

# Tolerância de Híbridos e de Clones de Porta-Enxertos de Citros à Infecção de Raízes por *Phytophthora nicotianae*

Herculano P. Medina Filho<sup>1\*</sup>, Rita Bordignon<sup>1</sup>, Walter J. Siqueira<sup>1</sup>, Eduardo Feichtenberger<sup>2</sup> & Marli R. T. Carvalho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Agronômico, Cx. Postal 05, 28, CEP 13001-970, Campinas, SP, e-mail: medina@iac.sp.gov.br; <sup>2</sup>Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba, Rua Antonio G. Morgado, 340, CEP 18013-440, Sorocaba, SP

(Aceito para publicação em 06/01/2004)

Autor para correspondência: Herculano P. Medina Filho

MEDINA FILHO, H.P., BORDIGNON, R., SIQUEIRA, W.J., FEICHTENBERGER, E. & CARVALHO, M.R.T. Tolerância de híbridos e de clones de porta-enxertos de citros à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae*. Fitopatologia Brasileira 29:169-178. 2004.

## RESUMO

Estudaram-se clones de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.), híbridos e genitores quanto à tolerância das raízes a *Phytophthora nicotianae* através de inoculações em substrato de argila expandida. Investigaram-se progêneses nucelares dos clones *Poncirus trifoliata* 'Rich 16-6', citrumelo 'Swingle' (*C. paradisi* x *P. trifoliolata*), tangerinas 'Cleópatra' (*Citrus reshni*) e 'Suen Kat' (*C. sunki*), limão 'Volkameriano' (*C. volkameriana*), dos genitores tangerina 'Sunki' (*C. sunki*) (S), limão 'Cravo' (*C. limonia*) (C), laranja 'Azeda' (*C. aurantium*) (A), *Poncirus trifoliata* 'Davis A' (T), e progêneses nucelares de híbridos entre eles, totalizando 2303 plântulas. Avaliou-se a taxa de sobrevivência, redução de raízes e partes aéreas, peso de raízes e de partes aéreas, diâmetro do caule e altura, comparando-se plântulas inoculadas e não inoculadas. Atribuíram-se também notas subjetivas para volume de raízes, enfolhamento, coloração das folhas e altura. Desenvolveu-se um índice total de redução (ITR) baseado na taxa de sobrevivência e

nos parâmetros mencionados. Mostraram-se altamente tolerantes os trifoliatas 'Davis A' e 'Rich 16-6', o citrumelo 'Swingle', três híbridos TxS, dois SxT e dois SxA, com ITR < 20%. Laranja 'Azeda', tangerina 'Suen Kat', limões 'Cravo' e 'Volkameriano', oito híbridos TxS, quatro SxT, dois TxA e um SxA mostraram-se tolerantes, com ITR entre 20 e 40%. Três híbridos SxA mostraram-se moderadamente tolerantes, com ITR entre 40 e 60%. Tangerinas 'Sunki' e 'Cleópatra', dois híbridos SxA, um TxA e dois SxC mostraram-se intolerantes, com ITR entre 60 e 80%. Cinco híbridos SxC mostraram-se altamente intolerantes, com ITR > 80%. A metodologia de inoculação e avaliação discriminou com precisão progêneses nucelares dos clones e dos híbridos, evidenciando o potencial de seleção principalmente dos híbridos SxT e recíprocos.

**Palavras-chave adicionais:** *Citrus*, melhoramento, seleção, argila expandida, substrato, podridão de raízes, *Phytophthora parasitica*.

## ABSTRACT

### Tolerance of hybrids and rootstock clones of citrus to root rot infection caused by *Phytophthora nicotianae*

Clones of citrus rootstocks, hybrids and their parents were evaluated for tolerance to root rot incited by *Phytophthora nicotianae*. It were evaluated 'Rich 16-6' Trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*), citrumelo 'Swingle' (*C. paradisi* x *P. trifoliolata*), 'Cleopatra' (*Citrus reshni*) and 'Suen Kat' (*C. sunki*) mandarins, 'Volkamer' lemon (*C. volkameriana*), the parents 'Sunki' mandarin (*C. sunki*) (S), Rangpur lime (*C. limonia*) (C), Sour orange (*C. aurantium*) (A) and 'Davis A' Trifoliolate orange (T), and the nucellar progenies of hybrids between them, in a total of 2303 seedlings maintained in expanded clay. Tolerance was determined by survival rate, root and shoot growth reduction, root and shoot weight, stem diameter, plant height, visual ratings of root volume, shoot growth, leaf color and plant height

comparing inoculated with non inoculated plants. A Total Reduction Index (ITR) based on survival rate and all the other parameters ranked clones and their hybrids. Trifoliolate oranges, 'Swingle' citrumelo, three hybrids TxS, two SxT and two SxA performed as highly tolerant with ITR < 20%. Sour orange, 'Suen Kat' mandarin, 'Volkamer' lemon, Rangpur lime, eight hybrids TxS, four SxT, two TxA and one SxA were tolerant with ITR between 20 and 40%. Three hybrids SxA were moderately tolerant, with ITR between 40 and 60%. 'Sunki' and 'Cleopatra' mandarins, two hybrids SxA, one TxA and two SxC were intolerant, with ITR ranging from 60 to 80%. Five SxC hybrids were highly intolerant with ITR values > 80%. The methodology of inoculation and evaluation discriminated with good precision different levels of tolerance of nucellar progenies of clones and hybrids showing their selection potential, specially of the SxT hybrids and reciprocals.

## INTRODUÇÃO

As doenças têm limitado a utilização de vários porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.) no Brasil e em outros países citrícolas do mundo (Castle *et al.*, 1989). Por volta de 1840,

devido à disseminação generalizada da doença gomose de *Phytophthora*, ou "podridão do pé", incitada por várias espécies de *Phytophthora*, iniciou-se a utilização no Brasil, de plantas cítricas enxertadas. Naquela época, *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (*P. parasitica* Dastur) constituía-se na principal ameaça aos porta-enxertos de citros. A laranja 'Azeda' (*Citrus aurantium* L.), devido a sua tolerância a esse

\* Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

patógeno, principalmente às infecções de tronco, passou então a ser amplamente utilizada como porta-enxerto no país. Contudo, na década de 30, com a introdução do vírus da tristeza dos citros (*Citrus tristeza virus*, CTV), em São Paulo, foi necessária a substituição desse porta-enxerto, devido a intolerância ao CTV. O limão ‘Cravo’ (*C. limonia* Osbeck) passou então a ser utilizado em larga escala no país, devido a sua tolerância e a outras características agrônômicas desejáveis como rusticidade, precocidade e por induzir boa qualidade aos frutos sobre ele produzidos. No Brasil, a incidência e a severidade das doenças causadas por *Phytophthora* spp. têm aumentado consideravelmente nas últimas décadas (Feichtenberger, 1996). Essas doenças são também importantes em vários outros países produtores de citros do mundo (Carpenter & Furr, 1962; Graham, 1990, 1995; Matheron, *et al.*, 1998). *Phytophthora* spp. patogênicas a citros são encontradas com frequência nas inspeções a viveiros comerciais em São Paulo e a utilização de mudas produzidas em viveiros contaminados é a principal responsável pela elevada incidência de doenças incitadas por esses patógenos em cultivos comerciais (Feichtenberger, 1996, 2001). Os patógenos do gênero *Phytophthora* são endêmicos no solo de pomares de citros na maioria das áreas citrícolas do mundo. O uso de mudas livres de *Phytophthora* spp. e a utilização de porta-enxertos tolerantes a esses patógenos constituem-se nas principais medidas de manejo dessas doenças.

