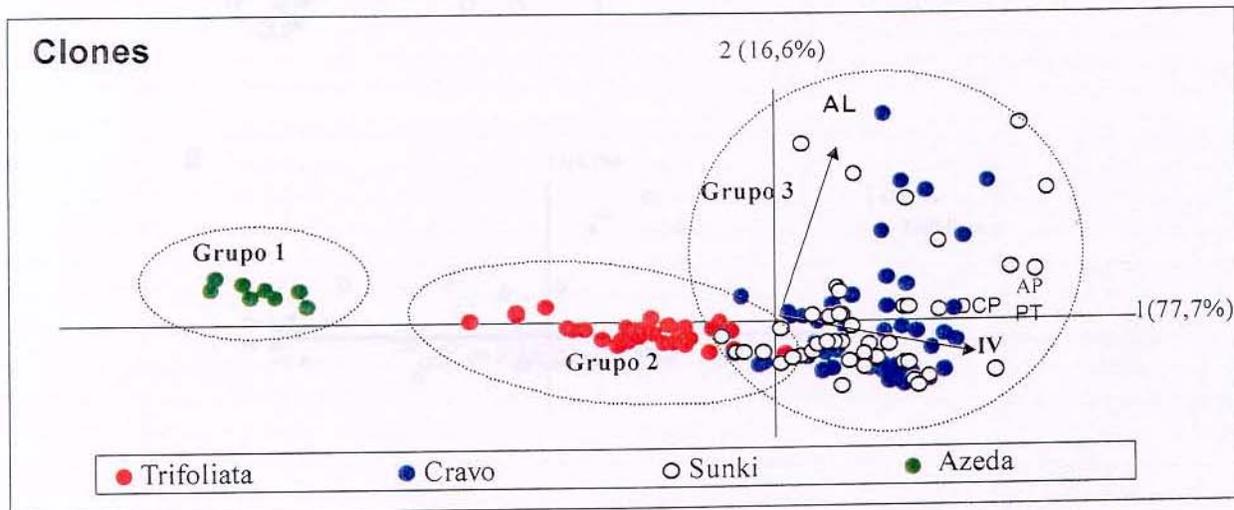


Figura 6. Análise em Componentes Principais. Associação entre as variáveis área de lesão (AL); perímetro do tronco (PT); diâmetro da copa (DCP); índice de vigor (IV). Representação no plano 1/2 dos indivíduos pertencentes aos clones Trifoliata, Cravo, Sunki e Azeda.

A classificação geral dos indivíduos nos grupos sugerida pela ACP e realizada através de uma Análise Fatorial Discriminante (AFD) revelou que 93,1% das plantas foram bem classificadas nos três grupos.

Uma análise dos híbridos, relacionando a área de lesão e o vigor vegetativo das plantas foi realizada, tomando-se o Trifoliata como padrão de resistência à gomose de *Phytophthora*.

Os resultados obtidos para as diferentes combinações híbridas encontram-se nas Figuras 7 A à G. Da mesma forma que na análise realizada nos clones, os híbridos foram também separados em função do vigor vegetativo e da área da lesão desenvolvida nas plantas, explicados respectivamente pelos eixos 1 e 2 na Figura 7 (A à G).

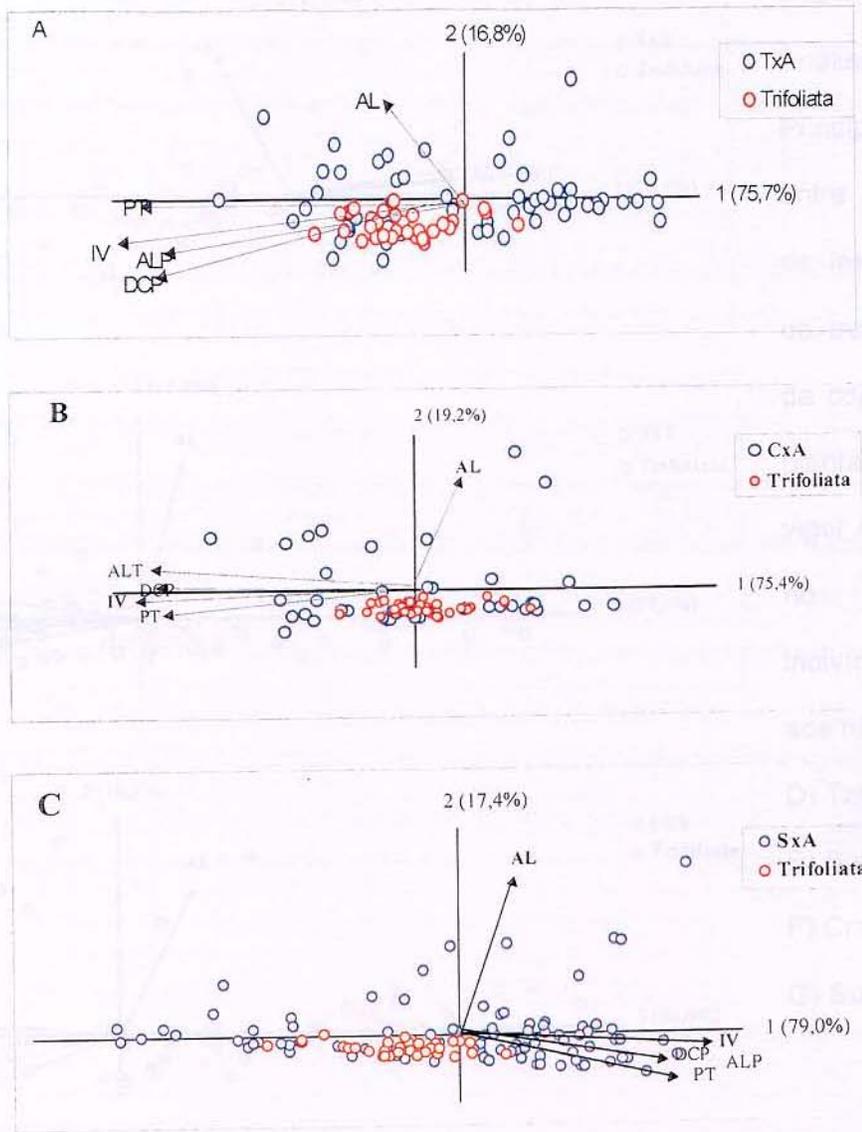


Figura 7 A, B, C. Análise em Componentes Principais. Associação entre as variáveis área de lesão (AL), perímetro do tronco (PT), diâmetro da copa (DCP), altura da planta (AL) e índice de vigor (IV). Representação no plano 1/2 dos indivíduos pertencentes aos híbridos: A) Trifoliata x Azeda; B) Cravo x Azeda; C) Sunki x Azeda.

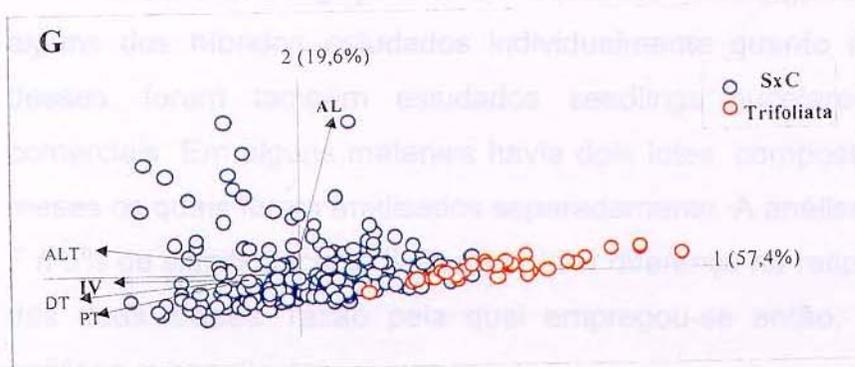
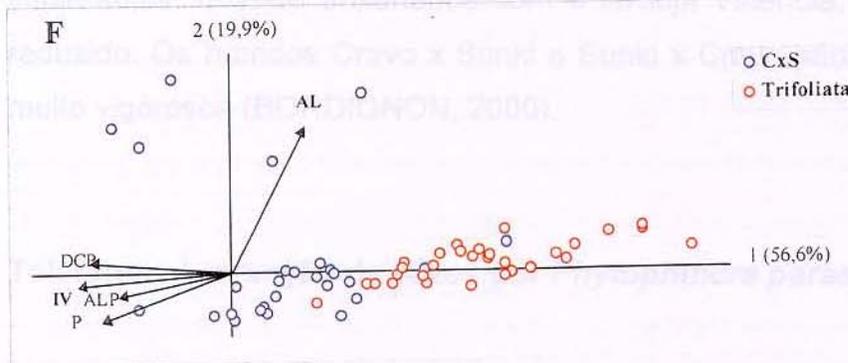
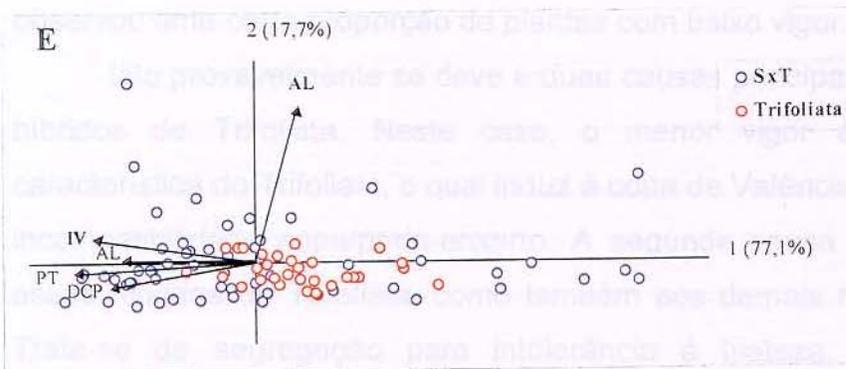
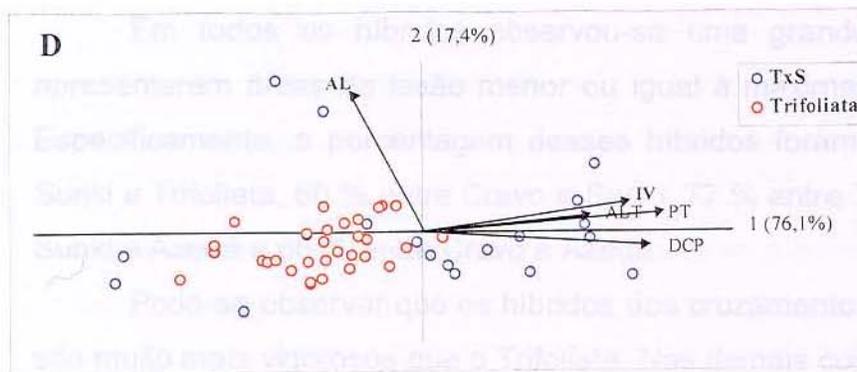


Figura 7 D, E, F, G.

