



PRESENÇA DE *LASIODIPLODIA THEOBROMAE* (PAT.) GRIFFON & MAUBL EM PLANTAS COM SINTOMAS DO DESCAMAMENTO ERUPTIVO DOS CITROS (DEC)

HERMES PEIXOTO SANTOS FILHO¹; LILIAM ROSANE DE SANTANA²; CRISTIANE DE JESUS BARBOSA¹; MARIA ZÉLIA ALENCAR DE OLIVEIRA³; LAILA MANDEL CIVATTI⁴; ALMIR SANTOS RODRIGUES⁵

INTRODUÇÃO

O Descamamento Eruptivo dos Citros (DEC) era anteriormente denominado de sorose tipo Bahia (Sorose tBA), devido a semelhança com os sintomas da sorose A dos citros causada pelo Citros psorosis virus, (CPsV) (PASSOS et al., 1974). Posteriormente foi identificada como uma disfunção da casca em pomeleiros e laranjeiras que apresentavam descamamento no tronco e ramos, semelhante aos sintomas de sorose A (NICKEL et al., 1989; BARBOSA et al., 2003). Em trabalhos realizados por Roistacker (1993) o autor concluiu que se tratava de uma disfunção e que não poderia estar incluída no grupo das doenças causadas pela sorose A. Laranjeira et al., (2006) estudando a distribuição espacial e temporal do DEC concluíram que a disseminação da doença se deve apenas à fonte de inóculo primário, ainda que focos secundários tenham sido observados mas nunca dissociados do primário. A dispersão obedecia a direção do vento a partir do inóculo inicial indicando a hipótese de que a transmissão do DEC seja feita por um vetor de limitada habilidade de transmissão. Plantas adultas exibem descamamento intenso no tronco e nos ramos mais velhos podendo ser acompanhado por exsudação de goma (Figura 1 A). A área lesionada apresenta abaixo da zona descascada uma cobertura formada por uma película muito fina de coloração esverdeada que ao ser raspada, mostra os tecidos abaixo, aparentemente sadios (Figura 1 B). Em outras situações a coloração abaixo da área descascada apresenta coloração marrom intensa que se aprofunda para a parte interna do cambio (Figura 1 C) (NICKEL, 1997; BARBOSA et al., 1999). Entretanto, até o momento o DEC não tem a sua etiologia conhecida, mas a ocorrência localizada da doença e a presença de sintomas semelhantes aos causados pelo fungo *Lasioidiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., em citros (SANTOS FILHO; OLIVEIRA, 2009) levanta a hipótese de que

¹ Eng° Agro. Msc; Pesquisador B Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA, e-mail: hermes@cnpmf.embrapa.br

² Graduanda em Licenciatura em Biologia- UFRB – BA, e-mail: liliamrosane@hotmail.com

¹ Eng° Agro. PhD; Pesquisador A Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA, e-mail: barbosa@cnpmf.embrapa.br

³ Eng° Agro. Msc; Pesquisador B Bolsista Fapesb/ABDA-BA, e-mail: zeliaao@gmail.com

⁴ Graduanda em Biologia- UFBA-BA, e-mail: laila@civatti.org

⁵ Eng° Agro. MSc.; email: almirsomalia@yahoo.com.br

este pode ser o agente do DEC. *L. theobromae* é um fungo polífago e oportunista, com reduzida especialização patogênica, que infecta diversas espécies de plantas em regiões tropicais e temperadas, causando os mais variados sintomas tais como morte descendente, cancro de tronco, podridão de raízes, podridão de frutos, manchas foliares, entre outros (CARDOSO; FREIRE, 2002).

O Objetivo deste trabalho foi confirmar que o fungo *L. theobromae* está associado ao patossistema do descamamento eruptivo por meio de isolamentos, identificação e reinoculação em frutos suscetíveis sem sintomas e plantas sadias dos fungos presentes em cinquenta plantas básicas de citros do Banco ativo de Germoplasma (BAG – Citros) da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, Bahia, com sintomas típicos de descamamento.