As infecções de raízes, em geral, são iniciadas a partir de zoósporos de *Phytophthora* spp., os quais são produzidos e liberados quando há água livre no solo. Os zoósporos nadam para a zona de alongação das raízes ou são atraídos por substâncias produzidas após ferimentos nas mesmas (Lutz *et al.*, 1991). Na superfície das raízes, ou de outros órgãos, germinam e produzem hifas que invadem os tecidos suscetíveis. Podem ainda encistar e, desta forma, permanecerem viáveis no solo por longos períodos (Timmer & Menge, 1988; Lutz & Menge, 1991). Nas sementeiras, podem infetar 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 resultando no tombamento ou “damping off” (Feichtenberger, 1990, 1996). Estudos histológicos de raízes infetadas mostram menor colonização inter e intracelular nos tecidos de porta-enxertos tolerantes do que nos tecidos dos suscetíveis, sugerindo que a tolerância atua na inibição do crescimento de *Phytophthora* spp. (Widmer *et al.*, 1998). A nível bioquímico, várias são as investigações associando compostos tipo fitoalexinas às reações de defesa das plantas cítricas a *Phytophthora* spp., porém, como discutido por Siviero (2001), ainda são pouco estudadas as relações com genótipos específicos. De outra forma, Graham (1990, 1995) estudou variedades de porta-enxertos em relação à infecção de raízes, avaliando a tolerância pela capacidade de regeneração das mesmas na presença de elevadas populações do patógeno. Aparentemente todas as variedades de citros são infestadas em inoculações artificiais (Carpenter & Furr, 1962; Broadbent, 1969; Graham, 1990)

Klotz *et al.* (1958) desenvolveram a metodologia de inoculação de raízes através da imersão do sistema radicular das plantas em água aerada contendo propágulos de *Phytophthora* spp. e também através da manutenção das plantas em solos infestados com o patógeno. Carpenter & Furr (1962) usando estes dois métodos, testaram vários genótipos de *Citrus* spp. e gêneros afins para *P. nicotianae*, estabelecendo níveis de tolerância em função da porcentagem de plântulas sobreviventes. Grimm & Hutchison (1973) e Hutchison & Grimm (1973) inocularam *P. nicotianae* em tecidos de caule e raízes e avaliaram níveis de suscetibilidade através da severidade dos sintomas. Testes em solos infestados, usando diferentes estruturas do patógeno como zoósporos e clamidósporos, foram realizados por Cameron *et al.* (1972) e Whiteside (1974). Não raramente, têm sido relatadas classificações conflitantes acerca do nível de tolerância de alguns genótipos (Castle *et al.*, 1989), fato já observado por Cameron & Frost (1968). De acordo com esses últimos autores, os trabalhos de determinação do nível de tolerância de genótipos foram iniciados na década de 50, através de inoculações de *P. nicotianae* em suspensões aquosas em variedades e híbridos. Desde esses primeiros testes, percebeu-se que vários clones de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., *Severinia* Tenore e *Microcitrus* Swingle constituíam excelentes fontes de tolerância ao patógeno. Muitos de seus híbridos também expressavam, em progênies clonais, um alto grau de tolerância a julgar pela porcentagem de plantas sobreviventes nesses testes de inoculação. De acordo com Furr & Carpenter (1961), essa tolerância seria, aparentemente, do tipo quantitativa, a julgar pelas reações apresentadas por diferentes híbridos de *P. trifoliata*. Estudos de Siviero (2001) em híbridos de trifoliata com tangerina ‘Sunki’ indicaram a natureza quantitativa da resistência à gomose de tronco, tendo sido detectados quatro QTLs associados à resistência. Não se sabe, entretanto, se esses genes, presentes em trifoliata, seriam os mesmos responsáveis pela tolerância à podridão das radículas, pois *P. trifoliata*, sabidamente, apresenta reduzida taxa de infecção em condições de campo e viveiro, assim como em resposta a inoculações experimentais de tronco e raízes. Quanto a laranja ‘Azeda’, é conhecida sua alta resistência à gomose de tronco; porém, é pouco tolerante à podridão de raízes (Furr & Carpenter, 1961; Carpenter & Furr, 1962; Grimm & Hutchison, 1973; Graham, 1990). Para alguns porta-enxertos de citros, nem sempre há boa correlação entre a resistência às infecções de tronco e a tolerância às podridões de raízes por *P. nicotianae* (Furr & Carpenter, 1961). Da mesma forma, a reação de um mesmo clone à infecção por *P. nicotianae* nem sempre se correlaciona com sua reação à *P. citrophthora* (Sm. & Sm.) Leonian (Graham, 1995).

É consenso entre os melhoristas de porta-enxertos de citros (H. K. Wutscher; M. L. Roose, informação pessoal) que os métodos de avaliação da reação a *Phytophthora* spp. que se baseiam na imersão de raízes em uma suspensão contendo propágulos do patógeno são muito drásticos, não permitindo a identificação de materiais com níveis moderados de

tolerância. Por outro lado, o uso de técnicas que se baseiam na manutenção de plantas em substratos de terra e areia esterilizados e infestados, têm difícil padronização e as avaliações dos danos causados pelos patógenos são dificultadas pela aderência desses substratos às raízes das plantas.

A presente investigação teve como objetivos avaliar a tolerância de raízes a *Phytophthora* spp. em diversos clones comerciais de porta-enxertos e várias progênies nucleares de diferentes híbridos entre eles e também testar o substrato argila expandida. Esse substrato, na granulação utilizada, proporcionou, em testes prévios, excelente crescimento radicular, fácil manipulação e a vantagem de não aderir às raízes, permitindo, com isso, sua fácil remoção e perfeita visualização do sistema radicular, sem danificá-lo ou manchá-lo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal e condições experimentais

Foram testadas progênies nucleares de limão 'Cravo', laranja 'Azeda', tangerinas 'Sunki' e 'Suen Kat' (*C. sunki* Hort. ex. Tan.), trifoliatas 'Davis A' e 'Rich 16-6', limão 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. e Pasq.), tangerina 'Cleópatra' (*C. reshni* Hort. ex. Tan.), citrumelo 'Swingle' (*C. paradisi* Macf. x *P. trifoliata*) e algumas progênies nucleares de híbridos entre eles. A identificação dos clones e das progênies nucleares de cada híbrido e o respectivo número de plantas testadas se encontram na Tabela 1.

Após a remoção e lavagem das sementes de frutos maduros, estas foram semeadas em caixas de plástico no Centro Experimental de Campinas do Instituto Agrônomo e, após a germinação, selecionaram-se visualmente as plântulas nucleares, as quais foram então transplantadas para bandejas de isopor contendo o substrato Plantmax (Eucatex) e mantidas por cerca de 12 meses em casa de vegetação. Após nova seleção visual, as plântulas foram retiradas, o substrato removido, as raízes lavadas e podadas uniformemente a 5 cm do colo, sendo então transplantadas para sacos de polietileno de 13 cm de diâmetro e 22 cm de altura, contendo argila expandida (Cinasita 0500), um substrato leve, semi-poroso e estéril. Após o transplante, as plântulas foram semanalmente irrigadas com uma solução contendo 0,9 g.l<sup>-1</sup> de água da formulação NPK, 07-11-27, suplementada com micronutrientes e, adicionalmente, pulverizadas com solução contendo 4 g.l<sup>-1</sup> de nitrocálcio.

As plântulas de cada progênie foram separadas em pares, por similaridade de tamanho, vigor e aspecto vegetativo, sendo uma delas inoculada e a outra mantida como controle, nas mesmas condições, sem inoculação. Todas as plântulas foram colocadas em bancadas de 0,90 x 1,70 m, totalizando 250 por bancada. No total, as plântulas ocuparam dez bancadas sendo cinco inoculadas e cinco controles tendo sido irrigadas duas vezes ao dia até a véspera da inoculação. A temperatura do substrato foi registrada através de dois termógrafos com sensores metálicos, um inserido a 10 cm de profundidade em um saquinho localizado no meio de uma bancada central e, o

**TABELA 1** - Identificação dos clones de porta-enxertos no BAG de citros (*Citrus* spp.) no Centro APTA Sylvio Moreira em Cordeirópolis (\*), dos híbridos em estudo e correspondente número de plântulas nas progênies nucleares testadas para tolerância à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae*

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

outro, no ar, no mesmo local, na altura das mudas. Durante esse período, a temperatura variou de 13,8 à 29 °C no substrato contendo as raízes e, de 11 a 31,4 °C, no ambiente.

Após a inoculação, para homogeneização do ambiente e manutenção de alta umidade relativa, todas as bancadas da casa de vegetação foram cobertas, durante 60 dias, com um filme branco de polipropileno trançado evitando-se, com isso, a transpiração excessiva e a necessidade de regas frequentes.

### Produção de propágulos de *P. nicotianae* e inoculação das plântulas

Na infestação do substrato, utilizou-se o isolado de *P.*

*nicotianae* LRS 30/98 da Micoteca “Victoria Rossetti” da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Sorocaba, da APTA Regional, SAA. Discos de micélio do patógeno crescendo em meio de cultura de cenoura-agar (CA) (Kaosiri *et al.*, 1978) foram retirados das colônias e transferidos para placas de Petri contendo, cada uma, 15 ml desse meio, num total de 300 placas. As placas foram mantidas a 24 °C, no escuro, durante seis dias, até o crescimento do micélio em toda a superfície do meio. Cento e cinquenta dessas placas foram mantidas sob luz fluorescente contínua, durante cinco dias, para promover o desenvolvimento de esporângios, enquanto que as outras 150 continuaram no escuro, à mesma temperatura. Todas as placas foram posteriormente mantidas no escuro, por mais três dias, antes da sua utilização nas inoculações.