Análise em Componentes Principais. Associação entre as variáveis, área de lesão (AL), perímetro do tronco (PT), diâmetro da copa (DCP), altura da planta (ALT) e índice de vigor (IV). Representação no plano 1/2 dos indivíduos pertencentes aos híbridos:

- D) Trifoliata x Sunki;
- E) Sunki x Trifoliata;
- F) Cravo x Sunki e
- G) Sunki x Cravo.

Em todos os híbridos observou-se uma grande proporção de plantas que apresentaram áreas de lesão menor ou igual à máxima área observada no Trifoliata. Especificamente, a porcentagem desses híbridos foram 84% nos cruzamentos entre Sunki e Trifoliata, 60 % entre Cravo e Sunki, 77 % entre Trifoliata e Azeda , 63 % entre Sunki e Azeda e 66 % entre Cravo e Azeda.

Pode-se observar que os híbridos dos cruzamentos recíprocos de Sunki e Cravo são muito mais vigorosos que o Trifoliata. Nas demais combinações híbridas sempre se observou uma certa proporção de plantas com baixo vigor.

Isto provavelmente se deve a duas causas principais. A primeira diz respeito aos híbridos de Trifoliata. Neste caso, o menor vigor é devido à herança dessa característica do Trifoliata, o qual induz à copa de Valência um menor porte e uma certa incompatibilidade copa/porta-enxerto. A segunda causa diz respeito não somente a esses híbridos de Trifoliata, como também aos demais híbridos (exceto SxC e CxS). Trata-se de segregação para intolerância à tristeza, de forma que os híbridos intolerantes, quando enxertados com a laranja Valência, apresentam um vigor muito reduzido. Os híbridos Cravo x Sunki e Sunki x Cravo são invariavelmente tolerantes e muito vigorosos (BORDIGNON, 2000).

Tolerância à infecção de raízes por *Phytophthora parasitica*

Nessas investigações foram avaliados seedlings nucelares dos genitores e de alguns dos híbridos estudados individualmente quanto à infecção de tronco. Além desses, foram também estudados seedlings nucelares de cinco porta-enxertos comerciais. Em alguns materiais havia dois lotes, compostos de seedlings com 6 e 12 meses os quais foram analisados separadamente. A análise de variância, com o teste F à 5% de significância indicou não haver diferença na resposta à infecção de seedlings das duas idades, razão pela qual empregou-se então, a média dos mesmos nas análises subseqüentes.

Conforme detalhado em Material e Métodos, a reação à infecção de raízes à *P. parasitica* foi estudada através de três critérios, sempre considerando o lote correspondente não inoculado como padrão de referência nas avaliações. O primeiro critério refere-se à taxa de sobrevivência, o segundo, quantitativo, foi avaliado através de pesos e medidas dos seedlings sobreviventes e o terceiro, visual, através de notas atribuídas subjetivamente a diversos parâmetros. Os resultados dos três critérios foram então utilizados para calcular o índice de redução devido à infecção por *Phytophthora* (IR).

O primeiro critério avaliado foi a taxa de sobrevivência, que foi determinada a partir da porcentagem da mortalidade apresentada pelos clones e progênies clonais dos híbridos inoculados com *Phytophthora parasitica*, em comparação com a porcentagem de mortalidade dos controles, não inoculados, medida no mesmo período de tempo. O controle da mortalidade foi feito semanalmente, durante todo o período do experimento. Após 10 dias da inoculação, os seedlings das progênies mais intolerantes começaram a apresentar os primeiros sintomas da doença, com a descoloração das folhas basais. Gradativamente esses sintomas foram evoluindo para o amarelecimento total da planta seca, murcha e morte das mesmas. O período ideal para a constatação da morte do seedling a partir dos primeiros sintomas foi de aproximadamente quinze dias, por isso a porcentagem de mortalidade foi calculada quinzenalmente.

Com 20 dias após a inoculação, algumas progênies mais intolerantes já apresentavam mortalidade de seedlings, conforme pode ser observado na Figura 8. Nesta figura estão representados somente clones e progênies clonais de híbridos que apresentaram algum nível de mortalidade das plantas.

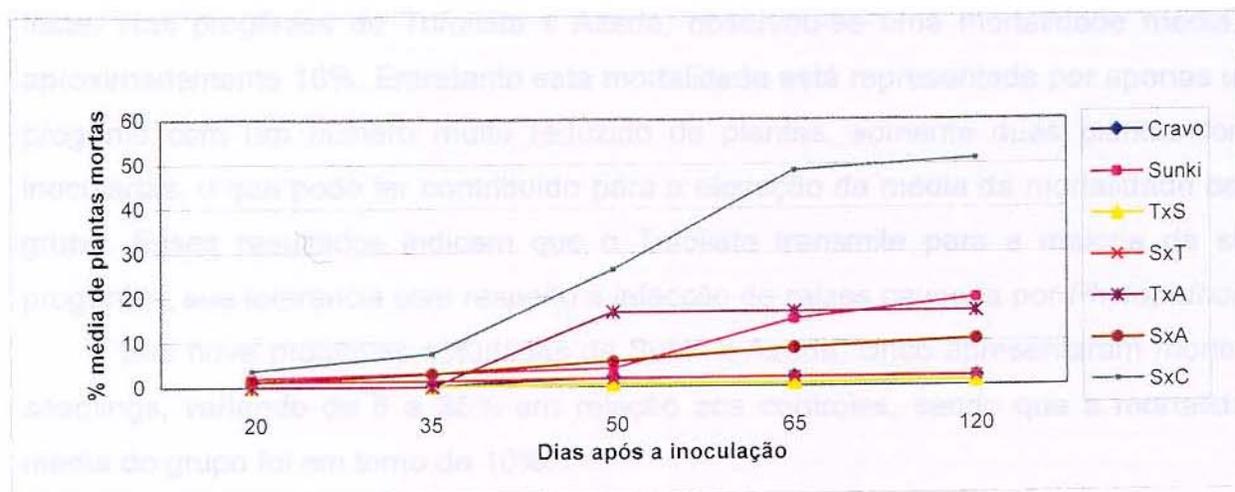


Figura 10. Dias após a inoculação e a porcentagem média da mortalidade das progênies inoculadas, em relação às progênies não inoculadas.

Nota-se que o período de maior mortalidade dos seedlings ocorreu de 35 a 65 dias após a inoculação, para a maioria das progênies estudadas. No intervalo de 65 dias até o final do experimento, 120 dias, não foi observado nenhum aumento expressivo na porcentagem média de plantas mortas das progênies.

Dos clones testados, a tangerina Sunki apresentou maior porcentagem de mortalidade de seedlings por infecção de raízes, aproximadamente 20%, enquanto que o limão Cravo apresentou somente 2% de mortalidade. Esses resultados estão de acordo com os observados pelos viveristas, que consideram a Sunki bastante suscetível à podridão de raízes causada por *Phytophthora parasitica*. Nos demais clones testados, Trifoliata Davis A e Rich, laranja Azeda, tangerina Cleópatra, limão Volkameriano, tangerina Suenkat e citrumelo Swingle, não foram observadas mortalidade nos seedlings.

Para os híbridos, as progênies de Trifoliata x Sunki e Sunki x Trifoliata foram as que apresentaram menor porcentagem média de mortalidade de seedlings, 1 e 2% respectivamente, sendo que, em ambos os casos, somente em uma progênie foi observada morte de seedlings. Esses resultados estão em concordância com os observados por MATHERON *et al.*, (1998) que demonstraram que híbridos de tangerina Sunki e Trifoliata tiveram baixa taxa de mortalidade, em dois anos consecutivos de

teste. Nas progênies de Trifoliata x Azeda, observou-se uma mortalidade média de aproximadamente 16%. Entretanto esta mortalidade está representada por apenas uma progênie com um número muito reduzido de plantas, somente duas plantas foram inoculadas, o que pode ter contribuído para a elevação da média da mortalidade deste grupo. Esses resultados indicam que o Trifoliata transmite para a maioria de suas progênies, sua tolerância com respeito à infecção de raízes causada por *Phytophthora*.

Das nove progênies estudadas de Sunki x Azeda, cinco apresentaram morte de seedlings, variando de 8 a 35% em relação aos controles, sendo que a mortalidade média do grupo foi em torno de 10%.

Altas porcentagens de mortalidade foram observadas nas progênies de Sunki x Cravo, mostrando ser este grupo altamente intolerante à infecção de raízes. Das sete progênies estudadas, todas apresentaram uma razoável mortalidade de seedlings. A variação da porcentagem da mortalidade entre as progênies foi de 33 a 80%, sendo que a mortalidade média do grupo de 51%. Todas as progênies avaliadas deste cruzamento mostraram-se mais intolerantes, com maior porcentagem de mortalidade que a própria tangerina Sunki.

As variáveis relacionadas aos dois últimos critérios, visuais e quantitativos, foram analisadas através de uma Análise em Componentes Principais (ACP) e da análise de variância da porcentagem de redução dos diversos parâmetros avaliados.

