

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DIEGO HENRIQUE PEREIRA CATANI

O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

Maringá
2015

DIEGO HENRIQUE PEREIRA CATANI

O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof. Dr. William Mário de Carvalho Nunes

Maringá
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

C357e

Catani, Diego Henrique Pereira

O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico / Diego Henrique Pereira Catani. -- Maringá, 2015.

ix, 43 f. : il., tabs.

Orientador: Prof. Dr. William Mário de Carvalho Nunes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2015.

1. Cancro cítrico - Diâmetro das lesões. 2. Cancro cítrico - Avaliação - Escalas diagramáticas. 3. Cancro cítrico - Avaliação - Folhas destacadas. 4. Laranja - Abscisão do fruto. 5. Laranja - Força de arranquio do fruto. 6. Regulador vegetal 2,4-D - Efeito fisiológico. 7. Regulador vegetal 2,4-D - Peroxidase solúvel (POD). 8. Laranja doce (*Citrus sinensis*) - Cancro cítrico. 9. Laranja - Ratio - %Suco - Rendimento industrial. I. Nunes, William Mário de Carvalho, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD 21.ed. 634.304932

AMMA-003001

*Só quando podemos desenvolver
livremente as capacidades que possuímos é
que vivemos como seres livres.*

– Jostein Gaarder, O Mundo de Sofia.

*Eu dedico aos meus avós
Atilio e Evanilde Catani, por toda
confiança e apoio dispostos sobre
minhas decisões, prova irrefutável do
amor que compartilhamos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, meu orientador Prof. Dr. William Mário de Carvalho Nunes, pela paciência, apoio e incentivo para o meu crescimento como profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PGA), pela oportunidade, em especial aos professores, pelos ensinamentos e experiências compartilhados.

Ao Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada (NBA), da Universidade Estadual de Maringá, pela disponibilidade do laboratório, em especial aos funcionários Dr. Carlos Alexandre Zanutto e José Alcides Renolli, pelo auxílio técnico e cumplicidade.

À minha equipe, Aline Maria Orbolato Gonçalves-Zuliani, Aline Vanessa Sauer, Angélica Albuquerque Tomilhero Frias, Bruna Rafaela Barbieri, Danielle Sayuri Yoshida Nanami, Hudson Sérgio de Souza, Juliana Glória Franco, Larissa Siqueira Soares, Paula Thaís Requena Nocchi, que ofereceram todo o seu apoio para a realização deste trabalho.

Aos Srs. José Antônio Pratinha e José Gilberto Pratinha por disponibilizarem suas propriedades para implantação dos experimentos, e não menos importante, ao Gerente Waldemar Zanini Júnior, a esses agradeço pela prestatividade e por compartilharem seus conhecimentos sobre a citricultura.

Ao Laboratório de Bioquímica de Plantas (BIOPLAN), da Universidade Estadual de Maringá, pela disponibilidade do laboratório, em especial ao Dr. Osvaldo Ferrarese Filho, Dr^a. Aline Finger Teixeira e Dr^a. Rita de Cássia Siqueira Soares, por compartilharem parte de seu conhecimento durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Terezinha Aparecida Guedes, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

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 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), é um produto sintético capaz de exercer ação similar a uma auxina, frequentemente utilizado nas concentrações de 5 a 20mg.L⁻¹, reduzindo a queda de frutos cítricos. É notado que diferentes concentrações de 2,4-D podem repercutir na interação da molécula na planta, podendo aumentar a taxa de divisão celular, retardar a senescência, como também resultar na proliferação de calos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações de 2,4-D no desenvolvimento de *X. citri* subsp. *citri* em meio NA (0, 0,15 0,30 0, 0,45 0,60 e 0,75 mg de i.a. L⁻¹), em folhas destacadas (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹), e a campo (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹) em folhas, na abscisão e força de arranquio de frutos na planta em condição de campo, onde foram realizadas cinco avaliações semanalmente, nos meses de Maio a Julho de 2014. As concentrações de 2,4-D em meio NA não influenciaram no número de UFCs de *X. citri* subsp. *citri*. Foi observado que a média do diâmetro das lesões presentes em folhas destacadas e na atividade da peroxidase diminuíram gradativamente com o aumento da concentração de 2,4-D. O manejo integrado de cancro cítrico somado aos fatores climáticos não favoreceu a disseminação da doença, resultou em uma severidade inferior a 1% de cancro cítrico em ambas as áreas, não gerando dados suficientes para relacionar a doença com os tratamentos. As variáveis avaliadas a campo não se diferenciaram da testemunha.

Palavras-chave: folhas destacadas, abscisão, força de arranquio, diâmetro das lesões

The physiological effect of the plant growth regulator 2,4-D on leaves and fruits of sweet orange (*Citrus sinensis*) with citrus canker

ABSTRACT

The citrus canker, caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, is a relevant disease to citrus, because it interferes directly in the production and fruit quality. This bacteria is able to colonize young leaves tissues, fruits and branches of plants, and may result in defoliation and premature fruit drop. 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) is a synthetic product capable to act similar as an auxin, often used in concentrations between 5 to 20mg.L⁻¹, reducing the citrus fruit drop. It is noted that different concentrations of 2,4-D can reflect the interaction of the molecule in the plant, increasing the rate of cell division, delaying senescence, and also result in callus proliferation. The current study aimed to evaluate the effect of 2,4-D concentrations in the development of *X. citri* subsp. *citri* in NA medium (0, 0,15 0,30 0, 0,45 0,60 e 0,75 mg de i.a. L⁻¹), on detached leaves (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹), and on field conditions (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹) on leaves, in the abscission and pull-off force of the fruit in the plant, performing five evaluations weekly in the months of May to July of 2014. The 2,4-D concentrations in NA did not influence in the number CFU of *X. citri* subsp. *citri*. It was observed on detached leaves that the mean diameter of lesions and peroxidase activity gradually decreased with increasing 2,4-D concentrations. The integrated management of citrus canker summed to the climatic factors that did not favor the spread of the disease, resulted in a lower severity than 1% of citrus canker in both areas, not generating enough data to correlate disease with treatments. The variables evaluated at the field did not differ from control.

Keywords: detached leaves, abscission, pull-off force, diameter of lesions

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- 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 subsequente incubação das bactérias sete vezes diluídas a partir da concentração de 10^8 UFC mL⁻¹..... 20
- Tabela 2. Efeito de concentrações de 2,4-D no diâmetro das lesões de cancro cítrico aos 7 dias após a inoculação de *X. citri* subsp. *citri* na concentração de 10^8 UFC mL⁻¹ em folhas destacadas, destacadas de plantas aos 21 dias após a aplicação em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), da variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná 22
- Tabela 3. Efeito de concentrações de 2,4-D na peroxidase solúvel (POD) ($\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa fresca), aos 02, 07 e 14 dias após a aplicação, em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná.. 22

CAPÍTULO II

- Tabela 1. Efeito de concentrações de 2,4-D na abscisão dos frutos, força de arranquio do fruto, diâmetros do fruto, do pedúnculo e da casca, nas cinco avaliações de Maio a Junho de 2014 em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'IAPAR 73', da Fazenda Sete Lagoas, Paranavaí, Paraná..... 35
- Tabela 2. Efeito de concentrações de 2,4-D na força de arranquio do fruto, diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, na avaliação referente à 28 dias após a aplicação em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'IAPAR 73', da Fazenda Sete Lagoas, Paranavaí, Paraná..... 36
- Tabela 3. Efeito de concentrações de 2,4-D na abscisão dos frutos, força de arranquio do fruto, diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, nas cinco avaliações de Junho a Julho de 2014 em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná 36

Tabela 4. Efeito de concentrações de 2,4-D na força de arranquio do fruto, diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, na avaliação referente à 28 dias após a aplicação em plantas de laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranaíba, Paraná.....	37
Tabela 5. Efeito de concentrações de 2,4-D na produtividade (cx. pl. ⁻¹), ratio (°bx/acidez), rendimento do suco (%suco) e rendimento industrial (cx. ton ⁻¹), na avaliação de 28 dias após a aplicação, em plantas de laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>), variedade 'IAPAR 73', da Fazenda Sete Lagoas, Paranaíba, Paraná.....	38
Tabela 6. Efeito de concentrações de 2,4-D na produtividade (cx. pl. ⁻¹), ratio (°bx/acidez), rendimento do suco (%suco) e rendimento industrial (cx. ton ⁻¹), na avaliação de 28 dias após a aplicação, em plantas de laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranaíba, Paraná.....	38

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1. Box plot do diâmetro de lesões de cancro cítrico nos tratamentos de 2,4-D com 0 [água](T1), 0,20 (T2), 0,50 (T3) e 0,80 (T4) mg de i.a. L⁻¹ 21
- Figura 2. Box plot da atividade da POD nos tratamentos com 0 [água](T1), 0,20 (T2), 0,50 (T3) e 0,80 (T4) mg de i.a. L⁻¹ de 2,4-D 23

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
1. A citricultura brasileira e paranaense.....	3
2. O cancro cítrico	3
3. O regulador vegetal 2,4-D.....	5
REFERÊNCIAS	8
CAPÍTULO I	
O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas destacadas de laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>) com cancro cítrico	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
1. Material vegetal e isolado de <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	17
2. Efeito de 2,4-D em <i>X citri</i> subsp. <i>citri</i> cultivadas em meio Nutriente Ágar.....	17
3. Efeito do 2,4-D em folhas destacadas inoculadas com <i>X. citri</i> subsp. <i>citri</i>	18
4. Atividade enzimática da peroxidase (POD) em folhas de citros.....	19
5. Análise estatística	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO II	
O efeito do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>) com cancro cítrico	28
RESUMO	28
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO.....	30
MATERIAL E MÉTODOS.....	32
1. Área experimental.....	32
2. Material vegetal	32
3. Distribuição do experimento	33
4. Avaliação do experimento.....	33
5. Análise estatística	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS	41

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor de laranja do mundo, com uma produção nacional de laranja estimada em 14,8 milhões de toneladas no ano de 2014. O país ainda se destaca pela área colhida, que corresponde a aproximadamente 650,7 mil hectares, com média de produção de 22,788 t ha⁻¹, sendo responsável por aproximadamente 40% das laranjas produzidas mundialmente (IBGE, 2014). No entanto, a produção de citros de 2014 foi considerada a menor alcançada nos últimos 25 anos no país, isso por consequência de condições climáticas e doenças as quais a cultura está exposta (IBGE, 2014; FUNDECITRUS, 2014).

Apesar do potencial produtivo, a citricultura continua ameaçada por diversas doenças que resultam na queda da produtividade e qualidade dos frutos (Alegria et al., 2005). Em decorrência disso, várias doenças tem sido estudadas nas condições do estado do Paraná, podendo ser citadas a Mancha Preta dos Citros causada pelo fungo *Guignardia citricarpa* (Caixeta et al., 2008; Nunes et al., 2006); Clorose Variegada dos Citros (CVC), causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* (Nunes et al., 2007) a qual depende de vetores para sua disseminação (Gonçalves et al., 2008; Molina et al., 2010); Citrus Tristeza Vírus (CTV) (Carraro et al., 2003, Costa et al., 2010); Gomose causada por *Phytophthora spp.* (*P. nicotianae* e *Phytophthora citrophthora*) (Caixeta, 2013); Huanglongbing (HLB) causado pela bactéria *Candidatus liberibacter spp.* (Sauer et al., 2014; Mulati et al., 2013) e o Cancro Cítrico causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. (Vargas et al., 2013).