O conteúdo das 300 placas assim preparadas contendo diferentes propágulos do patógeno, incluindo micélio, esporângios e clamidósporos, foi homogeneizado em liquidificador por 1 min, diluindo-se essa suspensão com água destilada, até o volume final de 60 l. As plântulas do lote inoculado receberam, cada uma, 50 ml dessa suspensão, volume previamente determinado, suficiente para molhar totalmente as raízes e o substrato de argila expandida, escoando um pequeno excesso pelo fundo de cada saquinho.

#### **Avaliações realizadas**

As avaliações foram feitas 120 dias após as inoculações. Durante esse período, inspecionaram-se algumas plantas para se acompanhar o progresso da infecção, determinando-se a melhor ocasião para se realizar as avaliações descritas a seguir. Quinzenalmente anotou-se o número de plantas mortas em cada progênie, no lote inoculado e no correspondente controle não inoculado. Para as diversas avaliações realizadas, as plantas foram rearranjadas, fora da casa de vegetação, de maneira que ficassem novamente lado a lado, as inoculadas e não inoculadas da mesma progênie, com a finalidade de permitir uma comparação visual criteriosa em cada material genético estudado. A reação das progênies a *Phytophthora* spp. foi avaliada pela morte das plântulas e pelos sintomas tanto na parte aérea quanto nas raízes das sobreviventes.

A parte aérea e as raízes foram avaliadas visual e quantitativamente. Visualmente, foram atribuídas notas subjetivas de 1 a 5 (altamente tolerante a altamente intolerante) para o aspecto geral da parte aérea (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração das folhas (COL), altura das plântulas (ALT) e aspecto geral das raízes (AGR). Cada parâmetro foi avaliado por cinco avaliadores, sempre se comparando, em cada progênie, as plantas inoculadas com os respectivos controles não inoculados. Na análise dos resultados considerou-se, para cada parâmetro, a média das avaliações realizadas pelos cinco avaliadores. Quantitativamente, determinaram-se os pesos frescos de raiz (PFR) e da parte aérea (PFPA), obtidos logo após as avaliações visuais. A seguir determinou-se o diâmetro do caule na região do colo (DIAM) com paquímetro digital e a altura das plantas (ALT) com régua milimetrada.

Com essas diversas avaliações estabeleceu-se um Índice de Redução Visual (IRV) e também um Índice de Redução Quantitativa (IRQ) que, juntamente com a taxa de sobrevivência (TS), foram utilizados para o cálculo do Índice Total de Redução (ITR) de cada material estudado, o qual representa o nível de dano ou o grau de intolerância à infecção de *Phytophthora* spp., que, basicamente se resume na porcentagem de mortalidade acrescida da redução dos diversos parâmetros avaliados nas plantas sobreviventes, expresso pela fórmula:

$ITR = 100 [(1 - TS) + TS (IRQ + IRV)]$ , conforme a explicação que se segue.

Como o efeito mais drástico da doença é, por certo, a morte da planta, a taxa de sobrevivência (TS) foi considerada como o componente principal dentre os vários critérios utilizados. A TS foi calculada proporcionalmente, em relação à sobrevivência das plantas no controle não inoculado, que foi considerada como igual a 100. Adicionalmente, determinou-se, também em relação ao controle, o IRQ como sendo a metade do valor correspondente à média ponderada dos seguintes parâmetros assim considerados: 70 PFR; 10 PFPA; 10 DIAM; 10 ALT. De modo similar, o IRV foi calculado como sendo a metade do valor da média ponderada composta dos seguintes parâmetros: 70 AGR; 7,5 AGPA; 7,5 ENF; 7,5 COL e 7,5 para ALT.

O desenvolvimento da fórmula em questão teve como objetivo aplicar um critério racional tendo como componente principal, a taxa de mortalidade, porém, levando-se em consideração também os efeitos diretos da doença nas raízes das plantas bem como os efeitos reflexos observados na parte aérea das plantas sobreviventes. Tais efeitos, estimados através de parâmetros subjetivos e de parâmetros mensuráveis considerados no cálculo do ITR de forma equitativa tiveram, em cada um deles, o peso maior dado para as avaliações referentes ao próprio sistema radicular ou seja, PFR e AGR, contribuindo, cada um, com 70% do valor do IRQ e IRV, respectivamente.

A análise de variância e o teste t a 5% foram realizados através do software estatístico ORIGIN procedendo-se, complementarmente, a uma análise multivariada através de componentes principais (ACP) com o programa STATITCF.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após dez dias da inoculação, as plântulas das progênies menos tolerantes começaram a apresentar o primeiro sintoma reflexo da doença, com amarelecimento das folhas basais. Gradativamente, esse sintoma foi intensificando-se, estendendo-se às outras folhas, seguindo-se de murcha, seca e finalmente morte das plântulas, a qual foi anotada quinzenalmente a partir dos primeiros 20 dias da inoculação. O período de maior mortalidade ocorreu entre 35 e 65 dias da inoculação. Após este período, estabilizou-se e assim se manteve até os 120 dias.

Entre os clones testados (Tabela 1), a tangerina ‘Sunki’ apresentou a menor porcentagem de sobrevivência (Tabela

5). Esse resultado está de acordo com o observado na prática pelos viveiristas, que consideram 'Sunki' intolerante à podridão de raízes. Nos demais clones testados, exceto 'Cravo', a sobrevivência foi 100% (Tabela 5).

Quanto aos híbridos, as progênes de trifoliata x 'Sunki' e recíprocos foram as que apresentaram as maiores taxas de sobrevivência, sendo que, em ambos os casos, somente em uma de suas progênes foi constatada morte de plantas. Esses resultados estão em concordância com Matheron *et al.* (1998) que observaram, em duas avaliações, uma elevada sobrevivência em híbridos entre tangerina 'Sunki' e trifoliata.

Entre as três progênes de trifoliata x laranja 'Azeda' avaliadas, observou-se mortalidade em apenas uma delas (Tabela 5). É digno de nota que, entre 21 progênes de híbridos de trifoliata, em somente três delas constatou-se mortalidade de plantas, contrastando com as progênes de híbridos de tangerina 'Sunki' que apresentaram mortalidade em 12 das 16 progênes (Tabela 5).

Os resultados das avaliações quantitativas de pesos e medidas (Tabela 2) indicam que, entre os clones, a porcentagem de redução do sistema radicular, relativa ao parâmetro PFR, variou de 3,5%, no trifoliata 'Davis A', a 71,6%, na tangerina 'Cleópatra'. Cabe ressaltar que as plantas de trifoliata ('Davis A' e 'Rich 6-16') apresentaram muito pouca ou nenhuma redução de raízes e da parte aérea. O mesmo se verificou quanto aos parâmetros visuais (Tabela 3) e que se refletem em seus baixos IRQ e IRV. Esses resultados estão de acordo com os observados por Graham (1995), que verificou, em plantas inoculadas, maior capacidade de regeneração de raízes no trifoliata, do que em tangerina 'Cleópatra' ou laranja 'Azeda'.

Da mesma forma, o porta-enxerto de citrumelo 'Swingle', tido como altamente tolerante (Castle *et al.*, 1989) também não apresentou redução acentuada em quaisquer parâmetros quantitativos e visuais avaliados. A tolerância desse clone ao patógeno, evidenciada pelos seus baixos valores de IRQ e IRV (Tabelas 2 e 3), é oriunda do trifoliata, uma vez que o 'Swingle' é um híbrido de *C. paradisi* x *P. trifoliata* sendo, a última espécie intolerante a *Phytophthora* (Feichtenberger, 2001).

Dos clones testados, os que apresentaram maiores reduções nos parâmetros avaliados foram as tangerinas 'Sunki' e 'Cleópatra'. Esse resultado da 'Sunki' é coerente com a classificação usual desse clone (Carpenter & Furr, 1962; Zitko *et al.*, 1991). No caso da tangerina 'Cleópatra', os relatos da literatura são conflitantes (Matheron *et al.*, 1998). Castle *et al.* (1989) consideram-na um porta-enxerto tolerante a *Phytophthora* spp., embora os resultados aqui obtidos mostrem claramente a intolerância desse clone. Seria interessante investigar, entre outras possíveis causas, se a tangerina 'Cleópatra', incluída no presente trabalho, é o mesmo material genético utilizado em estudos realizados em outros países e também, se essa mesma reação variável é observada com relação a outros isolados de *P. nicotianae*.