A Análise em Componentes Principais (ACP) para os critérios visuais e quantitativos mostraram que ambos critérios são muito eficientes e apresentaram resultados semelhantes. Tanto para os clones como para as progênies clonais a variabilidade total representada no plano 1/2 foi superior a 95%.

Todas as variáveis avaliadas visualmente, aspecto geral da parte aérea (AGPA), altura da planta (ALT), enfolhamento (ENF), coloração das folhas (COL), revelaram-se altamente correlacionadas com o aspecto geral das raízes (AGR). Da mesma forma, nas avaliações quantitativas, as variáveis peso fresco da parte aérea (PFPA), diâmetro do caule (DIAM) e altura da planta (ALT) revelaram alta correlação com o peso fresco

da raiz (PFR). Os resultados das análises de correlação são mostrados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Coeficientes de correlação das variáveis avaliadas visualmente nos seedlings de clones e de híbridos.

Parâmetros		AGR	AGPA	ENF	COL	ALT
Clones						
	AGR	-				
	AGPA	0,86*	-			
	ENF	0,90*	0,89*	-		
	COL	0,91*	0,87*	0,86*	-	
	ALT	0,76*	0,75*	0,78*	0,77*	-
Híbridos						
	AGR	-				
	AGPA	0,89*	-			
	ENF	0,84*	0,82*	-		
	DIAM	0,85*	0,84*	0,86*	-	
	ALT	0,71*	0,73*	0,76*	0,71*	-

*Coeficiente de correlação significativo à 5%

Tabela 5. Coeficientes de correlação das variáveis da avaliação quantitativa dos seedlings de clones e dos híbridos.

Parâmetros		PFR	PFPA	DIAM	ALT
Clones					
	PFR	-			
	PFPA	0,88*	-		
	DIAM	0,89*	0,85*	-	
	ALT	0,76*	0,77*	0,87*	-
Híbridos					
	PFR	-			
	PFPA	0,85*	-		
	DIAM	0,89*	0,85*	-	
	ALT	0,75*	0,77*	0,89*	-

*Coeficiente de correlação significativo à 5%

A análise em componentes principais da avaliação visual (Figura 8) revelou que todas essas variáveis estão correlacionadas ao eixo 1 que representa sozinho cerca de 80% da variabilidade total dos dados. Estas variáveis foram avaliadas em plantas, inoculadas relativas as não inoculadas com *Phytophthora*. Portanto, as reações observadas estão necessariamente relacionadas ao nível de tolerância das plantas. Assim, o eixo 1, sugere a existência de 3 grupos, caracterizados pelo nível de tolerância dos clones.

Na Figura 8, os controles não inoculados, encontram-se à direita do eixo 1, juntamente com os clones de Trifoliata Davis A, Rich 16-6 e citrumelo Swingle formando o grupo 1, de maior tolerância.

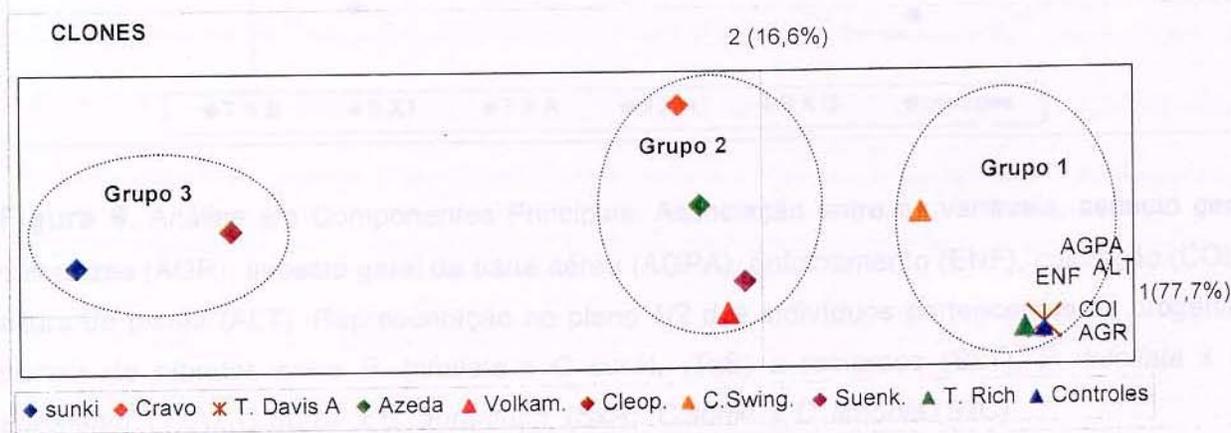


Figura 8. Análise em Componentes Principais. Associação entre as variáveis, aspecto geral das raízes (AGR), aspecto geral da parte aérea (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração (COL) e altura das plantas (ALT). Representação no plano 1/2 dos indivíduos inoculados e controles pertencentes aos clones, tangerina Sunki (*C. sunki*), limão Cravo (*C. limonia*), *P. trifoliata* Davis A e Rich 6-16, laranja Azeda (*C. aurantium*), limão Volkameriano (*C. volkameriana*), citrumelo Swingle (*P. trifoliata* x *C. paradisi*) e tangerina SuenKat (*C. SuenKat*).

Especial atenção deve ser dispensada ao comportamento dos Trifoliatas Davis A e Rich 16-6 que, mesmo quando inoculados não sofreram alterações nas variáveis avaliadas. O segundo grupo, menos tolerante que o primeiro, é formado pelos clones Azeda, limão

Cravo, tangerina SuenKat e limão Volkameriano. O terceiro grupo é representado pelas tangerinas Sunki e Cleópatra, que se revelaram mais intolerantes à infecção de raízes de *P. parasitica* em comparação com os demais clones.

Quanto aos híbridos, a análise sugere a formação de quatro grupos. Os controles estão representados na Figura 9 por apenas 1 ponto reunindo as diferentes progênes clonais, cujas plantas não foram inoculadas.

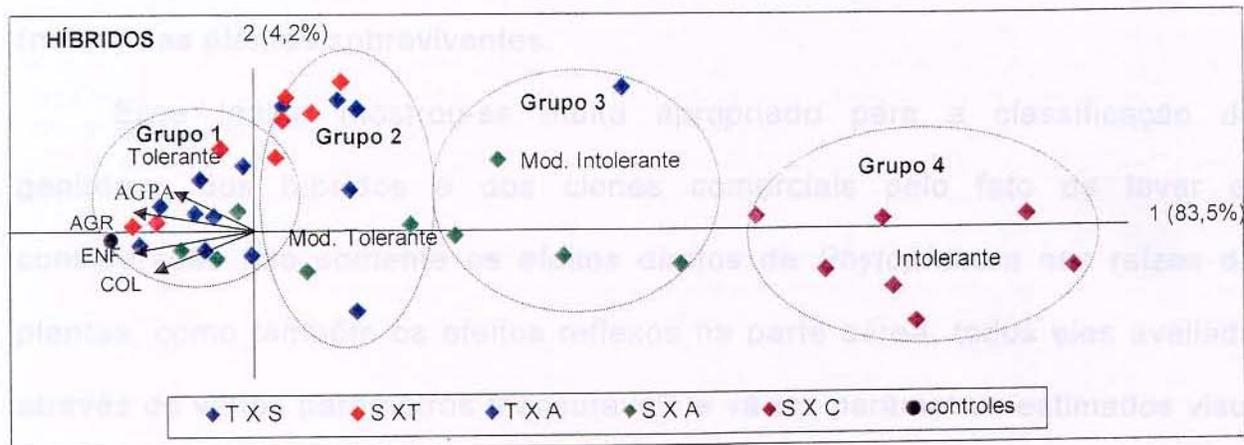


Figura 9. Análise em Componentes Principais. Associação entre as variáveis, aspecto geral das raízes (AGR), aspecto geral da parte aérea (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração (COL), altura da planta (ALT). Representação no plano 1/2 dos indivíduos pertencentes às progênes clonais de híbridos entre *P. trifoliata* x *C. sunki*, (TxS) e recíproco (SxT), *P. trifoliata* x *C. aurantium* (TxA), *C. Sunki* x *C. aurantium* (SxA), *C. sunki* x *C. limonia* (SxC).

O primeiro e o segundo grupo, aqui denominados tolerantes e moderadamente tolerantes, são formados basicamente por híbridos provenientes de cruzamentos envolvendo o Trifoliata (Trifoliata x Sunki e recíproco e Trifoliata x Azeda). Cinco híbridos provenientes do cruzamento entre Sunki e Azeda também podem ser incluídos nestes grupos. O terceiro grupo (moderadamente intolerante) é representado basicamente por híbridos entre Sunki e Azeda (SxA). Um último grupo é formado essencialmente por híbridos entre Sunki e Cravo (SxC) que se mostraram, sem exceção, intolerante.

Índice de redução devido á infecção de raízes de *Phytophthora parasítica*

O índice final de redução (IR) devido à infecção de raízes foi calculado com base na taxa de sobrevivência dos seedlings e na porcentagem de redução dos diversos parâmetros avaliados quantitativa (pesos e medidas) e visualmente (notas) nas plantas sobreviventes.

Esse índice mostrou-se muito apropriado para a classificação dos genitores, dos híbridos e dos clones comerciais pelo fato de levar em consideração não somente os efeitos diretos da *Phytophthora* nas raízes das plantas, como também os efeitos reflexos na parte aérea, todos eles avaliados através de vários parâmetros mensuráveis e vários parâmetros estimados visual e independentemente por cinco pesquisadores. No cálculo do índice final de redução atribuiu-se à taxa de mortalidade um peso maior que à porcentagem de redução dos outros parâmetros avaliados por ser a morte da planta o sintoma extremo de suscetibilidade.

Na Tabela 6 são mostrados os resultados da porcentagem de redução no peso de raízes (PFR), no peso da parte aérea (PFPA), no diâmetro do caule (DC) e na altura da planta (ALT), para o critério de avaliação quantitativo de pesos e medidas.