O cancro cítrico é notado como uma doença grave na cultura do citros, nociva para grande parte das variedades comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) (Anthoni & Coggins, 1998), tendo como característica a capacidade de infectar tecidos vegetais por pequenos ferimentos, seguidos pela presença de água (Bock et al. 2009). Podendo também ser introduzida através de estômatos (Gottwald et al., 1992), onde em condições severas da doença, pode ocasionar desfolha da planta, seca de ramos e inclusive a queda de frutos (Gottwald et al., 1989).

Deste modo, o 2,4-D (ácido 2,4 - diclorofenoxiacético), um produto sintético, capaz de exercer ação hormonal similar a uma auxina (Schafer et al., 2001), foi o primeiro tratamento desenvolvido em pré-colheita para prevenção da queda de frutos de citros (Monselise & Goren 1978, apud Almeida et al., 2002). E segundo Anthony & Coggins (1998), se tornou comum em quase todos os países produtores de citros, com testes pioneiros em laranjas do tipo umbigo (Stewart et al., 1951), Valência (Stewart et al., 1952) e Pomelo (Stewart & Parker, 1954), além disso, esse ainda foi notado em possuir o atributo secundário

de aumentar o tamanho dos frutos (Erickson & Hield, 1962). Contudo, o modo como esse regulador vegetal interage com a planta e a doença interferindo na abscisão prematura dos frutos não está totalmente elucidada.

Pela relevante importância da citricultura no agronegócio mundial e o cancro cítrico ser um fator limitante na produção de frutos com qualidade para a indústria e especialmente para o comércio *in natura*, faz-se necessário a busca por alternativas que minimizem os danos acarretados pela doença. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do 2,4-D na redução do inoculo de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* e conseqüentemente na redução da abscisão prematura de frutos em pomares afetados pelo cancro cítrico.

REVISÃO DE LITERATURA

1. A citricultura brasileira e paranaense

A produção brasileira de citros se baseia em quase que exclusivamente ao cultivo de laranjas, com as principais variedades 'Pêra' (37,8%), 'Natal' (23,9%) e 'Valência' (23,9%) (Donadio et al., 2005), restringidas aos porta-enxertos limão 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck) (80%) e tangerina 'Cleópatra' (*C. reshni* hort. ex. Tanaka) (10%), representando uma estreita base genética empregada (Machado, 1992). No país, o principal produto comercializado no mercado cítrico é o suco de laranja concentrado e congelado, o FCOJ – *frozen concentrate orange juice*, representado por 851 mil toneladas (66° Brix) na safra 2013/14 (CitrusBR, 2014), o qual é responsável pela maior parte das exportações do setor.

Entre os principais estados produtores de laranja do país, São Paulo representa 71% dessa, seguido pelo estado da Bahia, Minas Gerais, Sergipe e Paraná respectivamente (IBGE, 2014). Embora o Paraná tenha passado por um período sem permissão do cultivo de citros nas décadas de 60 e 70, devido à ocorrência de cancro cítrico (Rinaldi, 1998), no final da década de 80 a citricultura foi replantada graças a estudos desenvolvidos pelo Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR (Nunes et al., 2010), desde então, a cultura do citros vem expandindo em área e tecnificação dos pomares, de tal modo a alcançar as maiores médias de produção do país, por anos consecutivos, equivalente à 33,9 t ha⁻¹ (IBGE, 2014). Assim, similar à realidade nacional, as principais variedades cultivadas no Paraná são a 'Valência', 'Folha Murcha', 'IAPAR 73', e com destaque a variedade 'Pêra,' detendo a maior área cultivada tanto pela sua aceitação no mercado da fruta *in natura*, quanto para o processamento do fruto (Gonçalves-Zuliani, 2014).

2. O cancro cítrico

O cancro cítrico, causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (SCHAAD et al., 2006), é considerado uma doença de grande importância na maioria das áreas produtoras de citros em todo o mundo, ao ponto de muitos países restringirem a importação de áreas onde o cancro cítrico é endêmico. Essa doença é quarentenária A2 em vários países produtores (Gottwald et al., 2002).

No Brasil, a primeira ocorrência da doença foi registrada em 1957, no município de Presidente Prudente, São Paulo (Bitancourt, 1957), e apesar dos esforços iniciais para evitar a disseminação do inoculo, no mesmo ano ela foi encontrada nos estados do Mato Grosso do Sul e Paraná (Amaral, 1957). Genótipos de citros completamente resistentes à doença ainda são desconhecidos, como também métodos de controle altamente eficientes. Todavia, há diferenças entre a resistência das variedades (Gottwald et al., 2002).

A bactéria infecta a planta dependendo da fase de crescimento de seu hospedeiro, e essa infecção não ocorre de forma uniforme 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 patógeno é capaz de infectar tecidos jovens de folhas, ramos e frutos de plantas suscetíveis, sendo observada necrose e lesões erosivas após duas semanas da infecção. A bactéria coloniza tecidos jovens das folhas, frutos e ramos através de aberturas naturais, como ferimentos e estômatos (Gottwald & Graham, 1992). A doença reduz a área fotossintética foliar, e ambos folhas e frutos podem apresentar senescência e abscisão prematura (Bock et al., 2011). Lesões necróticas formadas na superfície dos frutos podem torná-los impróprios para a comercialização, principalmente no mercado *in natura* (Gottwald et al., 2009).

No estado de São Paulo, ainda está em vigor a lei que adota a eliminação de plantas contaminadas pelo cancro cítrico, incluindo pulverização de cúpricos nas demais plantas abrangidas pelo raio de 30 metros da planta contaminada (CDA-SP, 2013). Entretanto, no estado do Paraná esta não é uma prática usual desde 1987, após a modificação das normas da CANECC (Campanha Nacional de Erradicação do Cancro Cítrico), que redefiniu os critérios de interdição, erradicação e liberação de municípios para a responsabilidade de propriedades (Croce, 2005).

Por décadas, tem sido adotada rigorosas recomendações de pulverização de cúpricos a cada emissão de brotação, já que aplicações mensais de oxiclreto de cobre podem reduzir a severidade da doença, uma vez que esse possui a característica de ação de proteção dos tecidos suscetíveis contra a penetração da bactéria (Behlau et al., 2007). Por outro lado, cúpricos não possuem efeito curativo, o que reforça a necessidade da adoção de práticas culturais como o uso de mudas sadias, cultivares resistentes, quebra-ventos, a poda de tecidos lesionados junto à estas pulverizações à base de cobre (Leite Jr.; Mohan, 1990) visando minimizar períodos de exposição do tecido vegetal ao inoculo presente na área (Bock et al., 2014).

Algumas estirpes de *Xanthomonas* spp., incluindo estirpes de *X. citri* provenientes da Flórida e Argentina, foram geneticamente caracterizadas como resistentes ao cobre, o elemento principal no manejo do cancro cítrico, e ainda, as mesmas se mostraram capazes de transferir esses genes para estirpes não resistentes (Behlau et al., 2012). Em contrapartida, trabalhos realizados por Chen et al. (2013), Furman et al. (2013) e Fu & Liu (2013) têm demonstrado a resistência ao cancro cítrico por plantas geneticamente modificadas.

3. O regulador vegetal 2,4-D

O uso de reguladores vegetais vem ganhando destaque na agricultura nas últimas décadas, conhecidos pela sua capacidade de influenciar no florescimento, na cultura de tecidos e células, no enraizamento, na redução abscisão, na qualidade e na produção de frutos. Os mais 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 as giberilinas (ácido giberélico [GA3]) (Silva & Donadio, 1997).

O 2,4-D é uma auxina sintética frequentemente utilizada nas concentrações de 5 a 20mg.L⁻¹, controlando a queda dos frutos durante o período de pré-colheita de praticamente todas as espécies cítricas, pois este regulador vegetal diminui a atividade da celulase e da poligalacturonase, inibindo a separação entre o cálice e o fruto (Monselise 1979, apud Almeida et al., 2002).

El-Otmani et al. (1990) relata que tratamentos com 2,4-D na prevenção da queda de frutos cítricos, reduziram a queda dos frutos de pomelo (Stewart & Parker, 1947), limão (Stewart & Hield, 1950), tangerina (Chunda-wat et al., 1975; Kedar & Gopalkrishna, 1976) além de laranjas do tipo umbigo (Sarooshi & Stannard, 1975), um manejo que se tornou mundialmente utilizado.

A prática padrão no controle da queda dos frutos em citros é a aplicação do tratamento em um período próximo e anterior ao início da queda natural dos frutos (Anthony & Coggins, 1999). Todavia, Schäfer et al. (2001) obteve resultados similares, porém com aplicações de 2,4-D logo após a queda das pétalas.

Em aplicações na pré-colheita de citros, El-Otmani et al. (1990), com o auxílio de um dinamômetro Gauge, constatou que a casca de frutos de tangerina tratados com 2,4-D eram mais firmes, e que as mesmas amaciaram lentamente em relação à testemunha, diferenciando estatisticamente. Quanto a coloração da casca, os tratamentos com 2,4-D atrasaram por um

mês na mudança do verde para o alaranjado. Além disso, os valores mais altos de queda dos frutos, desde o início do amadurecimento, até a colheita, ocorreram em plantas não tratadas, já os tratamentos que receberam o regulador vegetal obtiveram os menores valores.

Em estudo realizado por Anthony & Coggins (1999), onde os frutos presentes sob a copa das árvores antes da aplicação de 2,4-D foram removidos da área experimental, e os frutos que caíram depois dessa foram contados, classificados como doentios e não doentios e subsequentemente removidos, apesar dos dados não terem sido publicados, foi constatado que nos tratamentos de 2,4-D, mesmo nos períodos de muita queda dos frutos, houve uma menor incidência de frutos doentios, quando comparado com a testemunha. Este resultado é desejável em condições com alta infestação de cancro cítrico, onde o tratamento hormonal pode auxiliar na prevenção da doença.

Já em estudo realizado por Schäfer et al. (2001), não foi detectado sintomas de toxidez nas plantas decorrentes da aplicação de 2,4-D, e ainda foi constatado que a concentração de 15 mg L⁻¹ não afetou as características físico-químicas do fruto, como teor de suco dos frutos e sólidos solúveis totais. Todavia, foi relatado que uma aplicação de 15 mg L⁻¹ após a queda das pétalas foi suficiente para aumentar o peso médio dos frutos, o número de frutos colhidos, e consequentemente a produção.

El-Otmani et al. (1990) ressalta que a resposta dos reguladores de crescimento pode levar a resultados diferentes em trabalhos futuros, já que os mesmos estão inter-relacionados a fatores como local, variedade, estágio de desenvolvimento do fruto, intervalo de aplicação e concentrações utilizadas.