Os demais clones testados, limão 'Cravo', laranja 'Azeda', limão 'Volkameriano' e tangerina 'Suen Kat',

**TABELA 2** - Porcentagem média 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 (DIAM), da altura da planta (ALT) e correspondente índice de redução quantitativa (IRQ) de plântulas de progênes nucleares de clones e de híbridos de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.), inoculados com *Phytophthora nicotianae*

| PORTA-ENXERTO   | % REDUÇÃO |       |       |       |        |    |
|---|-----------|-------|-------|-------|--------|----|
|   | PFR       | PFPA  | DIAM  | ALT   | IRQ    |    |
| <b>Clones</b>   |           |       |       |       |        |    |
| 'Cravo' ( <i>C. limonia</i> ) (C)                                 | 43,2*     | 39,1* | 15,8* | 14,3  | 18     |    |
| 'Sunki' ( <i>C. sunki</i> ) (S)                                   | 67,2*     | 61,0* | 17,7* | 22,2* | 26     |    |
| Trifoliata 'Davis A' ( <i>P. trifoliata</i> ) (T)                 | 6,7       | +     | +     | +     | 2      |    |
| Trifoliata 'Rich 646' ( <i>P. trifoliata</i> )                    | 3,5       | 13,9  | 12,0  | 2,8   | 2      |    |
| 'Azeda' ( <i>C. aurantium</i> ) (A)                               | 42,6*     | 28,2* | 16,3* | 6,5   | 17     |    |
| 'Cleopatra' ( <i>C. reshni</i> )                                  | 71,6*     | 58,4* | 24,7* | 33,7* | 31     |    |
| 'Volkameriano' ( <i>C. volkameriana</i> )                         | 48,0*     | 40,4  | 11,9  | +     | 20     |    |
| 'Suen Kat' ( <i>C. sunki</i> )                                    | 32,4      | 25,9* | 16,0  | 2,5   | 19     |    |
| Citrumelo 'Swingle' ( <i>C. paradisi</i> x <i>P. trifoliata</i> ) | 14,7      | 9,1   | 3,6   | 4,4   | 6      |    |
| <b>Híbridos</b>   |           |       |       |       |        |    |
| T x S   | 1774      | 74,3* | 64,5  | 30,4  | 38,7   | 33 |
|   | 2245      | 51,6  | 29,5  | +     | 31,3   | 21 |
|   | 2244      | 15,4  | 2,5   | 4,5   | +      | 6  |
|   | 2237      | 42,5  | 21,8  | 19,4  | 7,8    | 17 |
|   | 1777      | 23,3* | 14,2* | 4,5*  | +      | 9  |
|   | 1769      | 28,1  | 14,7  | 8,4   | 5,8    | 11 |
|   | 2197      | 31,0* | 30,4* | 16,9* | 22,4*  | 14 |
|   | 1843      | 50,4* | 35,7* | 7,5*  | 15,2*  | 21 |
|   | 1842      | 37,7* | 71,2  | 27,0  | 36,6   | 19 |
|   | 2202      | 50,7* | 52,7* | 27,0* | 34,9*  | 23 |
|   | 1775      | 52,0  | 37,0  | 21,8* | 21,4*  | 23 |
| S x T   | 2911      | 42,7* | 34,5* | 18,0* | 12,2   | 18 |
|   | 3296      | 35,9* | 14,6  | 8,8*  | 6,2    | 14 |
|   | 3502      | 50,7* | 41,7* | 24,7* | 28,3*  | 23 |
|   | 3501      | 40,0* | 28,6* | 19,1* | 21,6*  | 18 |
|   | 3448      | 20,9  | 20,7  | 3,7   | 4,2    | 9  |
|   | 3449      | 23,0* | +     | 0,3   | +      | 8  |
|   | 2923      | 26,4* | 13,4  | 16,4* | 17,2   | 12 |
| T x A   | 2144      | 32,1  | 33,3  | 38,0* | 46,2   | 17 |
|   | 2259      | 31,8* | 28,8* | 7,9*  | 8,5*   | 13 |
|   | 1889      | 33,5  | 51,8  | 7,3   | 31,0   | 16 |
| S x A   | 3733      | 56,4* | 49,1* | 12,1  | 0,3    | 23 |
|   | 3392      | 59,3* | 40,1* | 11,5* | 10,1*  | 24 |
|   | 3711      | 43,2* | 16,0  | 14,1* | 9,0    | 17 |
|   | 3705      | 35,3* | 26,9* | 11,6* | 10,8   | 15 |
|   | 3904      | 39,9* | 23,6  | 6,5   | 2,5    | 16 |
|   | 3718      | 57,9* | 47,5* | 15,0  | 17,9   | 24 |
|   | 3754      | 12,9  | 4,6   | 1,4   | 0      | 5  |
|   | 3384      | 31,8  | 24,4  | 16,9  | 6,4    | 14 |
|   | 3771      | 73,2  | 72,6  | 33,1  | 26,9   | 32 |
| S x C   | 3793      | 77,5  | 59,3  | 26,4  | 13,9   | 32 |
|   | 3598      | 70,0* | 64,2* | 20,2* | 28,0*  | 30 |
|   | 3798      | 86,6* | 73,3* | 10,9  | 16,7*  | 35 |
|   | 3628      | 36,8  | 37,3  | 9,8   | 21,9** | 16 |
|   | 3980      | 85,3* | 69,6* | 31,5* | 36,9   | 38 |
|   | 3807      | 63,7* | 56,1* | 23,1* | 15,5*  | 27 |
|   | 3978      | 79,2* | 63,9* | 17,2* | 0      | 32 |

(\*) redução significativa pelo teste t à 5%. (+) aumento não significativo

apresentaram uma porcentagem de redução intermediária, tanto para PFR como para os sintomas reflexos da parte aérea (PFPA, DIAM, ALT) (Tabela 2). Para o limão 'Volkameriano', tem sido observado que existe uma grande influência das condições ambientais na sua resposta à doença (Timmer &

**TABELA 3** - Porcentagem média (cinco avaliadores) de redução, em relação aos controles, dos parâmetros visuais: aspecto geral das raízes (AGR), aspecto geral da parte aérea (AGPA), enfolhamento (ENF), coloração das folhas (COL), altura das plantas (ALT) e correspondente índice de redução visual (IRV) de progênies nucelares de clones e de híbridos de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.) inoculadas com *Phytophthora nicotianae*