Tabela 6: Porcentagem de redução em relação aos controles correspondentes não inoculados do peso fresco de raiz (PFR), do peso fresco da parte aérea (PFPA), do diâmetro do caule (DC), da altura da planta (ALT) e média de redução dos seedlings de porta-enxertos inoculados com *Phytophthora parasitica*.

PORTA-ENXERTO	% REDUÇÃO				
	PFR	PFPA	DC	ALT	X Red.
Clones					
Cravo (<i>C. limonia</i>)	43,2*	39,1*	15,8*	14,3	0,18
Sunki (<i>C. sunki</i>)	67,2*	61,0*	17,7*	22,2*	0,26
Tifoliata Davis A (<i>P. trifoliata</i>)	6,7	+	+	+	0,02
Trifoliata Rich 6-16 (<i>P. trifoliata</i>)	3,5	13,9	12,0	2,8	0,02
Azeda (<i>C. aurantium</i>)	42,6*	28,2*	16,3*	6,5	0,17
Cleópatra (<i>C. reshni</i>)	71,6*	58,4*	24,7*	33,7*	0,31
Volkameriano (<i>C. volkameriana</i>)	48,0*	40,4	11,9	+	0,20
Suenkat (<i>C. depressa</i>)	32,4	25,9*	16,0	2,5	0,19
Citrumelo swingle (<i>P. trifoliata</i> x <i>C. paradisi</i>)	14,7	9,1	3,6	4,4	0,06
Híbridos					
T x S 1744	74,3*	64,5	30,4	38,7	0,33
2245	51,6	29,5	+	31,3	0,21
2244	15,4	2,5	4,5	+	0,06
2237	42,5	21,8	19,4	7,8	0,17
1777	23,3*	14,2*	4,5*	+	0,09
1769	28,1	14,7	8,4	5,8	0,11
2197	31,0*	30,4*	16,9*	22,4*	0,14
1843	50,4*	35,7*	7,5*	15,2*	0,21
1842	37,7*	71,2	27,0	36,6	0,19
2202	50,7*	52,7*	27,0*	34,9*	0,23
1775	52,0	37,0	21,8*	21,4*	0,23
S x T 2911	42,7*	34,5*	18,0*	12,2	0,18
3296	35,9*	14,6	8,8*	6,2	0,14
3502	50,7*	41,7*	24,7*	28,3*	0,23
3501	40,0*	28,6*	19,1*	21,6*	0,18
3448	20,9	20,7	3,7	4,2	0,09
3449	23,0*	+	0,3	+	0,08
2923	26,4*	13,4	16,4*	17,2	0,12
T x A 2144	32,1	33,3	38,0*	46,2	0,17
2259	31,8*	28,8*	7,9*	8,5*	0,13
1889	33,5	51,8	7,3	31,0	0,16
S x A 3733	56,4*	49,1*	12,1	0,3	0,23
3392	59,3*	40,1*	11,5*	10,1*	0,24
3711	43,2*	16,0	14,1*	9,0	0,17
3705	35,3*	26,9*	11,6*	10,8	0,15
3904	39,9*	23,6	6,5	2,5	0,16
3718	57,9*	47,5*	15,0	17,9	0,24
3754	12,9	4,6	1,4	0	0,05
3384	31,8	24,4	16,9	6,4	0,14
3771	73,2	72,6	33,1	26,9	0,32
S x C 3793	77,5	59,3	26,4	13,9	0,32
3598	70,0*	64,2*	20,2*	28,0*	0,30
3798	86,6*	73,3*	10,9	16,7*	0,35
3628	36,8	37,3	9,8	21,9**	0,16
3980	85,3*	69,6*	31,5*	36,9	0,38
3807	63,7*	56,1*	23,1*	15,5*	0,27
3978	79,2*	63,9*	17,2*	0	0,32

(*) redução significativa pelo teste t à 5%.

(+) aumento não significativo

Os resultados mostram que entre os clones, a porcentagem de redução do sistema radicular variou de 3,5% no trifoliata Davis A à 71,6% da tangerina Cleópatra.

Cabe ressaltar que as plantas dos Trifoliatas (Davis A e Rich 6-16) apresentaram muito pouca ou nenhuma redução de raízes e da parte aérea, chegando o trifoliata Davis A, a apresentar um aumento, embora não significativo do PFFA, DC, e ALT (29,3%, 6,0% e 15% respectivamente) nas plantas inoculadas em relação ao controle. Esses resultados estão de acordo com os observados por GRAHAM (1995), que demonstrou uma maior capacidade de regeneração de raízes em plantas inoculadas de Trifoliata quando comparadas ao controle.

O citrumelo Swingle, conhecido nos EUA como um porta-enxerto tolerante, também não apresentou nenhuma redução significativa em quaisquer dos parâmetros avaliados. A tolerância desse clone ao patógeno é provavelmente oriunda do próprio Trifoliata, uma vez que o citrumelo Swingle é um híbrido de *Poncirus trifoliata* x *Citrus paradisi* sendo este último reconhecidamente suscetível à *Phytophthora*.

Dos clones testados, os que apresentaram as maiores porcentagens de reduções em todas as características avaliadas foram as tangerinas Sunki e Cleópatra. Esse resultado da Sunki é coerente com a classificação usual desse clone (ZITKO, *et al.*, 1991, CARPENTER & FURR, 1962). No caso da Cleópatra, os relatos da literatura são conflitantes. MATHERON *et al.*, (1998) chama atenção que em vários relatos situa-se desde intolerante à moderadamente tolerante.

Os demais clones testados, limão Cravo, laranja Azeda, limão Volkameriano e tangerina SuenKat, apresentaram uma porcentagem de redução intermediária, tanto para peso fresco de raiz (PFR), como para os sintomas reflexos da parte aérea (PFFA, DIAM, ALT). No caso do limão Volkameriano, tem sido observado grande influência das condições ambientais na resposta à doença (TIMMER & MENGE, 1988; GRAHAM, 1990). Da mesma forma que para Cleópatra, relatos bastante divergentes têm sido publicados com respeito à classificação da laranja Azeda.

Quanto aos híbridos, observou-se uma amplitude de variação de redução no peso de raiz (PFR), de 15 à 87%. De uma forma geral, os híbridos de Trifoliata, apresentaram um nível de redução intermediário aos genitores. Nenhum híbrido

apresentou o alto nível de tolerância dos Trifoliatas. Os híbridos entre Sunki e Azeda apresentaram porcentagens variáveis, ocorrendo progênies com redução menores que a de Azeda e apenas uma apresentou maior porcentagem de redução que a Sunki.

Os híbridos entre Sunki e Cravo apresentaram reduções iguais ou maiores que a tangerina Sunki, com exceção de um híbrido que teve uma porcentagem de redução inferior ao Cravo. Entretanto, esta baixa redução desse parâmetro não foi verificada pelas avaliações dos outros parâmetros e deve ser considerada circunstancial.

Os resultados mostram ainda que as reduções no sistema radicular são, no geral, acompanhadas por reduções na parte aérea para todos os parâmetros avaliados, conforme pode ser observado na Tabela 7. Para os clones, observou-se em média uma alta correlação entre a porcentagem de redução do peso de raiz (PFR) e a redução das variáveis avaliadas na parte aérea, PFFA, DIAM e ALT (0.96, 0.79 e 0.91 respectivamente), significativa à 5%. Para os híbridos, a porcentagem de redução do PFFA mostrou invariavelmente uma alta correlação com o PFR (0,85), para os parâmetros DIAM e ALT o coeficiente de correlação foi de 0,60 e 0,35 respectivamente, embora menores, igualmente significativos à 5%.

Nos resultados das avaliações visuais, mostrados na Tabela 9, observou-se, também uma alta correlação entre o aspecto das raízes (AGR) e os demais parâmetros avaliados como sintomas reflexos na parte aérea, aspecto geral das raízes (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração (COL) e altura da planta (ALT), tanto para os clones (0,86, 0.90, 0.91 e 0.72 respectivamente) como para os híbridos (0.89, 0.84, 0.85 e 0.85 respectivamente), significativas à 5%

Tabela 7. Porcentagem de redução em relação aos controles, dos parâmetros visuais do aspecto geral das raízes (AGR), da parte aérea (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração (COL), altura da planta (ALT) e média de redução dos seedlings inoculados com *Phytophthora parasitica*.