Figura 1 - Sintomas do Descamamento Eruptivo dos Citros, com descamamento e exsudação de goma (A); área abaixo do descamamento de coloração verde (B) e área abaixo do descamamento de coloração marrom (C)

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionadas 50 plantas de citros, localizadas no Banco ativo de Germoplasma (BAG – Citros) da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, Bahia, afetadas por sintomas de descamamento eruptivo. As plantas selecionadas foram identificadas, georeferenciadas, e avaliadas quanto a presença de sintomas de acordo com a escala descrita por Barbosa et al. (1999). Foi coletado material dos tecidos das lesões, tanto dos que apresentavam a lesão descascada com coloração esverdeada, sem necrose, doravante denominado sintoma verde, quanto aquelas que apresentavam necrose de coloração marrom, mais característica dos sintomas causados por *L. theobromae*, doravante denominado sintoma marrom. Este material foi isolado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), e posteriormente repicados para meio Aveia-Agar a fim de proporcionar uma maior produção e fertilidade de picnídios do fungo. As culturas foram incubadas em estufa tipo B.O.D. à temperatura de 25 ± 1 °C, com 12 h de fotoperíodo. A identificação do fungo associado às lesões de descamamento eruptivo foi realizada por meio da identificação microscópica das características morfológicas apresentadas, utilizando chaves binárias de identificação, comparando-as com espécies já descritas na literatura (PUNITHLINGAM, 1976). Em cumprimento aos Postulados de Koch, foram realizados testes de patogenicidade das culturas identificadas com *L. theobromae* por meio de inoculação em frutos de mamão, cacau e em plantas de pomeleiro Duncan, em casa-de-vegetação, com posterior reisolamento e identificação dos fungos presentes. As inoculações foram feitas com discos de meio de cultura BDA contendo estruturas do

fungo, medindo 5 mm, em pomeleiros no tronco principal, logo abaixo da forquilha, ficando o inóculo em contato com o lenho da planta e nos frutos em orifícios próximos ao pedúnculo. Nas testemunhas, foram colocados discos de meio de cultura esterilizado, que não continham estruturas do fungo. A avaliação dos sintomas foi realizada a partir de 7 dias das inoculações por meio da observação de lesões nas plantas e frutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As colônias isoladas de 29 plantas, (58%) apresentaram crescimento em meio de cultura BDA de coloração a princípio acinzentada e posteriormente tornando-se negras com abundante micélio aéreo e ao reverso da cultura foscas e negras com picnídios simples ou compostos a maioria agregados, estromáticos, ostiolados, subovoides, mas não produziram esporos. As 21 culturas restantes, (42%) tinham as características da colônia já descrita, porém, com produção de conídios, a princípio asseptados e hialinos, tornando-se uniseptados e de coloração castanha-amarelada a negro, sendo longitudinalmente estriados. As dimensões destes conídios variaram entre (18 – 30) x (10 – 15) µm, com presença de paráfises, morfologias característica de *L. theobromae*. Não foi encontrada a fase sexual do fungo, *Physalospora rhodina* Berk e Curt. (V. Arx).

Os frutos de mamão e cacau inoculados apresentaram lesões ao 7º dia de observação, das quais os isolamentos apresentaram, nas colônias em BDA, esporos de *L. theobromae* a partir do 21º dia. As inoculações feitas em plantas sadias de pomeleiro Duncan apresentaram exsudação de goma no 8º dia e descamamento no tronco após o 21º dia, sintomas característicos do Descamamento Eruptivo dos Citros, cujos reisolamentos confirmaram a presença de colônias e esporos típicos de *L. theobromae*, concluindo os postulados de Koch.

Tabela 1 - Plantas cítricas do BAG Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura cujos sintomas de DEC (verde ou marrom) originaram isolados com esporulação em meio Batata Dextrose Agar (+) e apenas desenvolvimento de colônias sem esporulação (-).