| PORTA-ENXERTO   | % REDUÇÃO |       |      |      |      |     |
|---|-----------|-------|------|------|------|-----|
|   | AGR       | AGPA  | ENF  | COL  | ALT  | IRV |
| <b>Clones</b>   |           |       |      |      |      |     |
| 'Cravo' ( <i>C. limonia</i> ) (C)                                 | 35,0      | 26,0  | 31,3 | 22,9 | 31,3 | 16  |
| 'Sunki' ( <i>C. sunki</i> ) (S)                                   | 73,2      | 67,9  | 72,0 | 60,7 | 53,6 | 35  |
| Trifoliata 'Davis A' ( <i>P. trifoliata</i> ) (T)                 | 1,3       | --    | --   | --   | 1,0  | 1   |
| Trifoliata 'Rich 16-6' ( <i>P. trifoliata</i> )                   | --        | --    | 8,3  | --   | --   | 1   |
| 'Azeda' ( <i>C. aurantium</i> ) (A)                               | 32,5      | 20,8  | 25,0 | 25,0 | 16,7 | 15  |
| 'Cleópatra' ( <i>C. veslini</i> )                                 | 62,5      | 54,2  | 62,5 | 50,0 | 54,2 | 30  |
| 'Volkameriano' ( <i>C. volkameriana</i> )                         | 40,0      | 16,7  | 45,8 | 8,3  | --   | 17  |
| 'Suen Kat' ( <i>C. sunki</i> )                                    | 47,5      | 8,3   | 16,7 | 25,0 | 4,2  | 18  |
| Citrumelo 'Swingle' ( <i>C. paradisi</i> x <i>P. trifoliata</i> ) | 2,5       | 8,3   | 8,3  | 8,3  | 16,7 | 2   |
| <b>T x S</b>  |           |       |      |      |      |     |
| 1774  | 5,0       | 18,8  | 18,8 | --   | --   | 3   |
| 2245  | 23,3      | 8,3   | 8,3  | --   | --   | 8   |
| 2244  | 22,5      | 7,3   | 7,3  | 4,2  | --   | 8   |
| 2237  | 22,5      | --    | --   | --   | --   | 8   |
| 1777  | --        | 6,3   | 6,3  | --   | --   | 1   |
| 1769  | 15,0      | 9,4   | 9,4  | --   | 8,3  | 7   |
| 2197  | 22,5      | 27,1  | 27,1 | --   | 41,7 | 11  |
| 1843  | 12,5      | 17,7  | 17,7 | --   | 8,3  | 6   |
| 1842  | 22,5      | 41,7  | 41,7 | 16,7 | --   | 11  |
| 2202  | 22,5      | 22,9  | 22,9 | --   | 33,3 | 10  |
| 1775  | 22,5      | 33,3  | 33,3 | 8,3  | 25,0 | 11  |
| <b>S x T</b>  |           |       |      |      |      |     |
| 2911  | 50,0      | 14,6  | 8,3  | 4,2  | 33,3 | 20  |
| 3296  | 45,0      | 8,3   | 12,5 | --   | 16,7 | 17  |
| 3502  | 36,3      | 16,7  | 6,3  | --   | 29,2 | 15  |
| 3501  | 20,0      | 12,5  | --   | --   | 16,7 | 8   |
| 3448  | 10,0      | 8,3   | --   | --   | --   | 4   |
| 3449  | 10,0      | --    | --   | --   | --   | 4   |
| 2923  | 22,5      | 25,0  | --   | --   | 20,8 | 11  |
| <b>T x A</b>  |           |       |      |      |      |     |
| 2144  | 67,5      | 72,9  | 16,7 | 16,7 | 41,7 | 29  |
| 2259  | 22,5      | 12,5  | 8,3  | 4,2  | 16,7 | 9   |
| 1889  | 20,0      | 6,3   | 8,3  | 8,3  | 8,3  | 8   |
| <b>S x A</b>  |           |       |      |      |      |     |
| 3733  | 67,5      | 35,4  | 33,3 | 16,7 | 25,0 | 28  |
| 3392  | 55,0      | 45,8  | 41,7 | 50,0 | 29,2 | 26  |
| 3711  | 57,5      | 25,0  | 33,3 | 16,7 | 12,5 | 23  |
| 3705  | 37,5      | 6,3   | 8,3  | 8,3  | --   | 14  |
| 3904  | 20,0      | 25,0  | 20,8 | 20,8 | 8,3  | 10  |
| 3718  | 45,0      | 35,4  | 29,2 | 33,3 | 25,0 | 21  |
| 3754  | 17,5      | 2,1   | --   | 16,7 | --   | 7   |
| 3384  | 12,5      | 14,6  | 16,7 | 8,3  | --   | 6   |
| <b>S x C</b>  |           |       |      |      |      |     |
| 3771  | 57,5      | 66,7  | 66,7 | 50,0 | 45,8 | 29  |
| 3793  | 95,0      | 93,8  | 75,0 | 41,7 | 50,0 | 43  |
| 3598  | 72,5      | 87,5  | 91,7 | 75,0 | 42,7 | 35  |
| 3798  | 95,0      | 87,5  | 91,7 | 75,0 | 42,7 | 44  |
| 3628  | 80,0      | 93,8  | 75,0 | 62,5 | 54,2 | 39  |
| 3980  | 95,0      | 95,8  | 87,5 | 75,0 | 83,3 | 46  |
| 3807  | 72,0      | 79,2  | 62,5 | 41,7 | 45,8 | 35  |
| 3978  | 100,0     | 100,0 | 91,7 | 83,3 | 79,2 | 48  |

Menge, 1988; Graham, 1990). Da mesma forma que ocorre para a tangerina 'Cleópatra', têm sido publicados relatos bastante divergentes com respeito à classificação da laranja 'Azeda'. No BAG do Centro APTA Citros, em Cordeirópolis, vários são os clones de laranja 'Azeda' morfologicamente distintos. É possível, portanto, que as divergências encontradas na literatura sobre seu comportamento em relação a *Phytophthora* spp. se deva à diversidade genética entre os clones.

Quanto aos híbridos, observou-se uma variação ampla de redução no PFR (Tabela 2). De forma geral, os híbridos de trifoliata apresentaram um nível de redução intermediário em relação aos seus genitores. Nenhum híbrido apresentou o nível de redução dos trifoliatas. Os híbridos entre tangerina 'Sunki' e laranja 'Azeda' apresentaram porcentagens variáveis,

ocorrendo progênies com reduções menores que a de 'Azeda' sendo que uma delas, a SA 3771, apresentou maior porcentagem de redução que a 'Sunki'. Os híbridos entre tangerina 'Sunki' e limão 'Cravo' apresentaram reduções iguais ou maiores que as da tangerina 'Sunki', com exceção do híbrido SC 3628 que teve uma porcentagem de redução inferior, inclusive ao 'Cravo'. Entretanto, esta baixa redução verificada por esses parâmetros quantitativos não foi confirmada nas avaliações pelos parâmetros visuais (Tabela 3).

Os resultados indicam ainda que as reduções no sistema radicular são, geralmente, acompanhadas por reduções na parte aérea, para os parâmetros avaliados, conforme pode ser observado nas Tabelas 2 e 3. De fato, tanto para os clones como para os híbridos, todas as variáveis avaliadas visualmente, como AGPA, ALT, ENF, COL, revelaram-se correlacionadas com o AGR (Tabela 4). Da mesma forma, nas avaliações quantitativas, as variáveis PFFA, DIAM e ALT revelaram correlação com o PFR. Os resultados mostram uma boa concordância entre o critério quantitativo e o visual, tanto para os clones quanto para os híbridos. A correlação da porcentagem de redução do PFR e dos diversos parâmetros avaliados visualmente, AGR, AGPA, ENF, COL e ALT também foi alta (0,69 a 0,95). A alta correlação entre a redução no PFR e da PFFA permitem concluir que os parâmetros que consideram os sintomas reflexos da doença, na parte aérea da planta, também podem ser utilizados na avaliação da tolerância de porta-enxertos de citros à podridão de raízes.

A utilização dos critérios quantitativo e visual, juntamente com a taxa de sobrevivência compondo o índice total de redução, ITR, (Tabela 5), possibilitou a classificação dos clones e das progênies nucelares de híbridos à infecção de raízes por *P. nicotianae* mais segura que a classificação baseada em qualquer um dos três critérios ou de seus componentes isoladamente. Assim, considerando conjuntamente os ITR da Tabela 5 e dispondo-os em ordem crescente de valores (Tabela 6), os clones e híbridos puderam ser agrupados em altamente tolerante (ITR até 20%), tolerante (20 – 40%), moderadamente tolerante (41 – 60%), intolerante (61 – 80%) e altamente intolerante (81 – 100%). No grupo dos altamente tolerantes, destacam-se o *P. trifoliata* 'Davis A' e 'Rich 16-6', o citrumelo 'Swingle', sete híbridos de *P. trifoliata* com a tangerina 'Sunki' e um híbrido de 'Sunki' com a laranja 'Azeda'. Neste grupo é, portanto, notória, a participação da espécie *P. trifoliata*, através de seus clones ou híbridos. Quatorze outros híbridos de trifoliata e um de tangerina 'Sunki' com laranja 'Azeda' foram classificados como tolerantes, juntamente com os clones de laranja 'Azeda', tangerina 'Suen Kat', limão 'Cravo' e limão 'Volkameriano'. Quatro híbridos entre a tangerina 'Sunki' e a laranja 'Azeda' classificaram-se como moderadamente tolerantes. No grupo intolerante, incluem-se as tangerinas 'Cleópatra' e 'Sunki', dois híbridos de tangerina 'Sunki' com a laranja 'Azeda', um híbrido trifoliata x 'Azeda' e dois híbridos de tangerina 'Sunki' com limão 'Cravo'. Chama a atenção cinco híbridos entre tangerina 'Sunki' e o limão 'Cravo' compondo o grupo altamente intolerante, com

**TABELA 4** - Coeficientes de correlação, significativos a 5%, entre as médias dos parâmetros avaliados visual e quantitativamente nas progênies nucelares de clones (em negrito) e híbridos de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.) em resposta à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae*. AGR, AGPA, ENF, COL, PFR, PFPA, DIAM e ALT correspondem, respectivamente, aos parâmetros: aspecto geral da raiz, aspecto geral da parte aérea, enfolhamento, coloração das folhas, peso fresco da raiz, peso fresco da parte aérea, diâmetro do caule e altura da plântula

|      | PARÂMETRO VISUAL |             |             |             | PARÂMETRO QUANTITATIVO |      |             |             |             |
|------|------------------|-------------|-------------|-------------|------------------------|------|-------------|-------------|-------------|
|      | AGR              | AGPA        | ENF         | COL         | ALT                    | PFR  | PFPA        | DIAM        | ALT         |
| AGR  |                  |             |             |             |                        | PFR  |             |             |             |
| AGPA | <b>0,86</b>      |             |             |             |                        | PFPA | <b>0,88</b> |             |             |
|      | 0,89             |             |             |             |                        |      | 0,85        |             |             |
| ENF  | <b>0,90</b>      | <b>0,89</b> |             |             |                        | DIAM | <b>0,89</b> | <b>0,85</b> |             |
|      | 0,84             | 0,82        |             |             |                        |      | 0,89        | 0,85        |             |
| COL  | <b>0,91</b>      | <b>0,87</b> | <b>0,86</b> |             |                        | ALT  | <b>0,76</b> | <b>0,77</b> | <b>0,87</b> |
|      | 0,85             | 0,84        | 0,86        |             |                        |      | 0,75        | 0,77        | 0,89        |
| ALT  | <b>0,76</b>      | <b>0,75</b> | <b>0,78</b> | <b>0,77</b> |                        |      |             |             |             |
|      | 0,71             | 0,73        | 0,76        | 0,71        |                        |      |             |             |             |
| PFR  | <b>0,94</b>      | <b>0,90</b> | <b>0,95</b> | <b>0,88</b> | <b>0,76</b>            |      |             |             | <b>0,76</b> |
|      | 0,69             | 0,71        | 0,78        | 0,70        | 0,75                   |      |             |             | 0,75        |

valores de ITR acima de 80%. Exemplos dos materiais estudados de acordo com essa classificação (Tabela 6) podem ser visualizados (Figuras 1 e 2).