PORTA-ENXERTOS		% REDUÇÃO					x Red.
		AGR	AGPA	ENF	COL	ALT	
Clones							
	Cravo (<i>C. limonia</i>)	35,0	26,0	31,3	22,9	31,3	0,16
	Sunki (<i>C. sunki</i>)	73,2	67,9	72,0	60,7	53,6	0,35
	Trifoliata Davis A (<i>P. trifoliata</i>)	1,3	--	--	--	1,0	0,01
	Trifoliata Rich 16-6 (<i>P. trifoliata</i>)	--	--	8,3	--	--	0,01
	Azeda (<i>C. aurantium</i>)	32,5	20,8	25,0	25,0	16,7	0,15
	Cleópatra (<i>C. reshni</i>)	62,5	54,2	62,5	50,0	54,2	0,30
	Volkameriano (<i>C. volkameriana</i>)	40,0	16,7	45,8	8,3	--	0,17
	SuenKat (<i>C. suenkat</i>)	47,5	8,3	16,7	25,0	4,2	0,18
	Swingle (<i>P. trifoliata</i> x <i>C. paradisi</i>)	2,5	8,3	8,3	8,3	16,7	0,02
Híbridos							
T x S	1744	5,0	18,8	18,8	--	--	0,03
	2245	23,3	8,3	8,3	--	--	0,08
	2244	22,5	7,3	7,3	4,2	--	0,08
	2237	22,5	--	--	--	--	0,08
	1777	--	6,3	6,3	--	--	0,01
	1769	15,0	9,4	9,4	--	8,3	0,07
	2197	22,5	27,1	27,1	--	41,7	0,11
	1843	12,5	17,7	17,7	--	8,3	0,06
	1842	22,5	41,7	41,7	16,7	--	0,11
	2202	22,5	22,9	22,9	--	33,3	0,10
	1775	22,5	33,3	33,3	8,3	25,0	0,11
S x T	2911	50,0	14,6	8,3	4,2	33,3	0,20
	3296	45,0	8,3	12,5	--	16,7	0,17
	3502	36,3	16,7	6,3	--	29,2	0,15
	3501	20,0	12,5	--	--	16,7	0,08
	3448	10,0	8,3	--	--	--	0,04
	3449	10,0	--	--	--	--	0,04
	2923	22,5	25,0	--	--	20,8	0,11
T x A	2144	67,5	72,9	16,7	16,7	41,7	0,29
	2259	22,5	12,5	8,3	4,2	16,7	0,09
	1889	20,0	6,3	8,3	8,3	8,3	0,08
S x A	3733	67,5	35,4	33,3	16,7	25,0	0,28
	3392	55,0	45,8	41,7	50,0	29,2	0,26
	3711	57,5	25,0	33,3	16,7	12,5	0,23
	3705	37,5	6,3	8,3	8,3	--	0,14
	3904	20,0	25,0	20,8	20,8	8,3	0,10
	3718	45,0	35,4	29,2	33,3	25,0	0,21
	3754	17,5	2,1	--	16,7	--	0,07
	3384	12,5	14,6	16,7	8,3	--	0,06
	3771	57,5	66,7	66,7	50,0	45,8	0,29
S x C	3793	95,0	93,8	75,0	41,7	50,0	0,43
	3598	72,5	87,5	91,7	75,0	42,7	0,35
	3798	95,0	87,5	91,7	75,0	42,7	0,44
	3628	80,0	93,8	75,0	62,5	54,2	0,39
	3980	95,0	95,8	87,5	75,0	83,3	0,46
	3807	72,0	79,2	62,5	41,7	45,8	0,35
	3978	100,0	100,0	91,7	83,3	79,2	0,48

Os resultados acima descritos mostram uma boa correlação entre os dois critérios utilizados, quantitativo e visual, para a maioria dos clones e progênies clonais dos híbridos. As correlações da porcentagem de redução do peso das raízes (PFR) e dos diversos parâmetros avaliados visualmente, AGR, AGPA, ENF, COL e ALT, foi de 0.94, 0.90, 0.95, 0.88, e 0.79 respectivamente para os clones e 0.69, 0.71, 0.78, 0.70 e 0.66 respectivamente para as progênies nucelares dos híbridos, sendo significativas à 5%. A alta correlação entre a redução no peso das raízes (PFR) e da parte aérea (PFPA) poderia ser uma indicação de que a parte aérea é um parâmetro reflexo tão bom quanto as próprias raízes para se avaliar os danos da doença. Esses resultados, ao serem considerados conjuntamente, aumentam porém, a precisão da avaliação da resposta à infecção.

A utilização dois critérios quantitativo e visual juntamente com a taxa de sobrevivência na composição do índice de reação, possibilitou uma classificação mais precisa dos clones e principalmente progênies clonais de híbridos à infecção de raízes à *Phytophthora parasitica* conforme observado na Tabela 8.

Tabela 8. Número de plantas, taxa de sobrevivência, média ponderada da redução de medidas e notas e Índice de reação (IR) à infecção de raízes de *P. parasitica* em clones e híbridos de porta-enxertos de citros, totalizando 2.303 plantas.

Porta-enxertos	Nº	Taxa Sobrevivência	X redução medidas	X redução notas	Índice de Redução I.R.
Clones					
Cravo (<i>C. limonia</i>)	110	0,98	0,18	0,16	0,36
Sunki (<i>C. sunki</i>)	197	0,80	0,26	0,35	0,71
Davis A (<i>P. trifoliata</i>)	28	1	0,02	0,01	0,03
Trifoliata Rich16-6 (<i>P. trifoliata</i>)	39	1	0,02	0,01	0,03
Azeda (<i>C. aurantium</i>)	62	1	0,17	0,15	0,32
Cleópatra (<i>C. reshni</i>)	36	1	0,31	0,30	0,61
Volkameriano (<i>C. Volkameriana</i>)	29	1	0,20	0,17	0,37
Suenkat (<i>C. SuenKat</i>)	27	1	0,19	0,18	0,32
Swingle (<i>P. trifoliata</i> x <i>C. paradisi</i>)	36	1	0,06	0,02	0,08
Total	564				
Híbridos					
T x S					
1774	10	1	0,33	0,03	0,36
2245	13	1	0,21	0,08	0,29
2244	16	1	0,06	0,08	0,14
2237	6	1	0,17	0,08	0,25
1777	75	1	0,09	0,01	0,10
1769	94	1	0,11	0,07	0,18
2197	100	0,89	0,14	0,11	0,34
1843	64	1	0,21	0,06	0,27
1842	22	1	0,19	0,11	0,30
2202	24	1	0,23	0,10	0,33
1775	31	1	0,23	0,11	0,34
Total	455				Média 0.26*
S x T					
2911	64	1	0,18	0,20	0,38
3296	75	1	0,14	0,17	0,31
3502	167	1	0,23	0,15	0,37
3501	164	1	0,18	0,08	0,26
3448	15	1	0,09	0,04	0,13
3449	32	1	0,08	0,04	0,12
2923	67	0,85	0,12	0,11	0,33
Total	584				Média 0.27*
T x A					
2144	5	0,50	0,17	0,29	0,73
2259	25	1	0,13	0,09	0,23
1889	10	1	0,16	0,08	0,24
Total	40				Média 0.40*
S x A					
3733	20	0,70	0,23	0,28	0,65
3392	76	0,89	0,24	0,26	0,55
3711	25	0,92	0,17	0,23	0,45
3705	50	0,65	0,15	0,14	0,54
3904	45	0,91	0,16	0,10	0,32
3718	19	1	0,24	0,21	0,45
3754	56	1	0,05	0,07	0,12
3384	13	1	0,14	0,06	0,19
3771	4	1	0,32	0,29	0,61
Total	308				Média 0.43*
S x C					
3793	18	0,33	0,32	0,43	0,92
3598	66	0,52	0,30	0,35	0,82
3798	11	0,67	0,35	0,44	0,86
3628	44	0,58	0,16	0,39	0,74
3980	23	0,36	0,38	0,46	0,94
3807	60	0,67	0,27	0,35	0,75
3978	130	0,20	0,32	0,48	0,92
Total	352				Média 0.85*

Esses resultados foram submetidos a uma análise de multivariada, visando a identificação de classes de reações à infecção de raízes, baseadas no índice de redução, de todo o material avaliado (clones e progênies clonais de híbridos) .

Observa-se na Figura 11, que as variáveis, redução de notas (NOT) e redução quantitativa de pesos e medidas (MED) e índice final de redução (IR) apresentam correlação negativa com a taxa de sobrevivência (SOBR) das plantas indicando que todos esses parâmetros avaliados contribuem para as classificações dos materiais neste mesmo sentido. Em outras palavras, os materiais que morrem em maior número devido à infecção, portanto, mais intolerantes, tendem a apresentar nas plantas sobreviventes também uma redução maior das raízes e parte aérea. O eixo 1, denominado eixo da resistência, separa também os diferentes germoplasmas em grupos distintos, segundo o nível de resistência das plantas à *Phytophthora parasitica*.

A dispersão geral dos clones e progênies clonais dos híbridos sugere a existência de quatro grupos, ou classes de reação distintas, sendo que os clones estudados distribuem-se em apenas três delas.

- a) Tolerantes, representados pelos Trifoliatas e pelo citrumelo Swingle.
 - b) Moderadamente Tolerante, na qual estariam incluídas a laranja Azeda, tangerina SuenKat, limão Volkameriano e o limão Cravo.
 - c) Moderadamente Intolerante, na qual estariam as tangerinas Sunki e Cleópatra.
- Essas três classes de reação à infecção de raízes, são mostradas na Figura 12.