Ribnicky et al. (1996), demonstrou que a adição de 2,21 g L⁻¹ de 2,4-D em meio de cultura de tecidos de cenoura, apresentou uma característica peculiar de proliferação de calo nas extremidades cortadas dos hipocótilos utilizados, tomando conta de todo o tecido em 4 semanas. A concentração absorvida por estes tecidos se mantiveram em média entre 4,42 mg L⁻¹ de 2,4-D livre e 6,63 mg L⁻¹ de 2,4-D ligado, agindo de forma direta nos calos sem interferir na concentração endógena das auxinas. Resultados similares foram encontrados por Davidonis et al., (1980), que utilizou concentrações entre 0,26 à 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D em cultura com tecidos de soja, evidenciando que estas concentrações permanecem frequentes pela característica da molécula se ligar ao ácido glutâmico (78%) logo no primeiro dia de incubação, e após oito dias esta fase se converte na ligação com glicosídeos hidroxilados solúveis em água, como o éter solúvel (65%), fazendo com que o tecido volte a fase fisiológica jovem, aumentando expressivamente a taxa de divisão celular. Ainda, em estudo realizado por Puschmann & Romani (1983), analisando a interação do 2,4-D com a produção

de etileno em cultura de células de pêra, na concentração de $0,22 \text{ mg L}^{-1}$ foi observado um estímulo representado por metade da resposta máxima da produção de etileno, e que concentrações superiores à $2,21 \text{ mg L}^{-1}$ são inibitórias à síntese do mesmo.

Em estudos realizados por Ribnicky et al. (1996), Davidonis et al. (1980) e Puschmann & Romani (1983), é notado que a concentração de 2,4-D pode mudar o efeito na planta, podendo interagir com hormônios ligados a divisão celular e senescência, ou agir diretamente de forma similar a uma auxina sem interferir nesses.

REFERÊNCIAS

- ALEGRIA, M.C.; SOUZA, D.P.; ANDRADE, M.O.; DOCENA, C.; KHATER, L.; RAMOS, C.; da SILVA, A.C.R.; FARAH, C.S. Identification of new protein-protein interactions involving the products of the chromosome and plasmid-encoded type IV secretion loci of the phytopathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **Journal of Bacteriology**, v.187, p. 2315-325, 2005.
- ALMEIDA I. M. L.; JOÃO D. R.; ONO E. O. Aplicação de Reguladores Vegetais no Retardamento da Abscisão de Frutos de Laranjeira-'Hamlin'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.24, n.2, p.306-11. Agosto de 2002.
- AMARAL, S. F. Providências para a erradicação do Cancro Cítrico. **O Biológico**. v.23, p.112-23, 1957.
- 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.
- BEHLAU F.; BELASQUE JR. J.; BERGAMIM FILHO, A.; LEITE JR., R.P. Incidência e Severidade de Cancro Cítrico em Laranja 'Pêra Rio' sob Condições de Controle Químico e Proteção com Quebra-Vento. **Fitopatologia Brasileira**. v.32, n.4 p.311-17, Jul./Ago. 2007.
- BEHLAU F.; HONG J. C.; JONES J. B.; GRAHAM J. H. Evidence for Acquisition of Copper Resistance Genes from Different Sources in Citrus-Associated Xanthomonads. **The American Phytopathological Society**. v.103, n.5, 2013.
- BITANCOURT, A.A. O Cancro Cítrico. **O Biológico**. v.23, p.101-11, 1957.
- BOCK, C. H.; PARKER, P. E.; COOK, A. Z.; GRAHAM, J. H.; GOTTWALD, T. R. **Infection and decontamination of citrus canker-inoculated leaf surfaces**. Crop Protection vol. 30, p. 259-264. 2011.
- BOCK, C.H.; GRAHAM, J.H.; GOTTWALD, T.R.; COOK, A.Z.; PARKER, P.E. Effect of the duration of inoculum exposure on development of citrus canker symptoms on seedlings of Swingle citrumelo. **Eur J Plant Pathol**, v.138, p.237-45, 2014.
- 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.
- BRAIDO, Ricardo. **Elaboração e validação de escalas diagramáticas para avaliação de cancro cítrico em frutos de laranja**. 2011. 83p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá. 2011.
- CAIXETA, M.P.; CORAZZA, M.J.; OLIVEIRA, R.R.; ZANUTTO, C.A.; NUNES, W.M.C.; VIDA, J.B. Caracterização morfofisiológica e identificação molecular de isolados de *Guignardia citricarpa*, agente patogênico da mancha preta dos citros. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v.30, n.5, p.625-30, 2008.

CAIXETA, M.P.; NUNES, W.M.C.; SANTOS, A.F.; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B. Espécies de *Phytophthora* associadas à gomose em pomares de citros no Estado do Paraná, Brasil. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v.39, n.4, p.242-47, 2013.

CARRARO, B.P. et al. Avaliação de complexos do Citrus tristeza virus da região Norte do Estado do Paraná por meio de testes imunológicos e SSCP do gene da capa protéica. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v.25, n.2, p.269-73, 2003.

CDA-SP, Defesa Agropecuária Estado de São Paulo. **Resolução SAA - 147, de 31/10/2013**. 2013. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=981>>. Acesso em: 15 Dez. 2014.

CHEN X.; BARNABY J.Y.; SREEDHARAN A.; HUANG X.; ORBOVI V.; GROSSER J. W.; WANG N.; DONG W.; SONG W. Over-expression of the citrus gene CtNH1 confers resistance to bacterial canker disease. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.84, p.115-22, 2013.

CITROSBR. Marcos Fava Neves. **O retrato da citricultura brasileira**. Markestrat, 2014.

COSTA, A.T.; NUNES, W.M.C.; ZANUTTO, C.A.; MULLER, G.W. Stability of Citrus tristeza virus protective isolates in field conditions. **Pesq. agropec. bras.** v.45, n.7, p.693-700. 2010.

CROCE FILHO, J. **Avaliação do cancro cítrico em variedades de citrus em condições de campo no noroeste do Paraná**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, 2005.

DAVIDONIS G. H.; HAMILTON R. H.; MUMMA R. O. Metabolism of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Soybean Root Callus. **Plant Physiol**. v. 66, p.537-40, 1980.

DONADIO, L.C.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; MOREIRA, C.S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: MATTOS JÚNIOR D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JÚNIOR, J. **Citros**. Campinas, Instituto Agrônômico e FUNDAG, 2005. Cap. 1. p.1-18.

EL-OTMANI, M.Ç M'BAREK, A. A.; COGGINS C. W. JR.; GA₃ e 2,4-D prolong on-three storage of citrus in Morroco. **Scientia Horticulturae**, Riverside-CA, v.44, p.241-249, 1990.

FU X. & LIU J. Transcriptional Profiling of Canker-Resistant Transgenic Sweet Orange (*Citrus sinensis* Osbeck) Constitutively Overexpressing a Spermidine Synthase Gene. **BioMed Research International**. ID.918136, 2013.

FUNDECITRUS, Fundo de Defesa da Agricultura. **Levantamentos**. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/levantamentos>>. Acesso em: 23 Dez. 2014.

FURMAN N.; KOBAYASHI K.; ZANEK M. C.; CALCAGNO J.; GARCÍA M. L.; MENTABERRY A. Transgenic sweet orange plants expressing a dermaseptin coding sequence show reduced symptoms of citrus canker disease. **Journal of Biotechnology**. v.167, p.412–19, 2013.

GONÇALVES, A.M.O.; MOLINA, R.O.; NUNES, W.M.C.; ZANUTTO, C.A. Incidência de *Dilobopterus costalimai* Young e *Acrogonia citrina* Marucci & Cavichioli, em pomares cítricos no noroeste paranaens. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v.30, n.3, p.321-24, 2008.

GONÇALVES-ZULIANI, A.M.O. **Avaliação da resistência de diferentes genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*) ao cancro cítrico e estudo da diversidade genética de *Xanthomonas citri* subsp. *citri***. Tese (Doutorado) 149p. Universidade Estadual de Maringá, 2014.

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.; GRAHAM, J. H.; BOCK, C. H. et al.; **The epidemiological significance of post-packinghouse survival of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* for dissemination of Asiatic citrus canker via infected fruit**. *Crop Protection* 28, 508–24. 2009.

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.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE – Estatística da produção agrícola**. Disponível em: <<http://censo2010.ibge.gov.br/es/noticias-censo?busca=1&id=1&idnoticia=2784&t=en-noviembre-ibge-estima-cosecha-el-3-superior-la-2013&view=noticia>>. Acesso em: 21 Dez. 2014.

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 Agrônômico e Fundag. Centro APTA Citros Sylvio Moreira. p. 509 -566, 2005.

LEITE JUNIOR, R.P.; MOHAN, S.K. Integrated management of the citrus bacterial canker disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in the State of Paraná, Brazil. **Crop Protection**. v.9, p.3-7, 1990.

MOLINA, R.O.; GONÇALVES, A.M.O.; ZANUTTO, C.A.; NUNES, W.M.C. Populational fluctuation of vectors of *Xylella fastidiosa*, wells in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] varieties of northwest Paraná State, Brazil. **Braz. arch. biol. technol.** v.53, n.3, p.549-54, 2010.

NUNES, W.M.C.; CROCE, Filho, J.; SEVERINO, J.J.; ZANUTTO, C.A.; TESSMANN, D.J.; MAFICIOLI, R.; CORAZZA-NUNES, M.J.; VIDA, J.B. Ocorrência de pinta preta, causada por *Guignardia citricarpa*, em tangerineiras 'Montenegrina' no sul do Paraná. **Summa phytopathol.** v.32, n.3, p.295, 2006.

NUNES, W.M.C.; MOLINA, R.O.; ALBUQUERQUE, F.A.; CORAZZA-NUNES, M.J.; ZANUTTO, C.A.; MACHADO, M.A. Flutuação populacional de cigarrinhas vetoras de

Xylella fastidiosa em pomares comerciais de citros no Noroeste do Paraná. **Neotropical Entomology**. Vacaria, v.36, n.2, p.254-60, 2007.

NUNES, W.M.C.; SOUZA, E.B.; LEITE JR., R.P.; SALVADOR, C.A.; RINALDI, D.A.; CROCE FILHO, J.; PAIVA, P.G. Plano de ação para o controle de Huanglongbing no estado do Paraná, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.2, p.169-177, 2010.

PUSCHMANN R. & ROMANI R. Ethylene Production by Auxin-Deprived, Suspension-Cultured Pear Fruit Cells in Response to Auxins, Stress, or Precursor. **Plant Physiol.** v.73, p.1013-19, 1983.

RIBNICKY D. M.; ILIC N.; COHEN J. D.; COOKE T. J. The Effects of Exogenous Auxins on Endogenous Indole-3-Acetic Acid Metabolism: The Implications for Carrot Somatic Embryogenesis **Plant Physiol.** v. 112, p.549-58, 1996.

RINALDI, D.A.M.F. **Estudo da sensibilidade a cobre e estreptomicina e caracterização do perfil de plasmídeos em *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri***. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Maringá, 1998. 66p.

SAUER, Aline Vanessa. **Variabilidade genética e variação estacional de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em citros no Paraná**. 2013. 64p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá. 2013.

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.