O comportamento relativo dos diversos germoplasmas investigados pode também ser verificado através dos resultados da análise multivariada, realizada com os índices avaliados (Figura 3). As variáveis IRV, IRQ e ITR apresentam correlação negativa com a TS, indicando que aqueles parâmetros contribuem no mesmo sentido para a classificação dos genótipos. Os que apresentaram menor sobrevivência e são, portanto, menos tolerantes, tendem também a apresentar, nas plantas sobreviventes, uma redução maior das raízes e da parte aérea. O eixo 1 separa os diferentes germoplasmas em quatro grupos distintos, segundo o nível de tolerância. Observa-se que este resultado é bastante concordante com a classificação dos cinco grupos baseada no ITR (Tabela 6). Ressalta-se que os grupos intolerante e moderadamente tolerante, segundo o ITR, ficaram reunidos em um único grupo na ACP.

O método de avaliação de raízes em substrato de argila expandida, além de eficiente, haja vista os bons resultados obtidos nas inoculações, mostrou-se também de fácil utilização. Nesse substrato, o fato de as partículas serem relativamente grandes, leves e não sofrerem compactação possibilita a remoção das plântulas sem que haja danos ao sistema radicular, como quebra de raízes e radículas. Além disso, o método prescinde das laboriosas lavagens de raízes uma vez que não há agregação das partículas.

O Índice Total de Redução (ITR) mostrou-se bastante apropriado ao considerar, de forma ponderada, vários aspectos relacionados à doença tais como a perda de raízes e radículas, os sintomas reflexos da parte aérea e a mortalidade da progênie, avaliados tanto de forma subjetiva quanto quantitativa. Nos casos em que não for necessária uma extrema precisão, o nível de tolerância à podridão de

**TABELA 5** - Número de plântulas, taxa de sobrevivência (TS), índice de redução quantitativa (IRQ), índice de redução visual (IRV) e índice total de redução (ITR) devido à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae* em progênies nucelares de clones e de híbridos de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.), totalizando 2.303 plântulas

| PORTA-ENXERTO   | N°           | TS         | IRQ  | IRV  | ITR             |
|---|--------------|------------|------|------|-----------------|
| <b>Clones</b>   |              |            |      |      |                 |
| 'Cravo' ( <i>C. limonia</i> ) (C)                       | 110          | 0,98       | 0,18 | 0,16 | 36              |
| 'Sunki' ( <i>C. sunki</i> ) (S)                         | 197          | 0,80       | 0,26 | 0,35 | 69              |
| trifoliata 'Davis A' ( <i>P. trifoliata</i> ) (T)       | 28           | 1          | 0,02 | 0,01 | 3               |
| trifoliata 'Rich16-6' ( <i>P. trifoliata</i> )          | 39           | 1          | 0,02 | 0,01 | 3               |
| 'Azeda' ( <i>C. aurantium</i> ) (A)                     | 62           | 1          | 0,17 | 0,15 | 32              |
| 'Cleópatra' ( <i>C. reshni</i> )                        | 36           | 1          | 0,31 | 0,30 | 61              |
| 'Volkameriano' ( <i>C. volkameriana</i> )               | 29           | 1          | 0,20 | 0,17 | 37              |
| 'Suen Kat' ( <i>C. sunki</i> )                          | 27           | 1          | 0,19 | 0,18 | 32              |
| 'Swingle' ( <i>C. paradisi</i> x <i>P. trifoliata</i> ) | 36           | 1          | 0,06 | 0,02 | 8               |
| <b>Híbridos</b>   | <b>Total</b> | <b>564</b> |      |      |                 |
| T x S   | 1774         | 10         | 1    | 0,33 | 0,03            |
|   | 2245         | 13         | 1    | 0,21 | 0,08            |
|   | 2244         | 16         | 1    | 0,06 | 0,08            |
|   | 2237         | 6          | 1    | 0,17 | 0,08            |
|   | 1777         | 75         | 1    | 0,09 | 0,01            |
|   | 1769         | 94         | 1    | 0,11 | 0,07            |
|   | 2197         | 100        | 0,89 | 0,14 | 0,11            |
|   | 1843         | 64         | 1    | 0,21 | 0,06            |
|   | 1842         | 22         | 1    | 0,19 | 0,11            |
|   | 2202         | 24         | 1    | 0,23 | 0,10            |
|   | 1775         | 31         | 1    | 0,23 | 0,11            |
|   | <b>Total</b> | <b>455</b> |      |      | <b>Media 26</b> |
| S x T   | 2911         | 64         | 1    | 0,18 | 0,20            |
|   | 3296         | 75         | 1    | 0,14 | 0,17            |
|   | 3502         | 167        | 1    | 0,23 | 0,15            |
|   | 3501         | 164        | 1    | 0,18 | 0,08            |
|   | 3448         | 15         | 1    | 0,09 | 0,04            |
|   | 3449         | 32         | 1    | 0,08 | 0,04            |
|   | 2923         | 67         | 0,85 | 0,12 | 0,11            |
|   | <b>Total</b> | <b>584</b> |      |      | <b>Media 27</b> |
| T x A   | 2144         | 5          | 0,50 | 0,17 | 0,29            |
|   | 2259         | 25         | 1    | 0,13 | 0,09            |
|   | 1889         | 10         | 1    | 0,16 | 0,08            |
|   | <b>Total</b> | <b>40</b>  |      |      | <b>Media 40</b> |
| S x A   | 3733         | 20         | 0,70 | 0,23 | 0,28            |
|   | 3392         | 76         | 0,89 | 0,24 | 0,26            |
|   | 3711         | 25         | 0,92 | 0,17 | 0,23            |
|   | 3705         | 50         | 0,65 | 0,15 | 0,14            |
|   | 3904         | 45         | 0,91 | 0,16 | 0,10            |
|   | 3718         | 19         | 1    | 0,24 | 0,21            |
|   | 3754         | 56         | 1    | 0,05 | 0,07            |
|   | 3384         | 13         | 1    | 0,14 | 0,06            |
|   | 3771         | 4          | 1    | 0,32 | 0,29            |
|   | <b>Total</b> | <b>308</b> |      |      | <b>Media 43</b> |
| S x C   | 3793         | 18         | 0,33 | 0,32 | 0,43            |
|   | 3598         | 66         | 0,51 | 0,30 | 0,35            |
|   | 3798         | 11         | 0,67 | 0,35 | 0,44            |
|   | 3628         | 44         | 0,58 | 0,16 | 0,39            |
|   | 3980         | 23         | 0,36 | 0,38 | 0,46            |
|   | 3807         | 60         | 0,68 | 0,27 | 0,35            |
|   | 3978         | 130        | 0,20 | 0,32 | 0,48            |
|   | <b>Total</b> | <b>352</b> |      |      | <b>Media 86</b> |

raízes pode ser muito bem determinado nas progênies nucelares, avaliando-se simplesmente a taxa de sobrevivência das plântulas e a redução no vigor ou o depauperamento geral da parte aérea das plantas sobreviventes, quando comparadas, lado a lado, com um lote controle de plantas não inoculadas, desde que tenham sido previamente selecionadas aos pares por similaridade de tamanho. A validade dessa avaliação simplificada se deve às altas correlações do parâmetro redução do peso das raízes com as reduções do peso 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.