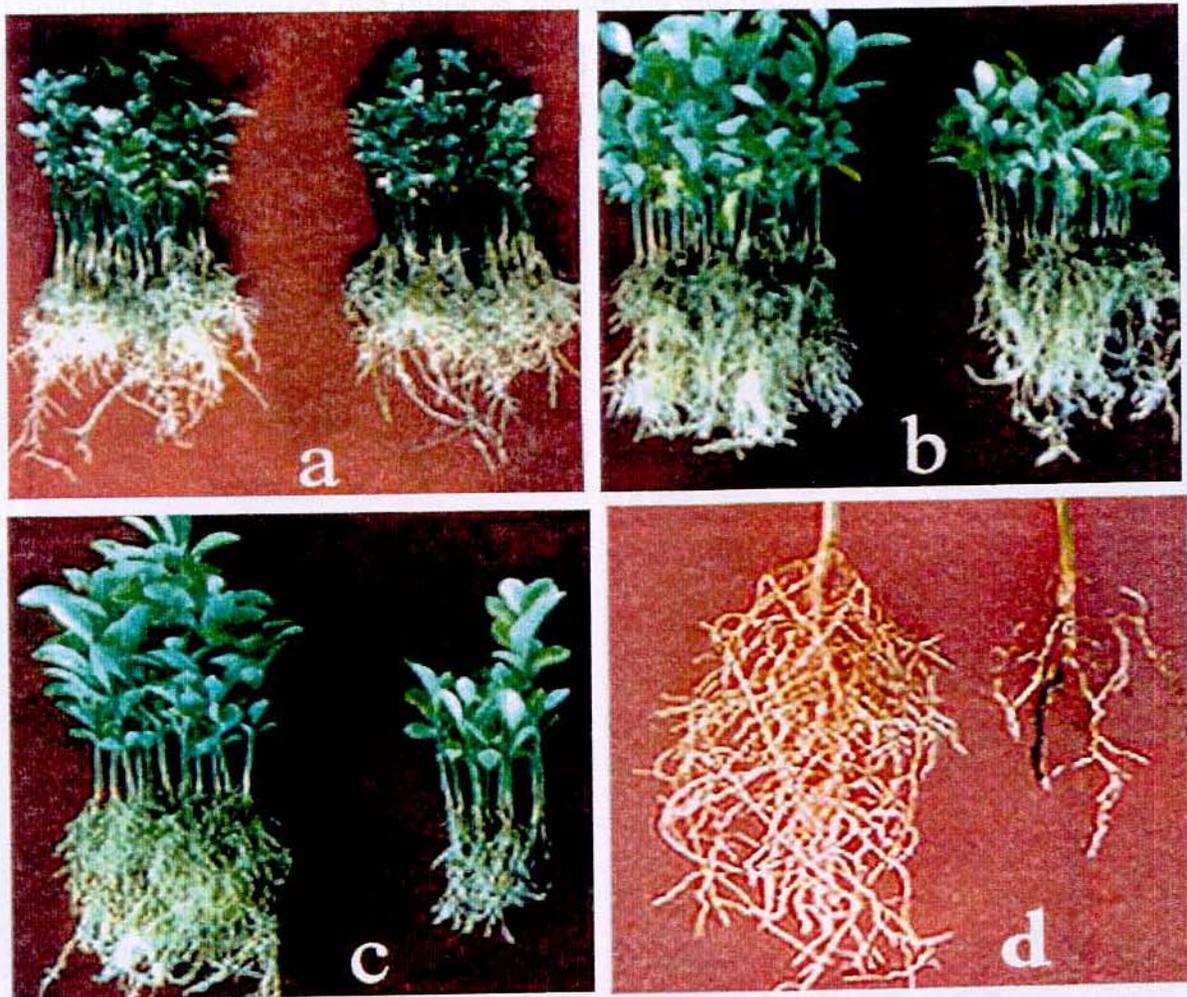


Figura 12. Níveis de tolerância dos clones em substrato de argila expandida infestada com *Phytophthora parasitica* (controles não inoculados à esquerda): a) Tolerante - trifoliata Rich 6-16; b) Moderadamente tolerante - limão Cravo; c) Moderadamente intolerante - tangerina Sunki; d) detalhe da redução de raízes em planta intolerante.

Quanto aos híbridos, as quatro classes de reação à infecção foram observadas e verificou-se que os de Trifoliata, em sua maioria, foram classificados como tolerantes ou moderadamente tolerantes, com exceção de um híbrido entre Trifoliata e Azeda que se mostrou moderadamente intolerante. Híbridos entre Sunki e Azeda foram os que apresentaram maior variação na reação à infecção, ocorrendo progênies desde tolerantes à moderadamente intolerantes. Os híbridos entre Sunki e Cravo revelaram-se na maioria intolerantes à infecção de raízes sendo somente dois deles, classificados moderadamente intolerantes. Os quatro grupos de reação à infecção de raízes de *Phytophthora* observados nos híbridos estudados são mostrados na Figura 13.



Figura 13. Níveis de tolerância à *Phytophthora parasitica* (controles à esquerda) observados nos híbridos: a) Tolerante, b) Moderadamente tolerante; c) Moderadamente intolerante e d) Intolerantes.

Esse teste de raízes em substrato de argila expandida, mostrou-se muito simples e eficiente, dados os excelentes resultados obtidos nas inoculações. Neste substrato, o fato das partículas serem maiores e não sofrerem compactação possibilita a fácil remoção dos seedlings, sem que haja danos no sistema radicular, ou seja, quebras de raízes e radículas, o que poderia interferir nos resultados. Além disso, dispensa as cuidadosas lavagens do sistema radicular, por não haver agregação das partículas nas raízes, como normalmente ocorre quando se utiliza outros materiais. A metodologia de avaliação através do índice de reação mostrou-se igualmente eficaz, por considerar todos os aspectos relacionados à doença tais como: perda de raízes e radículas, sintomas reflexos da parte aérea e mortalidade da planta, avaliados de forma subjetiva e quantitativa.

Resistência à infecção de tronco e Tolerância à infecção de raízes

Com a finalidade de investigar possível correspondência entre o grau de resistência à gomose em planta adulta e o grau de tolerância à podridão de raízes em seedlings, causadas por *Phytophthora parasitica*, fez-se uma comparação entre os resultados da área de lesão (AL) causada pela infecção no tronco e o índice de redução devido às infecções de raízes (IR) dos clones e híbridos individuais, cujo os resultados encontram-se na Tabela 9.

O Trifoliata apresentou o mesmo comportamento para as duas doenças de *Phytophthora parasitica*, sendo o clone mais resistente/tolerante para ambas as infecções. Esses resultados confirmam a classificação usual dos clones de Trifoliatas considerados consistentemente como resistentes à gomose de tronco e tolerantes à podridão de raízes (GRIMM & HUTCHISON, 1973; MATHERON *et al.*, 1998).

A tangerina Sunki mostrou-se suscetível e moderadamente intolerante para às infecções de tronco e de raízes, respectivamente. Já o Cravo, um pouco menos suscetível que a Sunki à infecção de tronco, porém de um nível de tolerância superior à infecção de raiz (moderadamente tolerante). Esse resultado corrobora também as

informações dos viveristas e produtores que consideram ser o Cravo menos “atacado” que a Sunki no viveiro e no campo.

Tabela 9. Área da lesão (cm²) em infecções de tronco, índice final de redução (IR) devido á infecção de raízes e as correlações entre eles, nos genitores e híbridos entre eles.

Porta-enxertos	Área da Lesão (AL) cm ²	Redução infecção de Raiz (IR)	Correlação AL - IR
Clones			
limão Cravo (<i>C.limonia</i>)	4,58	0,36	0,71
tangerina Sunki (<i>C.sunki</i>)	5,47	0,71	
laranja Azeda (<i>C.aurantium</i>)	0,86	0,32	
Trifoliata (<i>P. trifoliata</i>)	2,03	0,03	
Híbridos			
T x S			
1777	1,72	0,10	0,67
1769	1,12	0,18	
2197	3,80	0,3	
1843	2,10	0,27	
2202	4,15	0,33	
1774	2,46	0,36	
1775	5,93	0,34	
S x T			
3448	1,87	0,13	0,13
2911	2,90	0,38	
3296	2,04	0,31	
3502	1,20	0,26	
3501	1,01	0,26	
2923	1,11	0,33	
T x A			
1889	5,39	0,2	
2144	1,52	0,73	
S x A			
3754	4,34	0,12	-0,17
3711	1,87	0,45	
3904	13,30	0,32	
3718	4,72	0,45	
S x C			
3598	0,80	0,92	-0,63
3798	2,89	0,86	
3628	1,92	0,74	
3980	1,29	0,94	
3807	8,45	0,75	

A laranja Azeda apresentou reações diferentes às infecções de tronco e a de raízes, sendo mais resistente à infecção de tronco que à infecção de raiz (moderadamente tolerante). Existem divergências na literatura quanto ao grau de tolerância da Azeda para às infecções de raiz, variando de moderadamente tolerante (GRIMM & HUTCHISON, 1973) a intolerante (CARPENTER & FURR, 1962; GRAHAM, 1995; MATHERON, *et al.*, 1998). Vários fatores reconhecidamente interferem no desenvolvimento da podridão de raiz como as condições ambientais, idade e estado nutricional das plantas. Uma outra possibilidade, talvez mais provável, seria que a laranja Azeda apresenta efetivamente respostas distintas, como mencionado por MATHERON *et al.* (1998), representando apenas reações de clones geneticamente diferentes. Reações diferentes aos dois tipos de doenças têm sido de fato observadas por diversos investigadores (CARPENTER & FURR, 1962; GRIMM & HUTCHISON, 1973; MATHERON *et al.*, 1998).

Quanto ao grau de correlação observado entre a área da lesão da infecção de tronco e o índice de redução (IR) devido à infecção de raízes, verifica-se que esta correlação foi alta (0,77) quando calculada para os genitores, porém variável e errática, (0,67 à -0,63) quando calculada para os híbridos. Isto se deve ao fato de que os valores dos IR de raízes serem na verdade valores médios calculados a partir de grande número de plantas tanto para os genitores quanto para os híbridos, porém a área da lesão (tronco) somente reflete um valor médio calculado a partir de muitas plantas no caso dos genitores. No caso dos híbridos, os valores das áreas de lesão do tronco são valores de plantas individuais e sujeitas, portanto, a grandes variações. De fato, se da mesma forma analisarmos em detalhe os valores individuais das plantas de cada clone, observar-se-á grande variação. Entretanto, quando se consideram as médias dos clones que foram obtidas, por exemplo, com 46 plantas de Sunki, e com as 46 de Cravo, essas variações desaparecem e a média se torna um parâmetro fiel.

As considerações acima levam à conclusão de que tanto as avaliações de gomose de tronco quanto às de podridão de raízes efetuadas nas condições e

com as metodologias do presente trabalho são bastante eficientes quando realizadas com razoável número de plantas e com uma classificação de reação baseada em seus valores médios. Por outro lado, a tentativa de se selecionar em híbridos na forma de plantas individuais a partir de suas áreas de lesão provou ser muito pouco eficiente, na verdade, sujeita à uma grande probabilidade de erro. Entretanto, quando se observam os valores de áreas de lesão de diversos híbridos pertencentes a um mesmo cruzamento é mais lógico fazer conjecturas quanto sua reação à gomose de tronco baseada na performance dos diversos indivíduos do grupo, do que em sua própria reação individual. Em termos do melhoramento genético dos citros, essas conclusões são extremamente importantes, pois indicam não só que os híbridos são avaliados de uma forma segura e confiável somente através do teste de suas progênies nucelares, como também prova que, infelizmente, é ineficaz a tentativa de antecipar esse processo de seleção para a gomose de tronco com testes individuais dos híbridos.

