



Reação de porta-enxertos cítricos à população K_5 de *Pratylenchus jaehni*

Mauro F. Bonfim Junior¹, Cláudio Marcelo G. de Oliveira² & Mário M. Inomoto¹

¹Departamento de Fitopatologia e Nematologia, ESALQ, Universidade de São Paulo, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil;

²Instituto Biológico, 13001-970, Campinas, SP, Brasil

Autor para correspondência: Mauro F. Bonfim Junior, e-mail: mfjunior@esalq.usp.br

RESUMO

Pratylenchus jaehni tem sido relatado como o principal nematoide causador de perdas em cítricos no Brasil. Considerando os relatos de semelhanças e diferenças observadas entre populações da espécie, avaliou-se a reação hospedeira de porta-enxertos cítricos frente à população K_5 de *P. jaehni*, com o objetivo de comparar com aquela observada na literatura para topótipos da espécie. Foram realizados dois experimentos, com populações iniciais de 180 e 200 espécimes por planta, respectivamente. Em cada experimento, a avaliação foi realizada em dois períodos: no experimento 1 aos 120 e 245 dias após a inoculação (DAI), e no experimento 2 aos 60 e 240 DAI. As variáveis mensuradas foram o fator de reprodução [FR = população final (Pf) / Pi] e o número de nematoides por grama de raízes (N/g). A população do nematoide foi reduzida (FR = 0,00 a 0,02) em trifoliata 'Limeira', laranja-azedada, citrange 'Carrizo', tangerina 'Cleópatra', tangerina 'Sunki', limão 'Volkameriano' e citrumelo 'Swingle'; mas ocorreu aumento populacional (FR = 1,89 a 22,28) no limão-cravo em ambas avaliações do experimento 1 e na segunda avaliação do experimento 2. A reação de cada porta-enxerto cítrico avaliado quanto à população K_5 foi muito semelhante àquela, relatada na literatura, para topótipos (C_1) de *P. jaehni*.

Palavras-chave: fator de reprodução, limão-cravo, resistência.

ABSTRACT

Host status of citrus rootstocks for the population K_5 of *Pratylenchus jaehni*

Pratylenchus jaehni has been reported as the main nematode in Brazilian citrus orchards due to the economic losses it causes. Considering the reports of differences and similarities in populations from that species, the host reaction of citrus rootstocks to K_5 population of *P. jaehni* was evaluated and compared with topotypes of the species. Two experiments were carried out with initial population (Pi) of 180 and 200 specimens per plant. In each experiment, the evaluation was carried out in two periods: at 120 and 245 days after inoculation (DAI) in experiment 1 and at 60 and 240 DAI in experiment 2. The variables obtained were the reproduction factor [RF = final population (Pf)/Pi] and nematodes per gram of roots (N/g). The nematode density was reduced (RF = 0.00 to 0.02) in trifoliata 'Limeira', sour orange, citrange 'Carrizo', 'Cleopatra' tangerine, 'Sunki' tangerine, 'Volkameriano' lemon and citrumelo 'Swingle'; but the nematode density increased (RF = 1.89 to 22.28) in Rangpur lime in both periods of experiment 1 and in the second period of experiment 2. Therefore, the host reaction of citrus rootstocks to K_5 was very similar to that reported to topotypes of *P. jaehni* in the literature.

Key words: Rangpur lime, reproduction factor, resistance.

Populações de nematoides atualmente identificadas como *Pratylenchus coffeae* apresentam amplas diversidades morfológica, morfométrica, molecular e com relação à habilidade de parasitismo em plantas hospedeiras, o que é indício da ocorrência de um complexo de espécies dentro do grupo (Wilcken et al., 2008). Silva & Inomoto (2002) relataram que a população K_5 , primeiramente identificada como *P. coffeae*, não foi capaz de se reproduzir em limão-cravo (*Citrus limonia*). Este resultado foi confirmado por Demant (2004), trabalhando com K_5 e duas populações de *P. jaehni*, espécie causadora de elevadas perdas em cítricos no Brasil (Calzavara, 2007). As duas populações de *P. jaehni* estudadas, ao contrário de K_5 , multiplicaram-se no limão-cravo. Wilcken et al. (2008) apontaram a existência de diferenças morfométricas e moleculares (RAPD) entre K_5 e populações de *P. jaehni*.