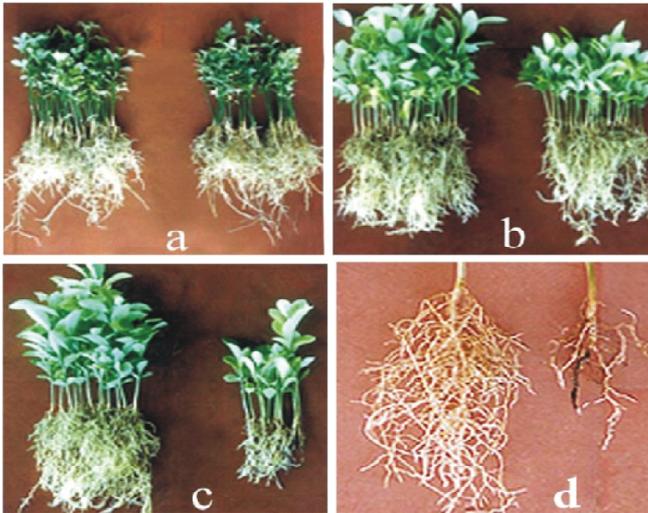
**TABELA 6** - Nível de tolerância à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae* em progênies nucleares de híbridos, seus parentais e de outros clones de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.) classificados de acordo com o grau de dano estimado pelo Índice Total de Redução (ITR)

| ITR % | HÍBRIDO         | PARENTAL           | OUTRO CLONE        | ITR %   | HÍBRIDO | PARENTAL | OUTRO CLONE |
|-------|-----------------|--------------------|--------------------|---|---------|----------|-------------|
| 1     |                 |                    |                    | 61  | SA 3771 |          | Cleópatra   |
| 2     |                 |                    |                    | 62  |         |          |             |
| 3     |                 | trifoliata Davis A | trifoliata Rich 16 | 63  |         |          |             |
| 4     |                 |                    |                    | 64  |         |          |             |
| 5     |                 |                    |                    | 65  |         |          |             |
| 6     |                 |                    |                    | 66  | SA 3733 |          |             |
| 7     |                 |                    |                    | 67  |         |          |             |
| 8     |                 |                    | Citrumelo Swingle  | 68  |         |          |             |
| 9     |                 |                    |                    | 69  |         | Sunki    |             |
| 10    | TS 1777         |                    |                    | 70  |         |          |             |
| 11    |                 |                    |                    | 71  |         |          |             |
| 12    | ST 3449 SA 3754 |                    |                    | 72  |         |          |             |
| 13    | ST 3448         |                    |                    | 73  | TA 2144 |          |             |
| 14    | TS 2244         |                    |                    | 74  | SC 3628 |          |             |
| 15    |                 |                    |                    | 75  | SC 3807 |          |             |
| 16    |                 |                    |                    | 76  |         |          |             |
| 17    |                 |                    |                    | 77  |         |          |             |
| 18    | TS 1769         |                    |                    | 78  |         |          |             |
| 19    | SA 3384         |                    |                    | 79  |         |          |             |
| 20    |                 |                    |                    | 80  |         |          |             |
| 21    |                 |                    |                    | 81  |         |          |             |
| 22    |                 |                    |                    | 82  | SC 3598 |          |             |
| 23    | TA 2259         |                    |                    | 83  |         |          |             |
| 24    | TA 1889         |                    |                    | 84  |         |          |             |
| 25    | TS 2237         |                    |                    | 85  |         |          |             |
| 26    | ST 3501         |                    |                    | 86  | SC 3798 |          |             |
| 27    | TS 1843         |                    |                    | 87  |         |          |             |
| 28    |                 |                    |                    | 88  |         |          |             |
| 29    | TS 2245         |                    |                    | 89  |         |          |             |
| 30    | TS 1842         |                    |                    | 90  |         |          |             |
| 31    | ST 3296         |                    |                    | 91  |         |          |             |
| 32    | SA 3904         | Azeda              | Suen Kat           | 92  | SC 3793 |          |             |
| 33    | TS 2202         |                    |                    | 93  |         |          |             |
| 34    | TS 2197 TS 1775 |                    |                    | 94  | SC 3984 |          |             |
| 35    | ST 2923         |                    |                    | 95  |         |          |             |
| 36    | TS 1774         | Cravo              |                    | 96  | SC 3978 |          |             |
| 37    | ST 3502         |                    | Volkameriano       | 97  |         |          |             |
| 38    | ST 2911         |                    |                    | 98  |         |          |             |
| 39    |                 |                    |                    | 99  |         |          |             |
| 40    |                 |                    |                    | 100   |         |          |             |
| 41    |                 |                    |                    | <b>TS</b> =híbrido trifoliata (T) x tangerina 'Sunki' (S);<br><b>ST</b> =híbrido 'Sunki' x trifoliata;<br><b>SA</b> =híbrido 'Sunki' x laranja 'Azeda' (A);<br><b>TA</b> =híbrido trifoliata x 'Azeda';<br><b>SC</b> =híbrido 'Sunki' x limão 'Cravo' (C) |         |          |             |
| 42    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 43    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 44    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 45    | SA 3711 SA 3718 |                    |                    |   |         |          |             |
| 46    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 47    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 48    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 49    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 50    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 51    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 52    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 53    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 54    | SA 3705         |                    |                    |   |         |          |             |
| 55    | SA 3392         |                    |                    |   |         |          |             |
| 56    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 57    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 58    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 59    |                 |                    |                    |   |         |          |             |
| 60    |                 |                    |                    |   |         |          |             |

Alguns outros aspectos são também de interesse sob o ponto de vista do melhoramento de porta-enxertos. O primeiro é que uma grande deficiência fitotécnica da tangerina 'Sunki', ou seja, sua intolerância à *Phytophthora* spp. é suplantada em seus híbridos com trifoliata, sendo o nível de tolerância igual ou superior ao do limão 'Cravo', principal porta-enxerto do Brasil. Alguns desses híbridos como TS 1777, ST 3449, ST 3448 e TS 2244, têm inclusive, valores de ITR entre 10 e 14%, que se aproximam bastante do trifoliata. Da mesma forma, apresentaram bom nível de tolerância alguns híbridos de laranja 'Azeda' com trifoliata ou mesmo com a tangerina 'Sunki'. A maioria dos híbridos entre a tangerina 'Sunki' e a laranja 'Azeda' situou-se entre os próprios genitores. É interessante, entretanto, que o mais baixo nível de tolerância entre todos os materiais estudados é representado por um grupo homogêneo formado por

híbridos entre a tangerina 'Sunki' e o limão 'Cravo'.

Os resultados obtidos revestem-se de importância para a seleção de novos porta-enxertos, razão pela qual foram produzidos os híbridos investigados no presente trabalho. Esses híbridos representam apenas uma pequena parcela daqueles atualmente em estudo visando à seleção de futuros porta-enxertos (Bordignon, 2000; Bordignon *et al.*, 2003), porém os resultados obtidos fornecem uma indicação do nível de tolerância à infecção de *Phytophthora* spp. de raízes que se poderia esperar em progênies nucleares de outros híbridos dos mesmos cruzamentos entre esses genitores. Assim, é provável que outros híbridos entre o trifoliata 'Davis A' e a tangerina 'Sunki 200' se comportem como tolerantes, pois os 18 híbridos testados assim se classificaram, com ITR entre 10 e 38%. Por outro lado, é provável que outros híbridos entre a tangerina 'Sunki 200' e



**FIG. 1** - Níveis de tolerância de clones de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.) em substrato de argila expandida infestada com *Phytophthora nicotianae*: a) altamente tolerante - trifoliata 'Rich 6-16', b) tolerante - limão 'Cravo', c) intolerante - tangerina 'Sunki', d) detalhe da redução de raízes em planta intolerante. Controles não inoculados à esquerda em cada foto.