SCHÄFER, G.; KOLLER, O. C.; SARTORI, I. A.; CASALI, M. E.; LIMA, J. G.; **Efeito de diferentes reguladores de crescimento, aplicados em diferentes épocas, e da incisão anelar dos ramos principais sobre a produção da laranjeira de umbigo ‘monte parnaso’**. Ciência Rural, Santa Maria-RS, v.31, n.4, p.577-81, 2001.

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

VARGAS, R.G.; GONÇALVES-ZULIANI, A.M.; FILHO, J.C.; CARVALHO, S.A.; NOCCHI, P.T.R.N.; NUNES, W.M.C. Avaliação da resistência de variedades de Citrus spp. à *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Na região Noroeste Paranaense, em condições de campo. **Summa Phytopathol.** Botucatu, v.39, n.4, p.235-41, 2013.

CAPÍTULO I

O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas destacadas de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

O efeito fisiológico do regulador vegetal 2,4-D em folhas destacadas de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

RESUMO

Os reguladores vegetais são conhecidos na agricultura pelos diferentes atributos que apresentam, capazes de favorecer o enraizamento, influenciar no florescimento e reduzir a abscisão prematura de frutos. O 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), é um produto sintético capaz de exercer ação similar a uma auxina, frequentemente utilizado nas concentrações de 5 a 20mg.L⁻¹, reduzindo a queda de frutos cítricos. É notado que concentrações de 2,4-D podem repercutir na interação da molécula na planta, podendo aumentar a taxa de divisão celular, retardar a senescência, como também resultar na proliferação de calos. 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. A peroxidase, por sua vez, atua na proteção da planta contra microrganismos, auxiliando principalmente na remoção de componentes potencialmente tóxicos intracelulares. 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⁻¹, avaliar o diâmetro de lesões de *X. citri* subsp. *citri* inoculadas em folhas destacadas de laranja doce (*Citrus sinensis*) da variedade 'Pêra Rio', coletadas em Paranavaí, PR, 21 dias após a aplicação (DAA) de 2,4-D nas concentrações de 0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹, e avaliar a atividade da enzima peroxidase solúvel de folhas coletadas na mesma área, aos 02, 07 e 14 DAA. As concentrações de 2,4-D em meio NA não influenciaram no número de UFCs de *X. citri* subsp. *citri*. Foi observado que a média do diâmetro das lesões presentes em folhas destacadas e atividade da peroxidase diminuíram gradativamente com o aumento da concentração de 2,4-D.

Palavras-chave: Cancro cítrico, lesão, POD

The physiological effect of the plant growth regulator 2,4-D on detached leaves of sweet orange (*Citrus sinensis*) with citrus canker

ABSTRACT

The growth regulators are known in agriculture by the different attributes that present, able to encourage rooting, influence flowering and reduce premature abscission of fruit. 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) is a synthetic product capable to act similar as an auxin, often used in concentrations of 5 to 20 mg.L⁻¹, reducing the citrus fruit drop. It is noted that concentrations of 2,4-D can reflect the interaction of the molecule in the plant, can increase the rate of cell division, delaying senescence, and also result in callus proliferation. The citrus canker, caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, is a relevant disease to citrus, because it interferes directly in the production and fruit quality. This bacterium is able to colonize young tissues of leaves, fruits and branches of plants and may result in defoliation and premature fruit drop. Peroxidase operates in plant protection against microorganisms, particularly assisting in the removal of potentially toxic intracellular components. This study aimed to evaluate the effect of 2,4-D concentrations (0, 0.15, 0.30, 0.45, 0.60 and 0.75 mg L⁻¹) in the development of CFU (colony forming unit) of *X. citri* subsp. *citri* cultured in NA; the diameter of *X. citri* subsp. *citri* lesions inoculated in fresh detached leaves of sweet orange (*Citrus sinensis*), variety 'Pêra Rio', collected in Paranavaí, PR, 21 days after application (DAA), with 2,4-D concentrations of 0, 0.20 0.50 and 0.80 mg L⁻¹; still, in the activity of the peroxidase soluble enzyme on leaves collected in the same area, at the 02, 07 and 14 DAA. The 2,4-D concentrations on NA did not influence in the number of CFU of *X. citri* subsp. *citri*. It was observed that the mean diameter of lesions present on detached leaves and peroxidase activity gradually decreased with increasing concentrations of 2,4-D.

Keywords: citrus canker, lesion, POD.

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).

Os sintomas causados por esta bactéria observados em folhas, podem ser encontrados em ambos os lados do limbo foliar, esses por sua vez, possuem característica de lesões circulares, corticosas, salientes, com aspecto eruptivo, de coloração que vai do amarelo, em lesões mais jovens, até o marrom, quando ganha aspecto lignificado, sendo comum a presença de um halo amarelo circundando a lesão, e como a doença reduz a área fotossintética foliar, essa pode apresentar senescência prematura (Gottwald et al., 1989; Laranjeira et al., 2005; Bock et al., 2011).

Aplicações mensais de oxicleto de cobre podem reduzir a severidade da doença, uma vez que esse possui a característica de ação de proteção dos tecidos contra a penetração da bactéria (Behlau et al., 2007), porém, produtos cúpricos não possuem efeito curativo, o que reforça a necessidade da adoção de práticas culturais como o uso de mudas sadias, cultivares resistentes e quebra-vento, visando minimizar períodos de exposição do tecido vegetal ao inoculo presente na área (Leite Jr. & Mohan, 1990; Bock et al., 2014).

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 nas concentrações entre 5 a 20 mg.L⁻¹, 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).

Ribnicky et al. (1996), demonstrou que a adição de 2,21 g L⁻¹ de 2,4-D em meio de cultura de tecidos de cenoura, apresentou uma característica peculiar de proliferação de calo nas extremidades cortadas dos hipocótilos, agindo de maneira similar a um tumor e tomando conta de todo o tecido em 4 semanas. A concentração de 2,4-D absorvida por estes tecidos se mantiveram em média entre 4,42 mg L⁻¹ da molécula livre e 6,63 mg L⁻¹ conjugada, agindo de forma direta nos calos sem interferir na concentração endógena das auxinas.

Resultados similares foram encontrados por Davidonis et al. (1980) em cultura de tecidos de soja com concentrações entre 0,26 à 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D, onde é observado que estas concentrações permanecem frequentes pela característica da molécula se ligar em ambos ácido glutâmico e glicosídeos hidroxilados solúveis em água, fazendo com que o tecido aumente a taxa de divisão celular.

Ainda, em estudo realizado por Puschmann & Romani (1983), analisando a interação do 2,4-D com a produção de etileno em cultura de células de pêra, este observou que na concentração de 0,22 mg L⁻¹, houve um estímulo representado pela metade da resposta máxima da produção de etileno, e em concentrações superiores à 2,21 mg L⁻¹ foi observada a inibição da síntese do mesmo.

A peroxidase é uma enzima comumente encontrada em plantas, esta possui o papel metabólico de oxidar componentes potencialmente tóxicos, como peróxido de hidrogênio e radicais livres, os transformando em produtos menos nocivos à célula, além disso, a peroxidase está relacionada à síntese de lignina e de etileno, auxiliando na proteção contra microrganismos fitopatogênicos (Guimarães, 2006)

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; no diâmetro de lesões de *X. citri* subsp. *citri* inoculadas em folhas destacadas e na atividade da enzima peroxidase solúvel.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Material vegetal e isolado de *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

O material encaminhado ao laboratório do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada (NBA), da Universidade Estadual de Maringá (UEM) foi composto de ramos e folhas de laranja doce (*Citrus sinensis*) da variedade 'Pêra Rio' pertencentes à área experimental implantada no mês de Junho, na Fazenda São Paulo, município de Paranavaí, Paraná. Os tratamentos empregados nessa área experimental eram constituídos da aplicação do regulador vegetal 2,4-D (806g L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético, Nufarm do Brasil Ltda.) em 4 diferentes concentrações (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹), onde foram gastos 4 litros da solução por planta, utilizando um pulverizador FM Coupling Gulliver 4000 NA, ajustado a uma pressão constante de 150 lbs e com vazão de 2000 L ha⁻¹.

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 concentração de 10⁸ unidades formadora de colônias UFC ml⁻¹ (Belasque Junior & Jesus Junior, 2006) na leitura de 0,3 de absorbância em espectrofotômetro ajustado à 630nm.

2. Efeito de 2,4-D em *X citri* subsp. *citri* cultivadas em meio Nutriente Ágar

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 10⁸ UFC 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 (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) utilizadas para este experimento foram de 0, 15, 30, 45, 60 e 75 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 50µL da concentração referente ao tratamento, e após a absorção dessa pelo meio, receberam mais 50µL da solução bacteriana. Após a absorção da solução pelo meio, as placas foram mantidas à 28°C em estufa bacteriológica.

Foram realizados 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.

3. Efeito do 2,4-D em folhas destacadas inoculadas com *X. citri* subsp. *citri*

Este experimento foi adaptado do método utilizado por Gonçalves-Zuliani (2014), onde ramos com o mesmo estágio de maturação e com boa sanidade (sem sintomas de patógenos e ferimentos por insetos ou por atrito) foram coletados aos 21 dias após a aplicação de 2,4-D, e armazenados em 4 sacos plásticos referente a cada tratamento. Subsequentemente, o material coletado foi umedecido e os sacos lacrados. O material foi encaminhado ao laboratório do NBA onde recebeu sanitização com lavagem, desinfecção utilizando Hipoclorito 1% e posterior secagem.

A preparação das folhas teve o auxílio de um estilete, realizando o corte do ramo à 4 mm antes e 4 mm depois da zona de abscisão do pecíolo, notada a necessidade da folha permanecer ligada ao ramo para manter sua funcionalidade. Imediatamente após o corte de cada folha, essa foi inoculada com a solução bacteriana por perfuração com agulha (0,55 x 0,20mm), com 6 perfurações por folha. Em seguida, a folha foi transferida para um tubo Falcon, posicionando o ramo na parte inferior do tubo, e foi adicionada água da torneira o suficiente para cobrir o ramo, sem atingir o limbo foliar. Quando necessário, a água foi repostada nos tubos para garantir molhamento do ramo.

Foram feitas dez repetições para cada tratamento, dispostas em estante de isopor, que foram posteriormente vedadas dentro de sacos plásticos e mantidas à 28°C em estufa bacteriológica. A avaliação das lesões foi realizada sete dias após a inoculação, pela medição do diâmetro com o auxílio de um paquímetro digital.

4. Atividade enzimática da peroxidase (POD) em folhas de citros

Folhas com o mesmo estágio de maturação e com boa sanidade (sem sintomas de patógenos e ferimentos por insetos ou por atrito) foram coletadas na área experimental, embrulhadas em papel alumínio, identificadas por parcelas e armazenadas em isopor com gelo aos 02, 07, 14 dias após a aplicação (DAA) de 2,4-D. O material foi encaminhado ao laboratório NBA e mantido em freezer à -20°C.

Na preparação da amostra, essa foi pesada (entre 1 e 1,5g), triturada em almofariz com 0,01g de PVPP em 8mL de tampão fosfato de potássio 50mM (pH 7.0) com 0,1mM de EDTA, transferida para microtubos de 2mL e centrifugada à 15.000 giros em 4°C por 30 minutos. Subsequentemente o sobrenadante foi transferido para microtubo de 2mL e armazenado à -20°C.