Entretanto, tal resultado diverge daqueles obtidos por Oliveira et al. (2009), que além de aplicarem a técnica do código de barras do DNA, sequenciaram e analisaram a região D_2/D_3 do DNA ribossômico de K_5 e de outras populações identificadas como *P. coffeae* ou *P. jaehni*. De acordo com Oliveira et al. (2009), como K_5 alinhou-se filogeneticamente a *P. jaehni*, com identidade genética de 99%, esta população deve ser considerada coespecífica com *P. jaehni*.

Alguns porta-enxertos cítricos já foram testados quanto à reação topótipos de *P. jaehni* (C_1), coletados de limão-cravo (Calzavara et al., 2007). Entretanto, não se tem conhecimento de estudos sobre a reação de tais cítricos à população K_5 , proveniente de cafeeiro arábico. Levando-se também em consideração os relatos de semelhanças e diferenças moleculares observadas entre tais populações,

objetivou-se com o presente trabalho determinar a reação de porta-enxertos cítricos frente à população K_5 de *P. jaehni* e comparar com topótipos da espécie.

A população K_5 de *P. jaehni* utilizada no presente estudo foi obtida de raízes de cafeeiro arábico, coletadas em Marília (SP), em 1998 (Silva & Inomoto, 2002). Inicialmente K_5 foi mantida em calos de alfafa (Riedel et al., 1973). Depois passou a ser multiplicada em plantas de sorgo granífero (*Sorghum bicolor*) híbrido Sara, cultivadas em vasos contendo 1500 cm³ de solo (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila) em casa de vegetação. Para a obtenção dos inóculos a serem utilizados nos experimentos, os nematoides foram extraídos das raízes de sorgo pelo método do funil de Baermann modificado para recipiente raso (Hooper, 1986), ajustando-se as suspensões para conter 180 (experimento 1) ou 200 espécimes (experimento 2).

Ambos os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação da área experimental do Laboratório de Nematologia de Plantas do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP – 22° 42’S, 47° 38’W, 546m de altitude). As médias das temperaturas mínimas e máximas diárias no interior da casa de vegetação ficaram, respectivamente, em 16,5 e 34,1°C e em 15,8 e 33,4°C, no primeiro e no segundo experimento.

No primeiro experimento, conduzido no período de setembro/2008 a janeiro/2009, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com oito tratamentos (Tabela 1), dois períodos de avaliação, 120 e 245 dias após a inoculação (DAI), e seis repetições. A unidade experimental correspondeu a uma planta por recipiente. O sorgo ‘Sara’ foi incluído, para atestar a viabilidade do inóculo.

Após serem podadas para ficarem com 10 cm de altura e 24 a 28 folhas, mudas de sete porta-enxertos cítricos (Tabela 1), com seis meses de idade, foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 500 cm³, contendo 450 cm³ de solo autoclavado (121°C

por 2 horas). A inoculação ocorreu aos 22 dias após o transplantio, vertendo-se uma suspensão aquosa de 1mL, com concentração de 90 nematoides/mL, em cada um de dois orifícios abertos no solo a cerca de 1 cm de distância do colo de cada uma das plantas. No caso do sorgo, as sementes foram colocadas para germinar diretamente nos vasos e a inoculação ocorreu 7 dias após o desbaste.

No segundo experimento, implementado no período de março a novembro/2009, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (Tabela 2), duas épocas de avaliação (60 e 240 DAI) e seis repetições. Cada parcela correspondeu a uma planta por recipiente. Este experimento teve como objetivo principal confirmar a resistência, verificada no experimento 1, do trifoliata ‘Limeira’ à população K_5 de *P. jaehni*. Além deste porta-enxerto cítrico, também foram incluídos o citrumelo ‘Swingle’, em razão do seu atual elevado valor comercial (Cantagallo et al., 2005), o limão-cravo e o sorgo ‘Sara’ (padrão de suscetibilidade).

Mudas das espécies cítricas com quatro meses de idade e sem sofrerem poda foram transplantadas, conforme descrito para o experimento 1. A inoculação (200 espécimes do nematoide/planta) foi efetuada aos 15 dias após o transplantio dos cítricos e 7 dias após o desbaste do sorgo, empregando os mesmos procedimentos adotados no experimento anterior.