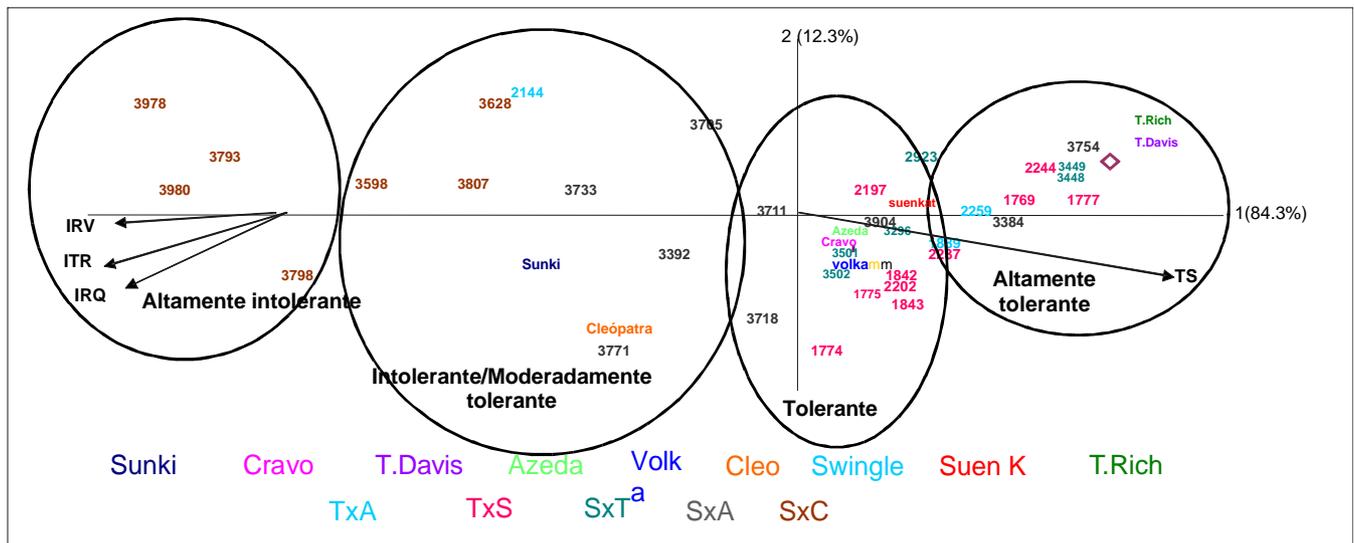
**FIG. 2** - Níveis de tolerância a *Phytophthora nicotianae* observados em híbridos de porta-enxertos de citros (*Citrus* spp.): a) altamente tolerante, b) moderadamente tolerante, c) intolerante, d) altamente intolerante. Controles não inoculados à esquerda em cada foto.

o limão 'Cravo Limeira' sejam intolerantes, pois as progênies clonais dos sete híbridos testados apresentaram ITR entre 74 e 96%. De outra forma, os híbridos entre a tangerina 'Sunki 200' e a laranja 'Azeda São Paulo' se mostraram bem mais variáveis, tendo sido observadas progênies desde altamente tolerantes, com ITR de 12%, até intolerantes, com ITR de 66%. O padrão de comportamento das progênies

nucleares dos diversos híbridos de cada cruzamento reflete, por certo, a constituição genética de seus parentais quanto a tolerância à infecção de raízes por *P. nicotianae*.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a J. Pompeu Junior e J. Teófilo Sobrinho, pelas sugestões apresentadas, a R. M. L. Ballvé e M. T. Braghini, pela colaboração nas avaliações visuais, e a O. Guerreiro Filho, pela ajuda na ACP.



**FIG. 3** - Análise em Componentes Principais (ACP). Representação entre as variáveis Índice de Redução Visual (IRV), Índice de Redução Quantitativa (IRQ), Índice Total de Redução (ITR) e Taxa de Sobrevivência (TS). Representação no plano 1/2 dos clones: tangerina 'Sunki' (*C. sunki*), limão 'Cravo' (*C. limonia*), trifoliatas 'Davis A' e 'Rich 16-6' (*Poncirus trifoliata*), laranja 'Azeda' (*Citrus aurantium*), limão 'Volkameriano' (*C. volkameriana*), tangerina 'Cleópatra' (*Citrus reshni*), citrumelo 'Swingle' (*C. paradisi* x *P. trifoliata*), e alguns híbridos representados por seus números de identificação e cores correspondentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORDIGNON, R. Características agrônômicas e tolerância à tristeza de híbridos entre porta-enxertos elite de citros. (Tese de Doutorado). Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 2000.
- BORDIGNON, R., MEDINA FILHO, H.P. SIQUEIRA, W.J. & PIO, R.M. Características da laranjeira 'Valência' sobre clones e híbridos de porta-enxertos tolerantes à tristeza. *Bragantia* 62:381-395. 2003.
- BROADBENT, P. Observation on the mode of infection of *Phytophthora citrophthora* in resistant and susceptible citrus rootstocks. Proceedings of First International Citrus Symposium, Riverside. 1969. pp.1207-1210.
- CAMERON, J.W. & FROST, H.B. Genetics, breeding and nucellar embryony. In: Reuther, W., Batchelor, L.D. & Webber, H.J. (Eds). *The Citrus Industry*. Berkeley. University of California Press. 1968. v.2. pp.325-370.
- CAMERON, J.W., KLOTZ, L.J., DeWOLFE, T.A. & SOOST, R.K. 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. 1972.
- CARPENTER, J.B. & FURR, J.R. Evaluation of tolerance to root rot caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of *Citrus* and related genera. *Phytopathology* 52:1277-1285. 1962.
- CASTLE, W.S., TUCKER, D.P.H., KREZDORN, A.H. & YOUTSEY, C.O. Rootstocks selection: the first step to success. In: J.T. Woeste (Ed). *Rootstocks for Florida citrus*. Gainesville. University of Florida. 1989. 47p.
- FEICHTENBERGER, E. Control of *Phytophthora* gummosis of citrus with systemic fungicides in Brazil. *EPPO Bulletin* 20:139-148. 1990.
- FEICHTENBERGER, E. Manejo ecológico de gomose de *Phytophthora* dos citros. *Rhodia Agro*. São Paulo. 1996.
- FEICHTENBERGER, E. Doenças incitadas por *Phytophthora* em citros. In: Luz, E.D.M.N., Santos, A.F., Matsuoka, K. & Bezerra, J.L. (Eds). *Doenças causadas por Phytophthora no Brasil*. Campinas: Livraria Rural Editora. 2001. pp. 283-342.
- FURR, J.R. & CARPENTER, J.B. Program for breeding citrus rootstocks tolerant to *Phytophthora* root rot. Proceedings of Florida Station Horticultural Society 18:18-23. 1961.
- GRAHAM, J.H. Evaluation of tolerance of citrus rootstocks to *Phytophthora* root rot in chlamydospore-infested soil. *Plant Disease* 74:743-746. 1990.
- GRAHAM, J.H. Root regeneration and tolerance of citrus rootstocks to root rot caused by *Phytophthora nicotianae*. *Phytopathology* 85:111-117.1995.
- GRIMM, G.R. & HUTCHISON, D.J. A procedure for evaluating resistance of citrus seedlings to *Phytophthora parasitica*. *Plant Disease Reporter* 57:669-672. 1973.
- HUTCHISON, D.J. & GRIMM, G.R. Citrus clone resistance to *Phytophthora parasitica*. Screening results. Proceedings of Florida Station Horticultural Society 86:88-91. 1973.
- KAOSIRI, T., ZENTMYER, G.A. & ERWIN, D.C. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytophthora palmivora* isolates from cacao. *Canadian Journal of Botany* 56:1730-1738. 1978.
- KLOTZ, L.J., DeWOLFE, T.A. & WONG, P.P. Decay of fibrous roots of citrus. *Phytopathology* 48:618-622. 1958.
- LUTZ, A.L. & MENGE, J.A. Population fluctuations and the numbers and types of propagules of *Phytophthora parasitica* that occur in irrigated citrus groves. *Plant Disease* 75:173-179. 1991.
- LUTZ, A.L., MENGE, J.A. & FERRIN, D.M.. Increased germination of propagules of *Phytophthora parasitica* by heating citrus soils sampled during winter. *Phytopathology* 81:865-872. 1991.
- MATHERON, M.E., WRIGHT, G.C. & PORCHAS, M. Resistance to *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica* and nursery characteristics of several citrus rootstocks. *Plant Disease* 82:1217-1225. 1998.
- SIVIERO, A. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* e mapeamento de QTLs de resistência em híbridos de *Citrus sunki* vs. *Poncirus trifoliata* à gomose. (Tese de Doutorado). Botucatu. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". 2001.
- TIMMER, L.W. & MENGE, J.A. *Phytophthora* – induced diseases. In: Whiteside, J.O., Garnsey, S.M. & Timmer, L.W. (Eds) *Compendium of Citrus Diseases*. Saint Paul. The American Phytopathological Society Press. 1988. pp. 22-24.
- WHITESIDE, J.O. Zoospore inoculation techniques for determining the relative susceptibility of citrus rootstocks to root rot. *Plant Disease Reporter* 58:713-717. 1974.
- WIDMER, T.L., GRAHAM, J.H. & MITCHELL, D.J. Histological comparison of fibrous root infection of disease-tolerant and susceptible citrus hosts by *Phytophthora nicotianae* and *P. palmivora*. *Phytopathology* 88:389-395. 1998.
- ZITKO, S.E., TIMMER, L.W. & SANDLER, H.A. Isolation of *Phytophthora palmivora* pathogenic to citrus in Florida. *Plant Disease* 75:532-535. 1991.