1	Pomelo	+	11	Tahiti	+	21	Laranja	+	31	Híbrido	-	41	Híbrido	-
2	Pomelo	-	12	Tahiti	-	22	Laranja	+	32	Híbrido	-	42	Híbrido	+
3	Pomelo	+	13	Tahiti	-	23	Laranja	-	33	Híbrido	-	43	Híbrido	-
4	Pomelo	+	14	Tahiti	+	24	Laranja	+	34	Híbrido	-	44	Híbrido	-
5	Pomelo	+	15	Tahiti	-	25	Laranja	-	35	Híbrido	-	45	Híbrido	-
6	Pomelo	-	16	Tahiti	-	26	Laranja	+	36	Híbrido	-	46	Tangerina	+
7	Pomelo	-	17	Tahiti	-	27	Laranja	-	37	Híbrido	-	47	Tangerina	-
8	Pomelo	+	18	Tahiti	-	28	Laranja	+	38	Híbrido	+	48	Tangerina	-
9	Pomelo	+	19	Tahiti	-	29	Laranja	+	39	Híbrido	-	49	Tangerina	+
10	Pomelo	+	20	Tahiti	-	30	Laranja	-	40	Híbrido	+	50	Tangerina	+

Os resultados evidenciam a presença de *L. theobromae* tanto em plantas com descamamento atípico para sintomas do fungo (verde) assim como para sintomas característicos de cancro do tronco (marrom), desfazendo a dúvida de que sintomas atípicos não seriam causados por um agente etiológico e sim por uma disfunção de causa desconhecida (NICKEL 1997). O fungo *L. theobromae* pode ser disseminado pelo vento, insetos, água, semente, animais silvestres e pelo homem, via instrumentos agrícolas (CARDOSO; FREIRE, 2002). Este resultado pode ser comprovado por (LARANJEIRA et al., 2006), que, em estudos sobre o (DEC), apresentaram a disfunção como sendo causada a partir de um foco inicial, com relevância para a interferência de ventos e insetos de baixa mobilidade. Como não foi realizada a caracterização genética dos isolados obtidos, torna-se difícil estabelecer hipóteses para o fato de que 58% deles não esporularam. Contudo a aplicação de técnicas moleculares na estimativa da variabilidade genética de fitopatógenos, com sequenciamento do DNA e técnicas baseadas em PCR (*Polimerase Chain Reaction*), como os marcadores microssatélites, poderão em próxima etapa do trabalho, elucidar algumas questões não esclarecidas.

CONCLUSÕES

Após a identificação de *L. theobromae* isolado das cinquenta plantas com sintomas de DEC, a inoculação em plantas saudáveis, recuperação e identificação positiva deste fungo, fica definida a sua etiologia no patossistema do descamamento eruptivo dos citros.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, C. J.; VALVERDE, P. R. H.; ALMEIDA, R.; SANTOS FILHO, H. P.; NICKEL, O.; VILARINHOS, A. D. Incidência e severidade de sintomas de sorose tipo Bahia em variedades de laranjas doces. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 382-384, 1999.
- BARBOSA, C. J.; SANTOS FILHO, H. P.; NICKEL, O.; PASSOS, O. S. Bahia Bark Scaling. **IOCV News**, p. 3, jan. 2003.
- CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O. Identificação e manejo das principais doenças. In: Melo, Q. M. S. (ed.) **Caju Fitossanidade**. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica. p.41-51, 2002.
- LARANJEIRA, F. F.; BARBOSA, C. J.; SANTOS FILHO, H. P.; GONÇALVES, T. F.; NICKEL, O. Progress, spread and natural transmission of Bahia Bark Scaling of Citrus in Brazil. **Annals of Applied Biology**, v. 148, p. 187-195, 2006.
- NICKEL, O. A sorose dos citros. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, n. 23, p.196-206, 1997.
- NICKEL, O. Transmissibilidade da sorose tipo Bahia por enxertia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n.14: p. 272-275, 1989.

PASSOS, O. S.; COELHO, Y. S.; CUNHA-SOBRINHO, A. P. More information on Psorosis disease in Bahia, Brazil. **In: Conference of the International Organization of Citrus Virologists, 7, 1974, Riverside, CA. Proceedings... Riverside, CA: USA: IOCV, 1974, p. 135-138.**

PUNITHALINGAM, E. *Botryodiplodia theobromae*. **C.M.I. - Descriptions of pathogenic fungi and bacteria.** n. 519, 1976.

ROISTACHER, C. N.; Psorosis – a review. **In: Conference of the International Organization of Citrus Virologists, 12, 1993, Riverside, CA, Proceedings... Riverside, CA, USA: IOCV, 1993, p. 139–154.**

SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, A. A. R. **Cancro do Tronco do limão Tahiti.** Cruz das Almas, Bahia, 2p. (EMBRAPA –CNPMF). Citros em Foco, 2009.