A atividade enzimática foi determinada de acordo com o método descritos por Santos et al., (2004) no Laboratório de Bioquímica de Plantas (BIOPLAN), da Universidade Estadual de Maringá. A mistura de reação (2,6mL) continha tampão fosfato de sódio 25mM (pH 6,8), 2,58mM de guaiacol e 10mM de H₂O₂. A reação foi iniciada com a adição do extrato enzimático (0,4mL) previamente diluído por trinta vezes no tampão de preparação. A oxidação do guaiacol foi quantificada aos 5 min à 470nm de absorbância em espectrofotômetro, e a atividade da enzima foi calculada utilizando o coeficiente de extinção (25.5mM⁻¹ cm⁻¹). O branco foi considerado a mistura da reação sem o extrato enzimático. A atividade da POD foi expressa em µmol de tetraguaiacol min⁻¹ g⁻¹ de folha fresca.

5. Análise estatística

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.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o intuito de observar se as concentrações utilizadas foram influentes sobre o cancro cítrico, foram feitos três testes laboratoriais. Na tabela 1 é apresentada a média do número de Unidade Formadora de Colônias (UFCs) de *Xanthomonas 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 subsequente incubação das bactérias sete vezes diluídas a partir da concentração de 10^8 UFC mL⁻¹.

Nº. Trat.	Tratamentos	UFCs (un.)
1	0,00 mg L ⁻¹	48a
2	0,15 mg L ⁻¹	43a
3	0,30 mg L ⁻¹	44a
4	0,45 mg L ⁻¹	53a
5	0,60 mg L ⁻¹	46a
6	0,75 mg L ⁻¹	30a
CV%		38,41

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

Na tabela 2 é observada a média do diâmetro das lesões de cancro cítrico, 7 dias após a inoculação da bactéria, em folhas destacadas da variedade 'Pêra Rio', coletadas aos 21 dias após a aplicação de 2,4-D.

Foi observado em folhas destacadas que o diâmetro das lesões diminuiu gradativamente com o aumento da concentração de 2,4-D (Figura 1), com médias de 2,15 mm para a testemunha, 1,80 mm para o tratamento T2, 1,58 mm (T3) e 1,35 mm (T4), a ponto de algumas perfurações do tratamento T4 não desenvolverem o sintoma expressivo de lesões corticosas e salientes de cancro cítrico nas folhas destacadas. A diferença entre o diâmetro das lesões foi expressiva, onde todos os tratamentos se diferenciaram significativamente entre si.

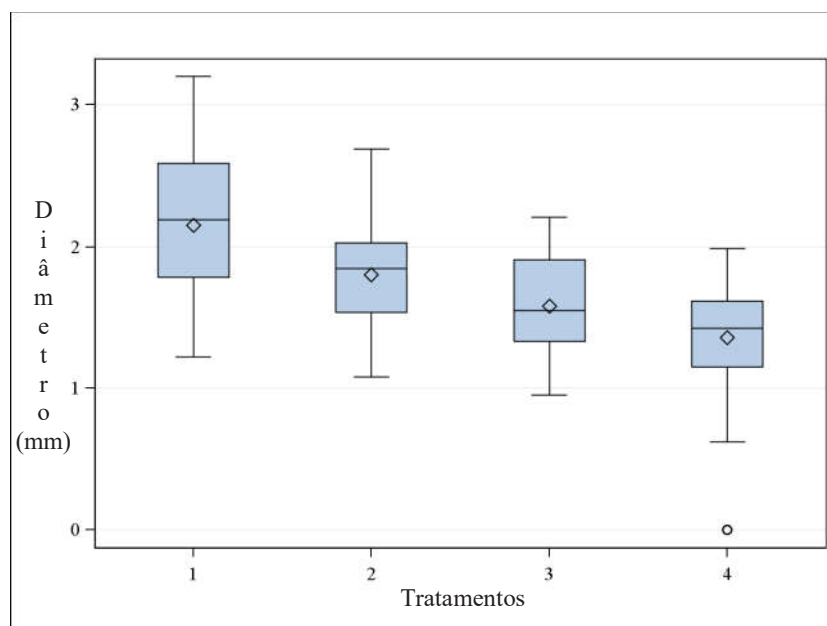


Figura 1. Box plot do diâmetro de lesões de cancro cítrico nos tratamentos de 2,4-D com 0 [água](T1), 0,20 (T2), 0,50 (T3) e 0,80 (T4) mg de i.a. L⁻¹.

Supõe-se que os resultados encontrados estejam relacionado ao estudo de Ribnicky et al. (1996), que aplicou 2,21 g L⁻¹ de 2,4-D em meio de cultura de tecido com o intuito de observar o desenvolvimento de hipocótilos de cenoura. Neste experimento foi observado que no decorrer de 4 semanas de incubação, a molécula foi absorvida e permaneceu dentro do hipocótilo em concentrações na média de 4,42 mg L⁻¹ para 2,4-D livre e 6,63 mg L⁻¹ para ligado. Ainda, esta exposição ao regulador vegetal induziu a uma proliferação de calo que se iniciou na região dos cortes, e se proliferou por todo o hipocótilo, de forma similar a um tumor. O mesmo resultado que não se refletiu nos tratamentos com ácido indol-3-acético (AIA) e sem auxina, que por sua vez apresentaram uma pequena formação de calo e uma grande proliferação de raízes.

Assim, nas condições deste trabalho, levando em consideração que a lesão e a exposição ao inoculo aconteceram ao mesmo tempo no experimento de folhas destacadas, pode-se supor que as concentrações do regulador vegetal utilizadas foram capazes de causar os mesmos altos índices de divisão celular observados por Ribnicky et al. (1996), ocorrendo em proporções superiores ao ataque do patógeno, logo atuando como uma barreira, a ponto de prevenir a infecção da bactéria.

Tabela 2. Efeito de concentrações de 2,4-D no diâmetro das lesões de cancro cítrico aos 7 dias após a inoculação de *X. citri* subsp. *citri* na concentração de 10^8 UFC mL⁻¹ em folhas destacadas, destacadas de plantas aos 21 dias após a aplicação em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), da variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos (dose/ha)	Diâmetro das lesões (mm)
1	0,00 mg L ⁻¹	2,15a
2	0,20 mg L ⁻¹	1,80b
3	0,50 mg L ⁻¹	1,58c
4	0,80 mg L ⁻¹	1,35d
CV%		26,84

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

Na tabela 3, é apresentada a média da enzima peroxidase solúvel (POD), em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa fresca, de folhas coletadas aos 02, 07 e 14 dias após a aplicação de 2,4-D, de plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná.

Tabela 3. Efeito de concentrações de 2,4-D na peroxidase solúvel (POD) ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa fresca), aos 02, 07 e 14 dias após a aplicação, em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos (dose/ha)	POD ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$)
1	0,00 mg L ⁻¹	2,472ab
2	0,20 mg L ⁻¹	3,131a
3	0,50 mg L ⁻¹	2,719ab
4	0,80 mg L ⁻¹	2,376b
CV%		28,77

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

Observa-se que a atividade da POD solúvel decresceu do tratamento T2 para o T4 (Figura 2), com médias respectivas de 3,131 (T2), 2,719 (T3) e 2,376 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ (T4), onde o tratamento T2 se mostrou diferente estatisticamente do tratamento T4. A testemunha, por sua vez alcançou a média de 2,472 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$. Deve-se levar em consideração que as avaliações de folhas na área não atingiram 1% de severidade de cancro cítrico, não contribuindo para a expressão da POD, visto que a mesma é sugerida como uma mecanismo de defesa da planta contra patógenos (Moller et al. 2007), assim, supõe-se que o aumento da

atividade da POD observado no tratamento T2, como também o supressão no tratamento T4 tenham ocorrido por consequência das concentrações de 2,4-D.

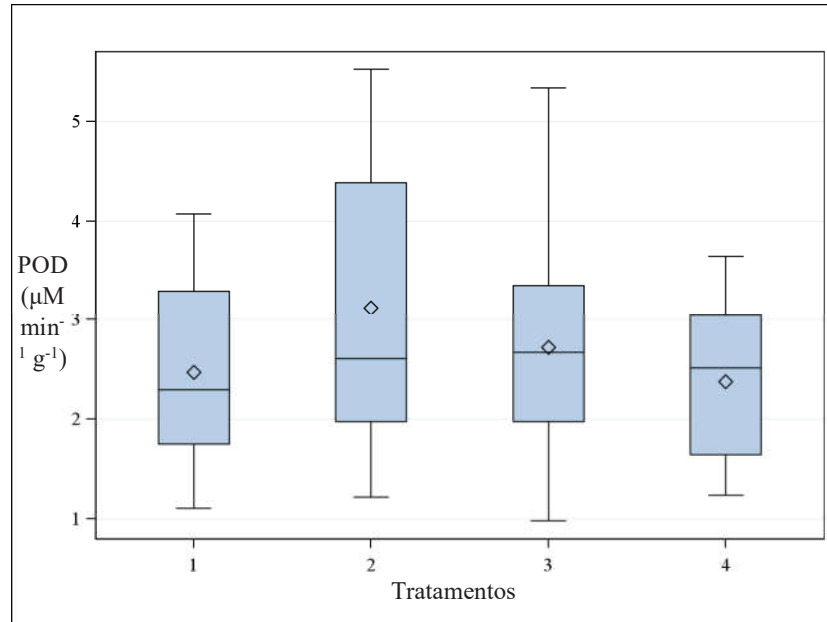


Figura 2. Box plot da atividade da POD nos tratamentos com 0 [água](T1), 0,20 (T2), 0,50 (T3) e 0,80 (T4) mg de i.a. L⁻¹ de 2,4-D.

Os resultados obtidos podem estar relacionados aos de Wang et al. (2011), que utilizando o método de folhas destacadas, avaliou o diâmetro de estômatos entre duas variedades com diferente grau de resistência a cancro cítrico. Neste, foi observado que a presença de POD está estreitamente ligada a defesa da planta ao patógeno, sendo encontrada em maior concentração na variedade mais suscetível ao cancro cítrico, um dia após a exposição das variedades à bactéria em condições favoráveis à infecção. A POD é considerada uma estratégia importante para a planta quando a mesma possui ferimentos passíveis à infecção do patógeno. Portanto, diferenças no tempo de cicatrização influenciadas pelas concentrações de 2,4-D nos tratamentos em folhas destacadas deste experimento, podem estar correlacionadas às concentrações de POD encontradas entre o tratamento T2 e T4.

CONCLUSÃO

Analisando os resultados alcançados, foi observado que as concentrações de 2,4-D utilizadas não são tóxicas à *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, entretanto, estas concentrações foram significativas para a interação no metabolismo da planta de forma a intervir no processo de infecção da bactéria, resultando em lesões menores ou até inexistentes.