CONCLUSÕES

1. O nível de resistência à gomose do tronco em porta-enxertos de citros pode ser eficientemente avaliado no campo, em plantas adultas, somente quando se utiliza um razoável número de plantas, fazendo-se duas inoculações em cada planta e utilizando-se os valores médios das áreas de lesões desenvolvidas em todas as inoculações e em todas as plantas para definir o nível de resistência. Isso se deve à considerável variação e se observa mesmo em condições experimentais excelentes, relativas tanto à produção do inóculo de *Phytophthora* quanto às inoculações e à condução das plantas no campo.
2. Seleções de híbridos baseadas na área da lesão desenvolvida em seu tronco não é eficiente sendo ineficaz a seleção precoce para essa característica. A seleção para ser confiável somente deve ser realizada na progênie nucelar de cada híbrido, progênie esta, composta também com um razoável número de plantas.
3. O nível de tolerância à podridão de raízes é muito bem determinado em clones e progênies nucleares de híbridos infectadas em substratos de argila expandida, avaliando simplesmente a taxa de sobrevivência dos seedlings e a redução no vigor ou no aspecto geral da parte aérea das plantas sobreviventes comparadas lado a lado com um lote controle de plantas não inoculadas. Isto se deve às altas correlações entre estes dois parâmetros, os quais são facilmente estimados, com a redução do peso das raízes, da parte aérea, do diâmetro do caule, da altura da planta, e com as notas subjetivas para aspecto geral das raízes e da parte aérea, enfolhamento e coloração das folhas.
4. Quanto à gomose de tronco, o Trifoliata Davis A e a laranja Azeda São Paulo se mostraram bastante resistentes, desenvolvendo em geral lesões reduzidas. A tangerina Sunki 200 e o limão Cravo Limeira desenvolveram em média, lesões bem maiores, tendo a Sunki a tendência em desenvolver lesões maiores que o Cravo e apresentando também a área média de lesão maior que o Cravo, embora não

significativa à 5%. Os híbridos de Trifoliata apresentaram, no geral, lesões intermediárias e os híbridos de Azeda, apresentaram lesões bastante variáveis. O mesmo se verifica com os híbridos entre Sunki e Cravo, tendo, no geral, uma tendência a desenvolver grandes lesões indicando que possivelmente deverão ter, pelo menos um grande número deles, um baixo nível de resistência. O grupo de híbridos mais promissor para resistência a gomose de tronco é sem dúvida representada pelo grupo de híbridos de Trifoliata x Sunki e seus recíprocos.

5. Quanto a podridão de raízes, os Trifoliatas Davis A e Rich 16-6 bem como citrumelo Swingle se mostraram altamente tolerantes enquanto o limão Cravo, tangerina SuenKat , limão Volkameriano e a Azeda apresentaram um nível de tolerância moderada, já as tangerina Cleópatra, Sunki, se mostraram moderadamente intolerantes. Os híbridos de Sunki e limão Cravo apresentaram-se, na grande maioria, intolerantes, enquanto os híbridos de trifoliata. Os híbridos de Trifoliata e de Azeda têm um nível de tolerância muito variado apesar de alguns deles serem mais tolerantes sem, no entanto, atingirem o nível dos Trifoliatas e do citrumelo Swingle.
6. O teste de inoculação de raízes em substrato de argila expandida, e a metodologia de avaliação utilizada, deram excelentes resultados, separando muito bem o comportamento dos clones e das diferentes progênies nucelares dos híbridos de forma simples e eficaz, sendo inédito na literatura.
7. Em termos do melhoramento genético de porta-enxerto de citros, os híbridos estudados representam uma excelente população para se efetuar seleções visto a variabilidade genética existente. Em relação à resistência conjunta à gomose de tronco e à podridão de raízes causada por *Phytophthora*, os híbridos mais promissores são aqueles entre *Poncirus trifoliata* Davis A e a tangerina Sunki 200 assim como os seus recíprocos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFEK, U. & SZTEJNBERG, A. 1988. Accumulation of scoparone, a phytoalexin associated with resistance of citrus to *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology*. 78(12):1678 -1682.
- AFEK, U. & SZTEJNBERG, A & CARMELY, S. 1986. 6,7- Dimethoxycoumarin, a citrus phytoalexin conferring resistance against *Phytophthora gummosis*. *Phytochemistry*. 25(8):1855-1856.
- AFEK, U. & SZTEJNBERG, A. 1989. Effects of foseetyl-AL and phosphorous acid on scoparone, a phytoalexin associated with resistance of citrus to *Phytophthora*. *Phytopathology*. 79(7): 736 -739.
- ALENCAR, J. 1941. Podridão do pé dos citrus. Boletim nº6. Escola Superior de Agricultura de Minas Gerais. Viçosa.
- BALLVÉ, R.M.L.; MEDINA FILHO, H.P. & BORDIGNON, R. 1997. Identification of reciprocal hybrids in citrus by the broadness of the leaf petiole wing. Brazil. *J.Genet.* 20(4):697-702.
- BALLVÉ, R.M.L.; MEDINA FILHO, H.P.; BORDIGNON, R. & LIMA, M.M.A. 1995. Methodology for starch gel electrophoresis and protocols for isozyme of 32 plant genera. Brazil. *J. Genet.* 18(3): 441-502.
- BIELLENIN, A.; JEFFERS, S.N.; WILCOX,W.F. & JONES, A.L.1988. Separation by protein electrophoresis of six species of *Phytophthora* associated with deciduous fruit crops. *Phytopathology*. 78(11):1402-1408.

- BORDIGNON, R. 1995. Híbridões interespecíficas, intergenéricas, intergrupais, intersubtribais e interfamiliares de *Citrus* e Gêneros relacionados. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 104p.
- BORDIGNON, R. 2000. Características agronômicas e tolerância à tristeza de híbridos entre porta-enxertos elite de citros. Dissertação (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 164p.
- BRASIER, C.M. & HANSEN, E.M. 1992. Evolutionary biology of *Phytophthora*. Part II: Phylogeny, speciation, and population structure. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30:173-200.
- BRASIER, C.M. 1983. Problems and prospects in *Phytophthora* research. In: *Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology, and pathology*. (D.C. Erwin, S.Bartnicki-Garcia & P.H. Tsao, eds.) APS Press. The American Phytopathological Society. p. 351-364.
- BRASIER, C.M. 1992. Evolutionary biology of *Phytophthora*. Part I: Genetic system, sexuality and the generation of variation. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30:153-171.
- BROADBENT, P. 1969. Observation on the mode of infection of *Phytophthora citrophthora* in resistant and susceptible citrus rootstocks. *Proc. Int. Citrus Symp.* 1. 3:1207-1210.
- CAMERON, J.W; KLOTZ, L.J. DeWOLFE, T.A. & SOOST, R.K. 1972. Estimates of the resistance of *Citrus x Poncirus* hybrids to feeder root infection by *Phytophthora spp* by a greenhouse seedling test. *Plant Disease Reporter.* 56:927-931.
- CARPENTER, J.B & FURR, J.R. 1962. Evaluation of tolerance to root rot caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of *Citrus* an related genera. *Phytopathology.* 52: 1277-1285.

- ÉRSEK, T.; ENGLISH, J.T.; SHOELZ, J.E. 1995. Creation of species hybrids of *Phytophthora* with modified host ranges by zoospore fusion. *Phytopathology*. 85 (11):1343 -1347.
- FAWCETT, H.S. & BITANCOURT, A.A. 1940. Occurrence, pathogenicity and temperature relations of *Phytophthora* species on citrus in Brazil and other south american countries. *Arq. Instituto Biológico*. 11:107-121.
- FAWCETT, H.S. 1936. Citrus disease and their control. 2^a. ed. Mcgraw Hill Co. New York. 656p.
- FAWCETT, H.S. 1923. Gummosis of citrus. *J. Agric. Res.* 24:191-236.
- FEICHTENBERGER, E. 1982. Aplicação de eletroforese de disco na classificação de fungos do gênero *Phytophthora*. In: São Paulo. Instituto Biológico. Pesquisa em *Citrus* n° 2. São Paulo. p 42-43.
- FEICHTENBERGER, E. 1990. Gomose de *Phytophthora* dos citros. *Laranja*, 11(1):97-122.
- FEICHTENBERGER, E. 1996. Manejo ecológico de gomose de *Phytophthora* dos citros. *Rhodia Agro*. São Paulo. 41 p.
- FEICHTENBERGER, E.; DE MUNTANER, A.C.; ROSSETTI, V.; LEITE, Y.R.; POMPEU JÚNIOR, J. & TEÓFILO SOBRINHO, J. 1975 a. Estudo comparativo da resistência à *Phytophthora* spp, de quatro híbridos de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. com copa de laranja Hamlin. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 3, Rio de Janeiro. Anais. Vol 1, p. 141-146.
- FEICHTENBERGER, E.; DE MUNTANER, A.I.C.; ROSSETTI, V.; LEITE, Y.R.; POMPEU JÚNIOR, J. & TEÓFILO SOBRINHO, J. 1975 b. Estudo comparativo da

- resistência à gomose de *Phytophthora* dos porta-enxertos de *Citrus volkameriana* Ten. e Pasq. e *C. Karna* Raf. com diferentes variedades de copas. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 3, Rio de Janeiro. Anais. Vol. 1, p. 155 -167.
- FELD, S.J.; MENGE, J.A. & PEHRSON, J.E. 1979. Brown rot of citrus: A review of the disease. *Citrograph*, 3, p. 101-106.
- FROST, H.B. & SOOST, R.K. 1968. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: *The Citrus Industry* (W. Reuter, L.D. Batchelor & W.J. Webber, eds.), Vol. II. Univ. of California, Berkeley.
- GALLEGY, M.E. 1983. New criteria for classifying *Phytophthora* and critique of existing approaches. In: *Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology, and pathology*. (D.C. Erwin, S.Bartnicki-Garcia & P.H. Tsao, eds.) APS Press. The American Phytopathological Society. p. 167-172.
- GRAHAM, J.H. 1990. Evaluation of tolerance of citrus rootstocks to *Phytophthora* root rot in Chlamydo-spore infested soil. *Plant Disease*. 74(10): 743-746.
- GRAHAM, J.H. 1995. Root regeneration and tolerance of citrus rootstocks to root rot caused by *Phytophthora nicotianae*. *Phytopathology*. 85(1): 111-117.
- GRAHAM, J.H.; TIMMER, L.W.; DROUILLARD, D.L. & PEEVER, T.L. 1998. Characterization of *Phytophthora* spp. causing outbreaks of citrus brown rot in Florida. *Phytopathology*. 88(7):724-729.
- GRIMM, G.R. & HUTCHISON, D.J. 1973. A procedure for evaluating resistance of citrus seedlings to *Phytophthora parasitica*. *Plant Disease Reporter*. 57(8): 669-672.
- GRIMM, G.R. & TIMMER, L.W. 1981. Control of *Phytophthora* foot rot and root rot. *Citrus industry*. 62(10):34 -39.