Em ambos os experimentos, as avaliações consistiram na estimativa do número de nematoides extraídos de todo o solo das parcelas (Jenkins, 1964) e de amostras de 10 g de raízes (Coolen & D’Herde, 1972). A quantificação dos nematoides foi realizada com o auxílio de lâmina de Peters e microscópio óptico. A população final total do nematoide na parcela (Pf) foi obtida pela soma das populações presentes no solo e nas raízes. De posse destes valores, calcularam-se os FR (Pf/Pi) em cada parcela e para cada um dos genótipos (sete porta-enxertos cítricos e o sorgo ‘Sara’) avaliados. Adicionalmente, foi determinado o número de nematoides

TABELA 1 - Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K_5) em porta-enxertos cítricos e número de nematoides por grama de raízes frescas (N/g), aos 120 e 245 dias após a inoculação

Tratamentos	120 dias ¹		245 dias ¹		Reação
	FR	N/g	FR	N/g	
Limão-cravo	3,66	64	22,28	316	Suscetível
Trifoliata ‘Limeira’	0,02	1	0	0	Resistente
Laranja-azedada	0	0	0	0	Resistente
Citrange ‘Carrizo’	0	0	0	0	Resistente
Tangerina ‘Cleópatra’	0	0	0	0	Resistente
Tangerina ‘Sunki’	0	0	0	0	Resistente
Limão ‘Volkameriano’	0	0	0	0	Resistente
Sorgo ‘Sara’	106,20	1542	1329,87	10586	Suscetível

¹Média de seis repetições; Pi= 180 (adultos + juvenis).

TABELA 2 - Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K_5) em porta-enxertos cítricos e número de nematoides por grama de raízes frescas (N/g), aos 60 e 240 dias após a inoculação

Tratamentos	60 dias ¹		240 dias ¹		Reação
	FR	N/g	FR	N/g	
Limão-cravo	0,02	1	1,89	38	Suscetível ²
Trifoliata 'Limeira'	0	0	0	0	Resistente
Citrumelo 'Swingle'	0	0	0	0	Resistente
Sorgo 'Sara'	1,44	10	394,6	3228	Suscetível

¹Média de seis repetições; Pi= 200 (adultos +juvenis); ²na avaliação realizada aos 60 dias, comportou-se como resistente.

por grama de raízes (N/g). Como proposto por Oostenbrink (1966), genótipos com FR médio <1,0 foram considerados resistentes. Ao contrário (FR ≥1,0), foram taxados como suscetíveis.

Em ambas as épocas de avaliação do experimento 1, exceto para o limão-cravo, ocorreu redução populacional de *P. jaehni* (K_5) nos porta-enxertos cítricos testados (Tabela 1). Na primeira época de avaliação do experimento 2, todos os porta-enxertos apresentaram FR < 1, porém foram detectados alguns espécimes do nematoide nas raízes de limão-cravo. Na segunda avaliação deste experimento, verificou-se aumento populacional (FR=1,89) de *P. jaehni* (K_5) em limão-cravo (Tabela 2). Em todas as épocas de avaliação de ambos os experimentos, os FR do nematoide no sorgo 'Sara' foram superiores a 1, confirmando assim a boa viabilidade dos inóculos utilizados.

Em todas as avaliações, a média da variável N/g no limão-cravo foi inferior à do sorgo, mas superior às médias dos demais porta-enxertos. Portanto, com base no N/g, o limão-cravo pode ser considerado um hospedeiro menos favorável que sorgo a *P. jaehni* (K_5). Os porta-enxertos tangerina 'Cleópatra', tangerina 'Sunki', trifoliata 'Limeira', citrange 'Carrizo', laranja-azedada, limão 'Volkameriano' e citrumelo 'Swingle' não hospedaram a população K_5 . A diferença observada entre o hospedeiro-padrão (sorgo) e o limão-cravo indica que K_5 é mais adaptada ao parasitismo da gramínea. No experimento 1, observou-se que alguns indivíduos do nematoide foram capazes de penetrar em raízes de trifoliata 'Limeira', entretanto não houve aumento da população (FR=0,02). No período experimental de 60 dias, à exemplo do verificado por Silva e Inomoto (2002), ocorreu redução populacional de K_5 em limão-cravo. Entretanto, aos 120 dias após a inoculação detectou-se aumento na população de *P. jaehni* (K_5). Fica claro, portanto, a importância da escolha correta da época de avaliação nesse tipo de estudo.

