



## O EFEITO FISIOLÓGICO DO REGULADOR VEGETAL 2,4-D NO DESENVOLVIMENTO DE *XANTHOMONAS CITRI* SUBSP. *CITRI* CULTIVADA EM MEIO NA

*Diego Henrique Pereira Catani*<sup>1</sup>, *Juliana Glória Franco*<sup>2</sup>, *Paula Thaís Requena Nocchi*<sup>1</sup>, *Angélica Albuquerque Tomilheiro*<sup>1</sup>, *Carlos Alexandre Zanutto*<sup>3</sup>, *William Mário de Carvalho Nunes*<sup>4</sup>

**RESUMO:** O cancro cítrico, causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, é uma relevante doença para a citricultura, pois interfere diretamente na produção e qualidade dos frutos. Esta bactéria é capaz de colonizar tecidos jovens de folhas, frutos e ramos vegetais, podendo resultar em desfolha e queda prematura dos frutos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do 2,4-D no desenvolvimento das UFCs (Unidade Formadora de Colônias) de *X. citri* subsp. *citri* cultivada em meio NA contendo concentrações de 0, 0,15, 0,30, 0,45, 0,60 e 0,75 mg de i. a. L<sup>-1</sup>. Foi observado que as concentrações testadas não interferiram no número de UFCs em relação a testemunha, que variaram em média entre os tratamentos entre 30 a 53 colônias por placa, portanto, nessas concentrações o 2,4-D não é tóxico para interferir na reprodução bacteriana.

**PALAVRAS-CHAVE:** 2,4-D; Cancro cítrico; UFC.

### 1 INTRODUÇÃO

O cancro cítrico, causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Schaad et al., 2006), é considerado uma doença grave na cultura do citros, capaz de infectar grande parte das variedades comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) (Anthony & Coggins, 1999). Esta doença tem como característica a capacidade de colonizar tecidos jovens das folhas, frutos e ramos vegetais (Gottwald & Graham, 1992), por pequenos ferimentos, seguidos pela presença de água (Bock et al. 2009), podendo também infectar através de estômatos (Gottwald et al., 2002), onde em condições severas da doença, pode resultar em desfolha da planta, seca de ramos e inclusive a queda de frutos (Gottwald et al., 1989). E essa infecção ocorre de forma desuniforme ao longo do ano. Em condições brasileiras, o período de maior suscetibilidade do hospedeiro acontece no início do verão, onde o clima se apresenta ventoso, com altas precipitações e temperaturas elevadas (Laranjeira et al., 2005).

O uso de reguladores vegetais na agricultura é conhecido pela sua capacidade de influenciar no florescimento, na cultura de tecidos e células, no enraizamento, na redução da abscisão, na qualidade e na produção de frutos. Os frequentemente utilizados na citricultura são os com comportamento similar às auxinas naturais (ácido indolacético [AIA], ácido indolbutírico [AIB] e ácido 2,4-diclorofenoxiacético [2,4-D]) e às giberilinas (ácido giberélico [GA3]) (Silva & Donadio, 1997).

O 2,4-D tem sido utilizado em citros, controlando a queda dos frutos durante o período de pré-colheita de praticamente todas as espécies cítricas, pois este regulador diminui a atividade da celulase e da poligalacturonase, inibindo a separação entre o cálice e o fruto (Monselise 1979, *apud* Almeida et al., 2002).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações de 2,4-D no desenvolvimento de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* cultivada em meio NA.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

A estirpe de *X. citri* subsp. *citri* utilizada na inoculação foi a Xcc 306, obtida do acervo de culturas puras do Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus). O inoculo de *X. citri* subsp. *citri* utilizado, mantido em tampão fosfato salino (PBS) (0,075M, pH 7,0) em geladeira (8°C) pelo NBA, foi reativado em placas de Petri contendo meio nutriente-ágar (NA) (3g extrato de carne, 5 g de peptona, 5 g de cloreto de sódio, 15 g de Agar/L de água destilada) e mantido a 28 °C em estufa bacteriológica por 72 horas. Subsequentemente as colônias foram transferidas para um microtubo com PBS e a solução bacteriana foi ajustada por diluição seriada a uma

<sup>1</sup> Doutorando do curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada, NBA/UEM. Bolsista CAPES. [diegocatani@gmail.com](mailto:diegocatani@gmail.com)

<sup>2</sup> Mestrando do curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada, NBA/UEM. Bolsista CAPES.

<sup>3</sup> Eng. Agrônomo, Dr. da Universidade Estadual de Maringá; Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA/UEM, Maringá – Paraná.

<sup>4</sup> Orientador do curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada, NBA/UEM. Bolsista CAPES. [wmcnunes@uem.br](mailto:wmcnunes@uem.br)



concentração de  $10^8$  unidades formadora de colônias UFC  $\text{ml}^{-1}$  (Belasque Junior & Jesus Junior, 2006) na leitura de 0,3 de absorvância em espectrofotômetro ajustado à 630nm.