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.
- BEHLAU F.; BELASQUE JR. J.; BERGAMIM FILHO, A.; LEITE JR., R.P. Incidência e Severidade de Cancro Cítrico em Laranja 'Pêra Rio' sob Condições de Controle Químico e Proteção com Quebra-Vento. **Fitopatologia Brasileira.** v.32, n.4 p.311-17, Jul./Ago. 2007.
- 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.; GRAHAM, J.H.; GOTTWALD, T.R.; COOK, A.Z.; PARKER, P.E. Effect of the duration of inoculum exposure on development of citrus canker symptoms on seedlings of Swingle citrumelo. **Eur J Plant Pathol**, v.138, p.237-45, 2014.
- 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.
- DAVIDONIS G. H.; HAMILTON R. H.; MUMMA R. O. Metabolism of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Soybean Root Callus. **Plant Physiol.** v. 66, p.537-40, 1980.
- GONÇALVES-ZULIANI, A.M.O. **Avaliação da resistência de diferentes genótipos de laranja doce (Citrus sinensis) ao cancro cítrico e estudo da diversidade genética de Xanthomonas citri subsp. citri.** 2014. 149p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Maringá, 2014.
- 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.
- GUIMARÃES D. P. **Estudo Bioquímico de Algumas Características da Peroxidase, Polifenoloxidase e Pectinametilesterase de Amora Preta (Rubus spp).** 2006. 99p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, 2006.
- 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 Agrônomo e Fundag. Centro APTA Citros Sylvio Moreira. p. 509 -566, 2005.

- LEITE JUNIOR, R.P.; MOHAN, S.K. Integrated management of the citrus bacterial canker disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in the State of Paraná, Brazil. **Crop Protection**. v.9, p.3-7, 1990.
- MØLLER I.M.; JENSEN P.E.; HASSON A. **Oxidative modifications to cellular components in plants**. Annu. Rev. Plant Biol. v.58, p.459–81, 2007.
- NOCCHI P. T. R. **Estudo da diversidade genética de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* e avaliação de meios de cultivo**. 2014. 104p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, 2014.
- PUSCHMANN R. & ROMANI R. Ethylene Production by Auxin-Deprived, Suspension-Cultured Pear Fruit Cells in Response to Auxins, Stress, or Precursor. **Plant Physiol**. v.73, p.1013-19, 1983.
- RIBNICKY D. M.; ILIC N.; COHEN J. D.; COOKE T. J. The Effects of Exogenous Auxins on Endogenous Indole-3-Acetic Acid Metabolism: The Implications for Carrot Somatic Embryogenesis **Plant Physiol**. v. 112, p.549-58, 1996.
- SANTOS W. D.; FERRARESE M. L. L.; FINGER A.; TEIXEIRA A. C. N.; FERRARESE-FILHO O. Lignification and related enzymes in Glycine max root growth-inhibition by ferulic acid. **Journal of Chemical Ecology**. v.30, n.6, p.1203–212, 2004.
- 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.
- WANG Y.; FU X.; LIU J.; HONG N. Differential structure and physiological response to canker challenge between ‘Meiwa’ kumquat and ‘Newhall’ navel orange with contrasting resistance. **Scientia Horticulturae**. v.128, p.115–23, 2011.

CAPÍTULO II

O efeito do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

O efeito do regulador vegetal 2,4-D em folhas e frutos de laranja doce (*Citrus sinensis*) com cancro cítrico

RESUMO

O cancro cítrico, causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, é uma relevante doença para a citricultura, pois interfere diretamente na produção, na qualidade dos frutos e na queda prematura dos mesmos. O uso de reguladores vegetais na agricultura se tornou popular pelos diferentes atributos que estes apresentam, capazes de favorecer o enraizamento e influenciar no florescimento. O 2,4-D, frequentemente utilizado nas concentrações de 5 a 20mg.L⁻¹, é capaz de reduzir a queda de frutos cítricos. Além disso, é notado que diferentes concentrações de 2,4-D podem repercutir na maneira que a molécula interage na planta, podendo aumentar a taxa de divisão celular, retardar a senescência, como também resultar na proliferação de calos. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações de 2,4-D na severidade de cancro cítrico em folhas, na abscisão e força de arranquio do fruto, no diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, na produtividade por planta, no ratio, rendimento do suco e rendimento industrial dos frutos das variedades de laranja doce (*Citrus sinensis*) 'Pêra Rio' e 'Iapar 73' de pomares localizados em Paranavaí, Paraná. Foram realizadas cinco avaliações semanalmente, nos meses de Maio a Julho de 2014, em experimento distribuído por um delineamento em blocos casualizados constituído de quatro tratamentos (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹ de 2,4-D) com cinco repetições. As variáveis avaliadas a campo não se diferenciaram da testemunha na última avaliação. O manejo integrado de cancro cítrico somado aos fatores climáticos que não favoreceram a disseminação da doença, resultou em uma severidade inferior a 1% de cancro cítrico em ambas as áreas, não gerando dados suficientes para relacionar a doença com os tratamentos.

Palavras-chave: 2,4-D, abscisão, cultura de tecido

The effect of the plant growth regulator 2,4-D on leaves and fruits of sweet orange (*Citrus sinensis*) with citrus canker

ABSTRACT

The citrus canker, caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, is a relevant disease to citrus, because it interferes directly in the production and fruit quality. The use of plant growth regulators in agriculture became popular by the different attributes they present, able to encourage rooting and influence flowering. The 2,4-D, often used in concentrations of 5 to 20mg.L⁻¹, is capable to reduce premature citrus fruit abscission. It is noted that different concentrations of 2,4-D can reflect in the interaction of the molecule in the plant, can increase the rate of cell division, delaying senescence, and also result in callus proliferation. The objective of this study was to evaluate the effect of 2,4-D concentrations to canker citrus severity on leaves, in fruit abscission and pull-off force, in fruit, peduncle and rind diameter, in yield per plant, ratio, juiciness and industrial yield of fruits of sweet orange (*Citrus sinensis*) varieties 'Pêra Rio' and 'Iapar 73' from orchards located in Paranavaí, Paraná. Five weekly evaluations in the months from May to July of 2014 were made, the experiment was distributed by a randomized block design consisting of four treatments (0, 0.20 0.50 and 0.80 mg L⁻¹ of 2,4-D), with five replications. The variables evaluated in the field did not differ from the control in the last assessment. The integrated management of citrus canker added to the climatic factors that did not favor the spread of the disease, resulted in a severity of less than 1% of citrus canker in both areas, not generating sufficient data to relate the disease with treatments.

Keywords: 2,4-D, abscission, tissue culture

INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o maior produtor de laranjas do mundo (IBGE, 2014), sendo que as principais variedades utilizadas são a 'Pêra' (37,8%), 'Natal' (23,9%) e 'Valência' (23,9%) (Donadio et al., 2005), sobre os porta-enxertos limão 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck) (80%) e tangerina 'Cleópatra' (*C. reshni* hort. ex. Tanaka) (10%) (Machado, 1992). De maneira similar, as principais variedades cultivadas no Paraná são a 'Valência', 'Folha Murcha', 'IAPAR 73', e com destaque a variedade 'Pêra,' detendo a maior área cultivada tanto pela sua aceitação no mercado da fruta *in natura*, quanto para o processamento do fruto (Gonçalves-Zuliani, 2014).

No país, o principal produto comercializado no mercado citrícola é o suco de laranja concentrado e congelado, conhecido mundialmente como FCOJ – *frozen concentrate orange juice*, representado por 851 mil toneladas (66° Brix) na safra 2013/14 (CitrusBR, 2014), o qual é responsável pela maior parte das exportações do setor.

O cancro cítrico, causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Schaad et al., 2006), é considerado uma doença de grande importância para a citricultura mundial. Considerada uma doença quarentenária A2 nos principais países produtores (Gottwald et al., 2002). No Brasil, a primeira ocorrência da doença foi registrada em 1957, no município de Presidente Prudente, São Paulo (Bitancourt, 1957), e no mesmo ano registrada nos estados do Mato Grosso do Sul e Paraná (Amaral, 1957).

O patógeno possui característica de infectar tecidos jovens de folhas, ramos e frutos através de aberturas naturais, como ferimentos e estômatos de plantas suscetíveis, que por sua vez apresentam sintomas de lesões erosivas, necróticas de aspecto eruptivo e cor amarronzada circundada por alo amarelo. A doença reduz a área fotossintética foliar, e ambos folhas e frutos podem apresentar senescência e abscisão prematura. Ainda, lesões necróticas formadas na superfície dos frutos podem torná-los inapropriados para a comercialização, principalmente no mercado *in natura* (Gottwald & Graham, 1992; Gottwald et al., 2009; Bock et al., 2011).

Por décadas, têm sido adotadas rigorosas recomendações de pulverização de cúpricos a cada emissão de brotação, notado que aplicações mensais de cúpricos podem reduzir a severidade da doença, intervindo em ação de proteção dos tecidos suscetíveis contra a penetração da bactéria (Behlau et al., 2007). Produtos à base de cobre não possuem efeito curativo, assim, a utilização desse não descarta a necessidade da adoção de práticas culturais como o uso de mudas sadias, cultivares resistentes, quebra-ventos, a poda de tecidos

lesionados, visando minimizar os períodos de exposição do tecido vegetal ao inoculo presente na área (Leite Jr.; Mohan, 1990; Bock et al., 2014).

O uso de reguladores vegetais na agricultura se tornou popular pela sua capacidade de influenciar no florescimento, na cultura de tecidos e células, no enraizamento, na redução abscisão, na qualidade e na produção de frutos. Na citricultura, as moléculas frequentemente utilizadas são as 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 (ácido 2,4 - diclorofenoxiacético), um produto sintético, capaz de exercer ação similar a uma auxina (Schafer et al., 2001), frequentemente utilizada nas concentrações de 5 a 20mg.L⁻¹, controla a queda dos frutos durante o período de pré-colheita de praticamente todas as espécies cítricas (Monselise 1979, apud Almeida et al., 2002). De acordo com Anthony & Coggins (1999), se tornou uma prática comum em quase todos os países produtores de citros, com testes pioneiros em laranjas do tipo umbigo (Stewart et al., 1951), Valência (Stewart et al., 1952) e Pomelo (Stewart & Parker, 1954), além disso, esse ainda foi caracterizado em possuir o atributo secundário de aumentar o tamanho dos frutos (Erickson & Hield, 1962).

El-Otmani et al. (1990) relata a utilização de 2,4-D na prevenção da queda de frutos cítricos, reduziu a queda dos frutos de pomelo (Stewart & Parker, 1947), limão (Stewart & Hield, 1950), tangerina (Chunda-wat et al., 1975; Kedar & Gopalkrishna, 1976) além de laranjas do tipo umbigo (Sarooshi & Stannard, 1975). Ele ainda ressalta que que a resposta dos reguladores vegetais pode levar a resultados diferentes em trabalhos futuros, já que os mesmos estão inter-relacionados a fatores como local, variedade, estágio de desenvolvimento do fruto, intervalo de aplicação e concentrações utilizadas.