Os resultados obtidos no presente trabalho, assim como os de Calzavara et al. (2007), demonstram que, em períodos experimentais superiores a 120 dias, as populações C_1 (topótipos) e K_5 de *P. jaehni* apresentam capacidades idênticas de parasitismo em limão-cravo, tangerina

'Cleópatra', citrumelo 'Swingle', tangerina 'Sunki', trifoliata 'Limeira' e citrange 'Carrizo'. A semelhança entre C_1 e K_5 , com relação à habilidade de parasitar, também foi observada em outras espécies vegetais. Milheto, soja e milho são relatados como hospedeiros de C_1 e K_5 , enquanto que o amendoim e algodão comportam-se como não hospedeiros de ambas as populações (Silva & Inomoto, 2002; Calzavara, 2007). Reações diferentes às populações C_1 e K_5 de *P. jaehni* foram observadas para o sorgo (Silva & Inomoto, 2002; Calzavara, 2007). Esta cultura reduziu a população de C_1 (FR=0,96) e aumentou a de K_5 . A diferença entre C_1 e K_5 , com relação ao parasitismo é mais evidente no cafeeiro arábico. Este não é hospedeiro de C_1 , mas multiplica a população K_5 (Silva & Inomoto, 2002; Demant, 2004). Dessa maneira, sugere-se que tais populações sejam denominadas como raças de *P. jaehni*, diferenciáveis com base na reação de *Coffea arabica*.

Do ponto de vista prático, os presentes resultados indicam que precauções devem ser tomadas ao se implantar pomares cítricos com limão-cravo em áreas anteriormente cultivadas com cafeeiros. Caso tais lavouras de café estejam infestadas com a população K_5 de *P. jaehni*, provavelmente haverá danos no limão-cravo cultivado na sequência. A escolha adequada do porta-enxerto é uma solução para o problema.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo apoio financeiro e ao Engenheiro Agrônomo Rafael Bordignon, da empresa Citrograf, pela concessão das mudas de citros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calzavara AS (2007) Descrição dos sintomas de laranjeiras infectadas por *Pratylenchus jaehni*, resistência de porta-enxertos, faixa de hospedeiros e desenvolvimento de plantas jovens inoculadas. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal SP.
- Calzavara AS, Santos JM, Favoreto L (2007) Resistência de porta-enxertos cítricos a *P. jaehni* (Nematoda:Pratylenchidae). *Nematologia Brasileira* 31:7-11.
- Cantagallo FS, Azevedo FA, Schinor EH, Mourão Filho FAA, Mendes BMJ (2005) Micropropagação de citrumelo 'Swingle' pelo cultivo *in vitro* de gemas axilares. *Revista Brasileira de Fruticultura* 27:136-138.
- Coolen WA, D'Herde CJ (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, State Nematology and Entomology Research Station.
- Demant CAR (2004) Reprodução de *Pratylenchus coffeae* e *P. jaehni* em citros e cafeeiro. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista. Botucatu SP.
- Hooper DJ (1986) Extraction of free-living stages from soil. In: Southey JF (Ed.) *Laboratory methods for work with plant and soil*

nematodes. London UK. Her Majesty's Stationery Office. pp. 5-30.

Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692.

Oliveira CMG, Kubo RK, Harakava R (2009) Diagnose de *Pratylenchus* spp. de cafezais paulistas pela aplicação da tecnologia do código de barras do DNA. In: Anais, Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Vitória ES. CD-ROM.

Oostenbrink M (1966) Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededeelingen der Landbouwhogeschool* 66:1-46.

Riedel RM, Foster JG, Mai WF (1973) A simplified medium for monoxenic culture of *Pratylenchus penetrans* and *Ditylenchus dipsaci*. *Journal of Nematology* 5:71-72.

Silva RA, Inomoto MM (2002) Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. *Journal of Nematology* 34:135-139.

Wilcken SRS, Mori ES, Bacci M, Ferraz LCCB, Oliveira CMG, Inomoto MM (2008) Relationships among *Pratylenchus jaehni* and *P. coffeae* populations from Brazil. *Nematologia Brasileira* 32:194-199.

TPP 144 - Recebido 28 Junho 2010 - Aceito 3 Fevereiro 2011
Editor de Seção: Rosângela D'Arc Lima