Para a obtenção da solução bacteriana, foi realizada a incubação de *X. citri* subsp. *citri* em meio NA por 72 horas à 28°C em estufa bacteriológica, por conseguinte estas foram transferidas para tampão fosfato salino (PBS) (pH7,0), e após obtenção de uma solução bacteriana correspondente à  $10^8$  UFC  $\text{ml}^{-1}$ , foram realizadas mais 7 diluições seriadas em microtubos, condição necessária para possibilitar posterior contagem do número de colônias, conforme notado por Nocchi (2014).

As concentrações de 2,4-D ( $806\text{g L}^{-1}$  de ácido 2,4-diclorofenoxiacético, Nufarm do Brasil Ltda.) utilizadas para este experimento foram de 0, 15, 30, 45, 60 e 75  $\text{mg L}^{-1}$ , foram obtidas por diluição em água destilada autoclavada em uma capela de fluxo laminar.

O experimento foi realizado em placas de Petri contendo meio NA, as quais receberam uma alíquota de 50 $\mu\text{L}$  da concentração referente ao tratamento, e após a absorção dessa pelo meio, receberam mais 50 $\mu\text{L}$  da solução bacteriana. Após a absorção da solução pelo meio, as placas foram mantidas à 28°C em estufa bacteriológica.

Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), avaliado pela contagem do número total de colônias bacterianas em cada placa após 72 horas de incubação.

Os resultados obtidos foram analisados utilizando o software SAS (Statistic Analysis System) 9.3 através da análise exploratória dos dados. A diferença entre as médias foi avaliada estatisticamente pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com o intuito de observar se as concentrações utilizadas foram influentes sobre do número de Unidade Formadora de Colônias (UFCs) de *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, na tabela 1 é apresentada a média do número de UFCs de *X. citri* subsp. *citri* em relação às concentrações de 2,4-D adicionadas ao meio de cultivo NA.

Nessa tabela é observado que as concentrações testadas não interferiram no número de UFCs em relação a testemunha, que variaram em média entre os tratamentos entre 30 a 53 colônias por placa, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos, o que indica que nessas concentrações o 2,4-D não é tóxico para interferir na reprodução bacteriana.

**Tabela 1:** Efeito de concentrações de 2,4-D no número de Unidade Formadora de Colônias (UFCs) de *X. citri* subsp. *citri* em placas contendo meio NA com 2,4-D, com subseqüente incubação das bactérias sete vezes diluídas a partir da concentração de  $10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ .

Nº. Trat.	Tratamentos	UFCs (un.)
1	0,00 $\text{mg L}^{-1}$	48a
2	0,15 $\text{mg L}^{-1}$	43a
3	0,30 $\text{mg L}^{-1}$	44a
4	0,45 $\text{mg L}^{-1}$	53a
5	0,60 $\text{mg L}^{-1}$	46a
6	0,75 $\text{mg L}^{-1}$	30a
<b>CV%</b>		<b>38,41</b>

\*Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, no nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

### 4 CONCLUSÃO

As concentrações de 2,4-D em meio NA não influenciaram no número de UFCs de *X. citri* subsp. *citri*.



## REFERÊNCIAS

ALMEIDA I. M. L.; JOÃO D. R.; ONO E. O. Aplicação de Reguladores Vegetais no Retardamento da Abscisão de Frutos de Laranja-'Hamlin'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.24, n.2, p.306-11. Agosto de 2002.

ANTHONY, M.F.; COGGINS, JR, C. W. The efficacy of five forms of 2,4-D to control preharvest fruit drop in citrus. **Scientia Hort.** n.81, p.267-77, 1999.

BELASQUE JR., J.; JESUS JR., W. C. Concentração de inoculo e método de inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **Laranja**, v. 27, p. 263-272, 2006.

BOCK, C.H.; PARKER, P.E.; COOK, A.Z.; RILEY, T.; GOTTWALD, T.R. Comparison of assessment of citrus canker foliar symptoms by experienced and inexperienced raters. **Plant Disease**, n.93, p. 412-24, 2009.

GOTTWALD, T. R.; AUBERT, B.; ZHAO, X.- Y. Preliminary analysis of citrus Greening (Huanglungbin) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. **Phytopathology**, v.79, n.1, p.687-93, 1989.

GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H. A device for precise and nondisruptive stomatal inoculation of leaf tissue with bacterial pathogens. **Phytopathology**, n.82, p.930–35, 1992.

GOTTWALD, T.R.; SUN, X.; RILEY, T.; GRAHAM, J.H.; FERRANDINO, F.; TAYLOR, E.L. Geo-referenced spatiotemporal analysis of the urban citrus canker epidemic in Florida. **Phytopathology**, v.92, p.361-77, 2002.

LARANJEIRA, F.F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; COLETTA-FILHO, H.D. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: Mattos Junior, D., et al. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag. Centro APTA Citros Sylvio Moreira. p. 509 -566, 2005.

SCHAAD, N.W.; POSTNIKOVA, E.; LACY, G.; SECHLER, A.E.; AGARKOVA, I.V. Emended classification of xanthomonad pathogens on citrus. **Systematic and Applied Microbiology**, v.29, p.690-95, 2006.

SILVA, J.A.A.; DONADIO, L.C.S. **Reguladores Vegetais na citricultura**. Boletim Citrícola, UNEP/FUNEP/EECB, v.3, p.5, 1997.