Em estudos realizados por Ribnicky et al. (1996), Davidonis et al. (1980) e Puschmann & Romani (1983), é notado que a concentração de 2,4-D pode mudar o efeito na planta, podendo interagir com hormônios ligados a divisão celular e senescência, ou agir diretamente de forma similar a uma auxina, aumentando a taxa de divisão celular que posteriormente resulta na proliferação de calo em regiões lesionadas.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de concentrações de 2,4-D incidência e severidade de cancro cítrico em folhas, na abscisão e força de arranquio do fruto, no diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, na produtividade por planta, no ratio, rendimento do suco e rendimento industrial dos frutos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Área experimental

O experimento foi conduzido entre Maio e Julho, em dois pomares cítricos de seis anos, em Paranavaí (Fazenda São Paulo: 22° 59'S, 52° 36'O e 422 m de altitude, e Fazenda Sete Lagoas: 22° 58'S, 52° 33'O e 448m de altitude), estado do Paraná. Segundo com a classificação de Köppen, trata-se de uma região com clima subtropical Cfa, que por característica apresenta temperatura média inferior a 18°C no mês mais frio e acima de 22°C no mês mais quente, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, entretanto sem período de seca definido.

2. Material vegetal

As variedades de laranja doce (*Citrus sinensis*) 'Pêra Rio' da Fazenda São Paulo e 'Tapar 73' da Fazenda Sete Lagoas utilizadas no experimento, foram plantadas em 2008, com mudas provenientes do Viveiro de Mudas Pratinha (VMP), Paranavaí, Paraná. As variedades foram cultivadas sobre o porta-enxerto limão 'Cravo', sendo o espaçamento adotado no plantio na Fazenda São Paulo de ruas com 6,0 x 3,0 m (555 pl. ha⁻¹), e na Fazenda Sete Lagoas de 5,5 x 2,0 m (800 pl. ha⁻¹).

As plantas receberam adubação de base com N, P, K e micronutrientes, além de adubação foliar com Zn e Cu, conforme recomenda-se no manejo de pomares comerciais, ainda, periodicamente foram realizadas pulverizações para controle do ácaro da leprose (*Brevipalpus phoenicis*), falsa ferrugem (*Pyllocoptruta oleivora*), purpúreo (*Panonychus citri*), cochonilhas, psilídeos (*Diaphorina citri*), mosca das frutas (*Ceratitis capitata*, *Anastrepha fraterculus* e *Neosilba spp.*), também foram realizadas aplicações de fungicidas para controle da verrugose (causada pelo fungo *Sphaceloma fawceti*) e podridão floral (*Colletotrichum acutatum*). Para o manejo do cancro cítrico, os pomares receberam aplicações regulares de inseticidas para controle da larva-minadora dos citros (*Phyllocnistis citrella*) e de cúpricos.

O inoculo da bactéria *X. citri* presente nas variedades de estudo foi oriundo de outras variedades comerciais implantadas na mesma área. Esse se encontrava com uma severidade inferior a 1% antes da aplicação de 2,4-D em ambas as áreas avaliadas.

3. Distribuição do experimento

O experimento se baseou em duas áreas de variedades distintas, cada área composta por 4 tratamentos, distribuídos em um delineamento em blocos casualizados (DBC), representados por 5 repetições, constituídas de 6 plantas totais, onde as 4 plantas centrais foram consideradas úteis para avaliação, significando 2 plantas de bordadura entre as parcelas. Ainda, as 9 primeiras plantas entre o carreador e a primeira parcela também foram consideradas como bordadura.

Os tratamentos empregados se constituíram da aplicação do regulador vegetal 2,4-D (806g L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético, Nufarm do Brasil Ltda.) em 4 diferentes concentrações (0, 0,20 0,50 e 0,80 mg de i.a. L⁻¹), onde foram gastos 4 litros da solução por planta, utilizando um pulverizador FM Coupling Gulliver 4000 NA, ajustado a uma pressão constante de 150 lbs e com vazão de 2000 L ha⁻¹.

A implantação do experimento levou em consideração a recomendação de troca de cor dos frutos por El-Otmani et al. (1990), e ainda, para uma melhor padronização dos dois experimentos, foram feitas avaliações quinzenais do ratio nas duas áreas, efetuando a aplicação do 2,4-D quando o ratio dos frutos atingisse 12 pontos.

4. Avaliação do experimento

As avaliações foram realizadas semanalmente, aos 0 (avaliação inicial), 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) do 2,4-D, totalizando cinco avaliações.

Foram avaliados a incidência e a severidade de cancro cítrico em folhas, coletando ao acaso um ramo novo de cada quadrante da planta, avaliando a quantidade de folhas com e sem a doença para a incidência, e para a severidade, quantificando as lesões em folhas doentes com o auxílio da escala diagramática de folhas de Belasque Jr et al. (2005).

Na avaliação dos frutos, foi escolhido um fruto por quadrante de cada planta, e com o auxílio de um paquímetro digital, foi medido o diâmetro do pedúnculo (mm) e o diâmetro equatorial do fruto (mm), e com o auxílio de um dinamômetro digital modelo Force Gauge DD-200, foi medida a força de arranquio (kgf), e subsequentemente foi avaliada a incidência de doença, e quando essa presente, também foi avaliada a severidade com o auxílio de da escala diagramática de frutos de Braido et al. (2014). Os frutos coletados foram separados em sacos plásticos por repetição e encaminhados ao laboratório de do Núcleo de Pesquisa em

Biotecnologia Aplicada – NBA, onde foram cortados ao meio e a espessura da casca (mm) foi medida.

Para a avaliação de frutos caídos, na avaliação inicial (dia 0), todos os frutos caídos sob a copa das árvores das plantas úteis foram removidos, e aos 7, 14 21 e 28 DAA os frutos caídos sob a copa foram contados, avaliados quanto a incidência de cancro cítrico e subsequentemente removidos, por fim, os valores obtidos entre todas as avaliações foram somados.

Após a última avaliação (28 DAA), foram colhidos 35 frutos ao acaso de cada parcela, e estes foram encaminhados para o laboratório do Citri Agroindustrial S.A., em Paranaíba, para quantificar o ratio (°Bx/acidez), rendimento do suco (%suco) e rendimento industrial (cx. ton⁻¹). Ainda, a produção por planta, em caixas de 40,8 kg, foi obtida pela escolha de uma das plantas úteis por parcela, com posterior colheita e pesagem dos frutos totais.

5. Análise estatística

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.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1 e 3, são apresentadas as médias da abscisão dos frutos, força de arranquio, diâmetro equatorial do fruto, diâmetro do pedúnculo e da casca em relação as 5 avaliações realizadas nas variedades 'IAPAR 73' e 'Pêra Rio' respectivamente. Seguindo a mesma ordem das variedades, nas tabelas 2 e 4, são apresentadas as médias da força de arranquio, diâmetro equatorial do fruto, diâmetro do pedúnculo e da casca referente à última avaliação realizada.

Nas tabelas 1 e 2, se observa que o efeito das concentrações de 2,4-D na abscisão de frutos e na força de arranquio não foi significativo em relação à testemunha para a variedade 'IAPAR 73'. Entretanto, nas avaliações de Maio a Junho (Tabela 1). Para o diâmetro do fruto, é observado que o tratamento T3 se diferencia estatisticamente da testemunha com média de diâmetro respectivo de 72,40 contra 70,79 mm da testemunha, e para o diâmetro do pedúnculo, o tratamento T3 com média de 3,46 mm, como também o T4 (3,44 mm) apresentam diferença significativa entre os tratamentos T2 (3,33 mm) e testemunha (3,34 mm). Por conseguinte, para o diâmetro da casca, o tratamento T3 se diferencia dos demais tratamentos apresentando uma média de 5,72 mm. Contudo, não é observada diferença estatística entre os tratamentos quando considerada somente a última avaliação (Tabela 2), o que leva a supor que flutuação observada nos dados de cada variável estudada, durante as avaliações de Maio a Junho, não esteja relacionada somente à aplicação do regulador vegetal, e sim, que esteja relacionada às características fisiológicas de cada planta e como essas interagem com o ambiente durante o processo de maturação dos frutos.

Tabela 1. Efeito de concentrações de 2,4-D na abscisão dos frutos, força de arranquio do fruto, diâmetros do fruto, do pedúnculo e da casca, nas cinco avaliações de Maio a Junho de 2014 em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'IAPAR 73', da Fazenda Sete Lagoas, Paranavaí, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos	Abscisão (un.)	Força (kgf)	Diâmetros (mm)		
				Fruto	Pedúnculo	Casca
1	0,00 mg L ⁻¹	58a	6,64a	70,79b	3,34b	4,81b
2	0,20 mg L ⁻¹	56a	6,65a	71,86ab	3,33b	4,81b
3	0,50 mg L ⁻¹	64a	6,81a	72,40a	3,46a	5,72a
4	0,80 mg L ⁻¹	54a	6,98a	71,76ab	3,44a	4,99b
CV%		35,48	31,57	6,76	16,19	27,22

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

Tabela 2. Efeito de concentrações de 2,4-D na força de arranquio do fruto, diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, na avaliação referente à 28 dias após a aplicação em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'IAPAR 73', da Fazenda Sete Lagoas, Paranavaí, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos	Força (kgf)	Diâmetro (mm)		
			Fruto	Pedúnculo	Casca
1	0,00 mg L ⁻¹	6,55a	67,74a	3,50a	4,78a
2	0,20 mg L ⁻¹	6,67a	66,98a	3,41a	4,51a
3	0,50 mg L ⁻¹	6,14a	68,01a	3,58a	5,05a
4	0,80 mg L ⁻¹	6,88a	68,37a	3,44a	4,82a
CV%		27,85	7,62	17,42	21,74

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

Nas tabelas 3 e 4, é observado que o efeito das concentrações de 2,4-D na abscisão de frutos, força de arranquio, diâmetro equatorial do fruto e diâmetro da casca não se mostraram estatisticamente diferentes da testemunha para a variedade 'Pêra Rio'.

Tabela 3. Efeito de concentrações de 2,4-D na abscisão dos frutos, força de arranquio do fruto, diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, nas cinco avaliações de Junho a Julho de 2014 em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos	Abscisão (un.)	Força (kgf)	Diâmetro (mm)		
				Fruto	Pedúnculo	Casca
1	0,00 mg L ⁻¹	27a	6,45a	70,13a	3,89b	4,30a
2	0,20 mg L ⁻¹	36a	6,35a	70,33a	3,94ab	4,37a
3	0,50 mg L ⁻¹	23a	6,41a	70,08a	4,08a	4,33a
4	0,80 mg L ⁻¹	23a	6,51a	70,93a	3,96ab	4,30a
CV%		45,83	37,68	6,26	23,36	19,10

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

Foi observado diferença entre os tratamentos para o diâmetro do pedúnculo (Tabela 3), onde o tratamento T3 apresentou a média de 4,08 contra 3,89 mm da testemunha, e do mesmo modo como foi observado na variedade 'IAPAR 73', esta diferença não prosseguiu quando a última avaliação foi analisada separadamente (Tabela 4), logo, esta flutuação não foi influente a ponto de refletir nos dados finais do diâmetro do pedúnculo, como também nas demais variáveis avaliadas.