- HICKMAN, C.J. 1970. Biology of *Phytophthora* zoospores. *Phytopathology*. 60: 1128-1134.
- HODGSON, R.W. 1961. Taxonomy and nomenclature in *Citrus*. *Proc. Int. Org. Citrus Virol.*, 2. Florida p. 1-7.
- HUTCHISON, D.J. & GRIMM, G.R. 1973. Citrus clones resistant to *Phytophthora parasitica*. Screening results. *Proc. Fla. Sta. Hort. Soc.*, 86: 88-91.
- KAOSIRI, T.; ZENTMEYR, G.A. & ERWIN, D.C. 1998. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytophthora palmivora* isolates from cacao. *Can. J. Bot.*, 56:1730-1738.
- KLOTZ, L.J. & FAWCETT, H.S. 1930. The relative resistance of varieties and species of citrus to *Phythiacystis* gummosis and other bark diseases. *J. Agric. Res.* 41: 415-425.
- KLOTZ, L.J.; DeWOLFE, T.A. & WONG, P.P. 1958. Decay of fibrous roots of citrus. *Phytopathology*. 48:618-622.
- KLOTZ, L.J.; STOLZY, L.H.; LABANAUSKAS, C.K. & De WOLF, T.A. 1971. Importance of *Phytophthora spp.* and aeration in root rot and growth inhibition of orange seedlings. *Phytopathology*. 61(2): 1342-1346.
- LUTZ, A.L. & MENGE, J.A. 1991. Population fluctuations and the numbers and types of propagules of *Phytophthora parasitica* that occur in irrigated citrus groves. *Plant Disease*. 75(2): 173-179.
- LUTZ, A.L.; MENGE, J.A. & FERRIN, D.M. 1991. Increased germination of propagules of *Phytophthora parasitica* by heating citrus soils sampled during winter. *Phytopathology*. 81(8):865-872.

- MATHERON, M.E & MATEJKA, J.C. 1988. In vitro activity of sodium tetrathiocarbonate on sporulation and growth of six *Phytophthora* species. *Phytopathology*. 78(9): 1234-1237.
- MATHERON, M.E.; WRIGHT, G.C. & PORCHAS, M.1998. Resistance to *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica* and nursery characteristics of several citrus rootstocks. *Plant Disease*. 82(11): 1217-1225.
- NEWHOOK, F.J.; WATERHOUSE, G.M. & STAMPS, D.J. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycol. Pap.* 143. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, Surrey, England. 20p.
- OUDEMANS, P. & COFFEY, M.D. 1991. A revised systematic of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycol. Res.* 95(9): 1025-1046.
- POMPEU JÚNIOR, P. 1991. Porta- Enxertos. In: *Citricultura Brasileira*, (RODRIGUES, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A.A. eds) 2º edição. Vol 1. Fundação Cargil, p. 265-280.
- ROSSETTI, V. & BITANCOURT, A.A. 1951. Estudos sobre a “gomose de *Phytophthora*” dos citrus II. Influência do estado de vegetação do hospedeiro nas lesões experimentais. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 20: 73-93.
- ROSSETTI, V. & MUSUMECI, M.R. 1962. Influência da variedade da copa de plantas cítricas sobre o comportamento do porta-enxerto com relação à gomose de *Phytophthora*. *Ciência e Cultura*, 14(3): 182.
- ROSSETTI, V. 1947a. Estudos sobre “gomose de *Phytophthora*” dos Citrus I. Suscetibilidade de diversas espécies cítricas a algumas espécies de *Phytophthora*. *Arq. Inst. Biol.* São Paulo, 18: 97-124.

- ROSSETTI, V. 1947b. Porta-enxertos de Citrus resistentes à gomose de *Phytophthora* e à tristeza. *O Biológico*, São Paulo, 13(5): 89-90.
- ROSSETTI, V. 1969. Studies on *Phytophthora* species on *Citrus* in Brazil. *Proc. Int. Citrus Symp.* 1, 3: 1211-1216.
- ROSSETTI, V. 1991. Doenças dos citros. In: *Citricultura Brasileira*, (RODRIGUES, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A.A. eds) 2º edição. Vol 2. Fundação Cargil, p. 668-714.
- ROSSETTI, V.; FEICHTENBERGER, E.; DE MUNTANER, A.C.; ROSSETTI, V.; LEITE, Y.R.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JÚNIOR, J. 1975. Comportamento de 13 seleções de laranja Pêra com diferentes variantes de tristeza, com relação à gomose de *Phytophthora*. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 3. Anais. Vol. 1, p. 147-154.
- ROSSETTI, V.; FEICHTENBERGER, E.; SALIBE, A.A. 1982. Interferência entre doenças dos citros. In: São Paulo. Instituto Biológico. *Pesquisa em Citrus* nº 2. São Paulo. p. 40-41.
- SANDLER, H.A.; TIMMER, L.W. & GRAHAM, J.H. 1987. Effect of systemic fungicides on *Phytophthora* populations, feeder rot densities, and yield of citrus. *Phytopathology*. 60:1120 -1127.
- SCHMITTHENNER, A.F. & CANADAY, C.H. 1983. Role of chemical factors in development of *Phytophthora* diseases. In: *Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology, and pathology*. (D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and P.H. Tsao, eds). APS Press. The American Phytopathological Society. 189-196.

- SMITH, G.S.; HUTCHISON, D.J. & HENDERSON, C.T. 1987. Screening sweet orange citrus cultivars for relative susceptibility to *Phytophthora* foot rot. Proc. Fla. State Hort. Soc. 100: 64-66.
- STOLZY, L.H.; MOORE, P.W.; KLOTZ, L.J; DeWOLFE, T.A. & SZUSZKIEWICZ, T.E. 1960. Effects of *Phytophthora* spp. on water used by citrus seedlings. Am. Soc. Hort. Sci. 76:241-244.
- SULISTYOWATI, L. & KEANE, P.J. 1992. Effect of soil salinity and water content on stem rot caused by *Phytophthora citrophthora* and accumulation of phytoalexin in citrus rootstocks. Phytopathology. 82(7): 771-777.
- SWINGLE, W.T. & REECE, P.C. 1967. The botany of *Citrus* and its wild relatives. In: The Citrus Industry (W. Reuter; L.D. Batchelor. & W.J. Webber, eds) Vol. I Univ. Calif. Press, Berkeley. p. 190-430.
- TANAKA, T. 1954. Species problem in Citrus. Japanese Society for the Promotion of Sciences, Ueno, Tokio. 152p.
- TIMMER, L.W. & MENGE, J.A. 1988. *Phytophthora*-induced diseases. In: Compendium of Citrus diseases. (J. O. Whiteside, S.M. Garnsey and L.W. Timmer, eds). APS Press, The American Phytopathological Society. 22-24p.
- TIMMER, L.W. 1991. Identification and control of *Phytophthora* diseases. Citrus Industry 4:73-75.
- TIMMER, L.W.; ZITKO, S.E.; SANDLER, H.A. & GRAHAM, J. H. 1989. Seasonal and spatial analysis of populations of *Phytophthora parasitica* in citrus orchards in Florida. Plant Disease. 73(10): 810-813.

- TSAO, P.H. & OSTER, J.J. 1981. Relation of ammonia and nitrous acid to suppression of *Phytophthora* in soils amended with nitrogenous organic substances. *Phytopathology*. 71(1): 53-59.
- TUCKER, C.M. 1931. Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary. Univ. Mo. Res. Bul. 153. 208 pp.
- WATHERHOUSE, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycol. Pap. 92. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England. 22 pp.
- WATHERHOUSE, G.M.; NEWHOOK, F.J. & STAMPS, D.J. 1983. Present criteria for classification of *Phytophthora*. In: *Phytophthora, its biology, taxonomy, ecology, and pathology*. (D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia & P.H. Tsao, eds.) APS Press. The American Phytopathological Society. p. 139-147.
- WHITESIDE, J.O. 1970. Factors contributing to the restricted occurrence of citrus brown rot in Florida. *Plant Disease Reporter* 54(7): 608-612.
- WHITESIDE, J.O. 1974. Zoospore inoculation techniques for determining the relative susceptibility of citrus rootstocks to root rot. *Plant Disease Reporter*. 58: 713-717.
- WIDMER, T.L.; GRAHAM, J.H. & MITCHELL, D.J. 1998. Histological comparison of fibrous root infection of disease tolerant and susceptible citrus hosts by *Phytophthora nicotianae* and *P. palmivora*. *Phytopathology*. 88(5): 389-395.
- ZENTMEYER, G.A. & ERWIN, D.C. 1970. Development and reproduction of *Phytophthora*. *Phytopathology*. 60:1120-1127.
- ZITKO, S.E. & TIMMER, L.W. 1994. Competitive parasitic abilities of *Phytophthora parasitica* and *P. palmivora* on fibrous roots of citrus. *Phytopathology*. 84(10): 1000-1004.

ZITKO, S.E.; TIMMER, L.W. & SANDLER, H.A. 1991. Isolation of *Phytophthora palmivora* pathogenic to citrus in Florida. Plant Disease. 75(5): 532-535.