Tabela 4. Efeito de concentrações de 2,4-D na força de arranquio do fruto, diâmetro do fruto, do pedúnculo e da casca, na avaliação referente à 28 dias após a aplicação em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranavaí, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos	Força (kgf)	Diâmetro (mm)		
			Fruto	Pedúnculo	Casca
1	0,00 mg L ⁻¹	6,16a	69,26a	3,72a	4,29a
2	0,20 mg L ⁻¹	6,02a	67,61a	3,81a	4,34a
3	0,50 mg L ⁻¹	5,86a	67,95a	3,82a	4,49a
4	0,80 mg L ⁻¹	6,27a	69,32a	3,85a	4,22a
CV%		36,67	6,43	14,54	22,52

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

Em experimento realizado por El-Otmani et al. (1990), o qual estudou o efeito do 2,4-D isopropyl ester na concentração de 16 mg L⁻¹, também aplicado no período de troca de cor dos frutos, nas variedades de laranja 'Hamlin' 'Valencia' e 'Washington navel' em áreas irrigadas do sul do Marrocos, na safra de 1985-86, ficou evidenciado um controle efetivo na abscisão de frutos tratados com 2,4-D em relação à testemunha. Do mesmo modo, em experimento realizado por Anthony & Coggins (1999), o qual estudou a aplicação de três concentrações de 2,4-D (4, 8 e 16 mg L⁻¹) no controle da abscisão de frutos de laranja 'Navel' em três diferentes áreas no estado da Califórnia, EUA, por três safras (1992 à 1995), ficou evidenciado que houve redução significativa na abscisão dos frutos na menor concentração utilizada em relação a testemunha, e ainda que essa redução aumentou paralelamente ao aumento das concentrações, o que em contrapartida, leva a supor que aplicações de 2,4-D com concentrações inferiores à 4 mg L⁻¹ não são indicadas no intuito de evitar a abscisão de frutos em laranja, notando também que a concentração de 0,80 mg L⁻¹ (T4), nas condições deste estudo, não foi suficiente para se diferenciar estatisticamente da testemunha.

Em experimento realizado por Negrisoli (2013), onde foi avaliado o efeito do 2,4-D na concentração de 20 mg L⁻¹, aplicado em frutos verdes quando atingiam o tamanho final e replicado no período de troca de cor dos frutos (40 dias após a primeira aplicação), totalizando 40 mg L⁻¹, em variedade de laranja 'Natal', na safras de 2011-12 e 2012-13, em áreas seguindo o manejo fitossanitário recomendado, do estado de São Paulo. Nesse foi observado que as duas aplicações de 2,4-D também não influenciaram no diâmetro do fruto e do pedúnculo, no entanto, foram suficientes para manter os frutos verdes por mais tempo e incrementar a força de arranquio dos frutos entre 30 a 60% em relação à testemunha, obtendo médias no momento da colheita entre 5,15 e 5,74 kgf, tal como as médias obtidas por este

estudo, que se mantiveram em torno de 6,50 kgf mesmo em plantas não tratadas. Assim, estudos futuros se fazem indispensáveis para esclarecer em que condições se faz necessária a aplicação do regulador vegetal 2,4-D com o objetivo aumentar a força de arranquio dos frutos ou evitar a abscisão prematura dos mesmos, visto que, nas condições do estudo citado, o incremento dessa força também não foi influente a ponto de reduzir significativamente a queda dos frutos.

Nas tabelas 5 e 6, são apresentadas as médias da produtividade, ratio, rendimento do suco e rendimento industrial, referentes à última avaliação realizadas nas variedades 'IAPAR 73' e 'Pêra Rio' respectivamente.

Tabela 5. Efeito de concentrações de 2,4-D na produtividade (cx. pl.⁻¹), ratio (°bx/acidez), rendimento do suco (%suco) e rendimento industrial (cx. ton⁻¹), nas avaliação de 28 dias após a aplicação, em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'IAPAR 73', da Fazenda Sete Lagoas, Paranaíba, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos	Produtividade	Ratio	%Suco	Cx. ton ⁻¹
1	0,00 mg L ⁻¹	4,10a	18,92a	54,22a	316a
2	0,20 mg L ⁻¹	3,88a	17,26a	54,91a	306a
3	0,50 mg L ⁻¹	4,16a	17,07a	52,85a	327a
4	0,80 mg L ⁻¹	4,38a	16,58a	55,04a	301a
CV%		20,92	13,38	4,47	6,90

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

Tabela 6. Efeito de concentrações de 2,4-D na produtividade (cx. pl.⁻¹), ratio (°bx/acidez), rendimento do suco (%suco) e rendimento industrial (cx. ton⁻¹), nas avaliação de 28 dias após a aplicação, em plantas de laranja doce (*Citrus sinensis*), variedade 'Pêra Rio', da Fazenda São Paulo, Paranaíba, Paraná.

Nº. Trat.	Tratamentos	Produtividade	Ratio	%Suco	Cx. ton ⁻¹
1	0,00 mg L ⁻¹	2,37a	21,39a	53,7a	285a
2	0,20 mg L ⁻¹	2,67a	20,34a	56,14a	301a
3	0,50 mg L ⁻¹	2,93a	20,98a	56,65a	311a
4	0,80 mg L ⁻¹	3,17a	19,85a	57,10a	304a
CV%		27,60	9,40	8,33	8,85

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

Pode-se observar que o efeito das concentrações de 2,4-D para a produtividade, ratio, rendimento do suco e rendimento industrial não foi significativo em relação a testemunha para ambas as variedades estudadas, estes dados corroboram com os observados por Schäfer et al. (2001) e Almeida et al. (2002), que também não observaram diferenças significativas utilizando concentrações de 2,4-D entre 15 e 25 mg L⁻¹ em laranja doce.

O manejo da doença com a utilização de cúpricos permaneceu no decorrer do experimento, e somado com condições climáticas que não favoreceram a disseminação do inoculo da doença nas duas áreas experimentais, resultou em um percentual de severidade de cancro cítrico inferior a 1% em todas as avaliações de folha e fruto realizadas, portanto, não foram gerados dados suficientes relacionados à severidade da doença a campo para avaliar e comparar a influência dos tratamentos de 2,4-D.

CONCLUSÃO

Quanto ao comportamento das variedades ao campo, pode-se concluir que as concentrações de 2,4-D utilizadas neste trabalho não foram suficientes para interferir na abscisão prematura de frutos, na força de arranquio, e nas demais características físicas e química avaliadas, e também, nestas concentrações o 2,4-D não interferiu na produtividade.

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.
- AMARAL, S. F. Providências para a erradicação do Cancro Cítrico. **O Biológico**. v.23, p.112-23, 1957.
- 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.
- BEHLAU F.; BELASQUE JR. J.; BERGAMIM FILHO, A.; LEITE JR., R.P. Incidência e Severidade de Cancro Cítrico em Laranja 'Pêra Rio' sob Condições de Controle Químico e Proteção com Quebra-Vento. **Fitopatologia Brasileira**. v.32, n.4 p.311-17, Jul./Ago. 2007.
- BELASQUE JR. J.; BASSANEZI R. B.; SPÓSITO M. B.; RIBEIRO L. M.; JESUS JR. W.C.; AMORIM L. Escalas diagramáticas para avaliação da severidade do cancro cítrico. **Fitopatologia Brasileira**. v.30, p.387-93, 2005.
- BITANCOURT, A.A. O Cancro Cítrico. **O Biológico**. v.23, p.101-11, 1957.
- BOCK, C. H.; PARKER, P. E.; COOK, A. Z.; GRAHAM, J. H.; GOTTWALD, T. R. **Infection and decontamination of citrus canker-inoculated leaf surfaces**. Crop Protection vol. 30, p. 259-264. 2011.
- BOCK, C.H.; GRAHAM, J.H.; GOTTWALD, T.R.; COOK, A.Z.; PARKER, P.E. Effect of the duration of inoculum exposure on development of citrus canker symptoms on seedlings of Swingle citrumelo. **Eur J Plant Pathol**, v.138, p.237-45, 2014.
- BRAIDO R.; GONÇALVES-ZULIANI, A. O.; CARVALHO, V.; BELASQUE JR, S.; BOCK J.; NUNES W. M. C. Development and validation of standard area diagrams as assessment aids for estimating the severity of citrus canker on unripe oranges. **Plant Disease**, 26 Jan. 2014.
- CITROSBR. Marcos Fava Neves. **O retrato da citricultura brasileira**. Markestrat, 2014.
- DAVIDONIS G. H.; HAMILTON R. H.; MUMMA R. O. Metabolism of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Soybean Root Callus. **Plant Physiol**. v. 66, p.537-40, 1980.
- DONADIO, L.C.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; MOREIRA, C.S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: MATTOS JÚNIOR D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JÚNIOR, J. **Citros**. Campinas, Instituto Agrônômico e FUNDAG, 2005. Cap. 1. p.1-18.
- EL-OTMANI, M.Ç M'BAREK, A. A.; COGGINS C. W. JR.; GA₃ e 2,4-D prolong on-three storage of citrus in Morroco. **Scientia Horticulturae**, Riverside-CA, v.44, p.241-249, 1990.

GONÇALVES-ZULIANI, A.M.O. **Avaliação da resistência de diferentes genótipos de laranja doce (*Citrus sinensis*) ao cancro cítrico e estudo da diversidade genética de *Xanthomonas citri* subsp. *citri***. 149p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Maringá, 2014.

GOTTWALD, T.; GRAHAM, J. H.; BOCK, C. H. et al.; **The epidemiological significance of post-packinghouse survival of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* for dissemination of Asiatic citrus canker via infected fruit**. *Crop Protection* 28, 508–24. 2009.

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.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE – Estatística da produção agrícola**. Disponível em: <<http://censo2010.ibge.gov.br/es/noticias-censo?busca=1&id=1&idnoticia=2784&t=en-noviembre-ibge-estima-cosecha-el-3-superior-la-2013&view=noticia>>. Acesso em: 21 Dez. 2014.

LEITE JUNIOR, R.P.; MOHAN, S.K. Integrated management of the citrus bacterial canker disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in the State of Paraná, Brazil. ***Crop Protection***. v.9, p.3-7, 1990.

MACHADO M.A. Programa de Biotecnologia em Citros do Laboratório da Estação Experimental Sylvio Moreira do IAC. ***Laranja***. v.13, p.307-27, 1992.

NEGRISOLI E. F. **Uso do Regulador Vegetal 2,4-D Visando Retenção de Frutos em Laranjeiras Afetadas por Mancha Preta dos Citros**. 36p. Dissertação (Mestrado). Fundo de Defesa da Citricultura, 2013.

PUSCHMANN R. & ROMANI R. Ethylene Production by Auxin-Deprived, Suspension-Cultured Pear Fruit Cells in Response to Auxins, Stress, or Precursor. *Plant Physiol.* v.73, p.1013-19, 1983.

RIBNICKY D. M.; ILIC N.; COHEN J. D.; COOKE T. J. The Effects of Exogenous Auxins on Endogenous Indole-3-Acetic Acid Metabolism: The Implications for Carrot Somatic Embryogenesis ***Plant Physiol.*** v. 112, p.549-58, 1996.

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.

SCHÄFER, G.; KOLLER, O. C.; SARTORI, I. A.; CASALI, M. E.; LIMA, J. G.; **Efeito de diferentes reguladores de crescimento, aplicados em diferentes épocas, e da incisão anelar dos ramos principais sobre a produção da laranjeira de umbigo ‘monte parnaso’**. *Ciência Rural*, Santa Maria-RS, v.31, n.4, p.577-81, 2001.

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