

## Uso de elicitores para defesa em plantas cítricas

Dirceu Mattos Jr.<sup>1,3\*</sup>, José Antônio Quaggio<sup>2</sup> & Rodrigo Marcelli Boaretto<sup>1</sup>

### RESUMO

A ocorrência do *huanglongbing* (HLB, *ex-greening*) na citricultura tem causado sérios prejuízos ao setor devido à severidade da doença e à dificuldade de controle. O diagnóstico, controle do inseto vetor e erradicação de plantas afetadas têm-se apresentado como medidas mais eficientes para redução do inóculo no pomar e manutenção da produção de frutos. Contudo estratégias como aplicação de nutrientes e uso de outras substâncias, denominadas elicitores, que possam induzir a sinalização e a expressão da resistência adquirida das plantas ao HLB, têm sido estudadas. Dada a importância do assunto, o presente trabalho tem o objetivo de revisar as principais informações relacionadas às interações entre estado nutricional, manejo e ocorrência de doenças, características e mecanismos de resistência das plantas. Também, discute resultados obtidos com o uso de aplicações de nutrientes e outros compostos elicitores sobre o desenvolvimento do HLB nos pomares cítricos na Flórida (EUA). As informações acerca destes estudos são recentes e bastante limitadas, embora reportem a melhoria do desenvolvimento vegetativo de plantas tratadas com o uso foliar de nutrientes e elicitores, evidências de efeitos positivos dessas sobre o controle da doença no campo não foram observadas.

**Termos de indexação:** manejo nutricional, doenças e plantas, resistência sistêmica adquirida, *huanglongbing*, controle de doenças de plantas.

### SUMMARY

#### Use of elicitors for citrus plant defense

The occurrence of the *huanglongbing* (HLB or *greening*) in the citriculture has caused major losses because of the severity and difficulty of disease control. Diagnostic, control of insect vector and eradication of affected plants turned out as efficient practices for reduced inoculum and maintenance of fruit production in citrus groves. However, strategies as nutrient supply and use of other substances, as elicitors, which can induce signaling and expression of plant acquired resistance to HLB have been studied. Presented the importance of this theme, this work reviews the baseline of information on the interaction between nutrient status of plants, nutrient management and occurrence of diseases. Moreover, the characteristics and mechanisms of acquired resistance in plants and research data on the application of nutrients and other elicitor compounds on the progress of HLB in citrus groves in Florida (USA) is discussed. The knowledge on these later is recent and very limited; even though improvement on vegetative

<sup>1</sup> Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Rodovia Anhanguera, km 158, Caixa Postal 4, 13490-970 Corderópolis-SP

\* Autor para correspondência - E-mail: ddm@centrodecitricultura.br

<sup>2</sup> Centro de Solos e Recursos Ambientais, Instituto Agrônomo, Campinas/SP

<sup>3</sup> Bolsista do CNPq

growth of treated plants with foliar applications of nutrients and elicitors is reported, no evidences that support their positive effects on disease control in the field were observed.

**Index terms:** nutrient management, plant diseases, systemic acquired resistance, huanglongbing, plant disease control.

## INTRODUÇÃO

Desde a constatação do *huanglongbing* (HLB ou *ex-greening*) na citricultura brasileira em 2004 (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005), várias ações têm sido desenvolvidas na tentativa de melhorar seu controle face os altos prejuízos causados à produção e à qualidade de frutos e em consequência à viabilidade econômica das plantas afetadas (da Graça, 1991; Bové, 2006; Roussef et al., 2008; Bassanezi et al., 2009). A doença é causada por uma bactéria (*Candidatus Liberibacter* spp.) restrita ao floema das plantas, transmitida de modo eficiente por inseto vetor (*Diaphorina citri*; psilídeo) e tem um período longo de incubação (Bové, 2006; Gottwald et al., 2007). Até o momento não existem variedades cítricas tolerantes ao HLB, que é disseminado rapidamente no pomar (Bové, 2006; Lopes & Frare, 2008; Folimonova et al., 2009).

As primeiras informações buscadas nesse cenário foram o estabelecimento de diagnóstico eficiente para a detecção de plantas infectadas, com a definição de critérios para identificação visual dos sintomas da doença (Coletta-Filho et al., 2005; Carlos et al., 2006), de métodos laboratoriais precisos para identificação da bactéria, com base em sequências de DNA (Tanaka et al., 2006) e da formulação de regulamentação para a erradicação de plantas também infectadas (Belasque Jr. et al., 2009). Outros estudos também contribuíram para o entendimento da importância do controle do psilídeo no manejo dos pomares visando a manutenção da eficiência de produção (Halbert & Manjunath, 2004; Brlansky & Rogers, 2007; Yamamoto et al., 2009).

Mais recentemente, tem-se avaliado o uso de indutores de resistência ou elicitores (substâncias de ocorrência natural ou sintética, que estimulam a resposta da planta quando, por exemplo, infectadas por algum patógeno, a qual pode ser comparada à “resposta imune inata” que ocorre em animais) para melhorar a sanidade da planta ao HLB (Arevalo et al., 2009). Esses elementos ou moléculas podem induzir o sistema de

defesa da planta, como a resposta de hipersensibilidade (HR), no local de infecção, ou a resistência sistêmica adquirida (SAR), quando sinais de defesa são difundidos pela planta, induzindo resistência a ataques subsequentes do patógeno (Sticher et al., 1997).

Relacionado à este último, verifica-se o papel que os nutrientes minerais exercem sobre a sanidade da planta, cuja interação se dá pela alteração da suscetibilidade do tecido vegetal ao ataque por insetos e à infecção por patógenos, ou pela alteração de características químicas do sistema solo-planta que afetam a sobrevivência e a atividade desses indivíduos (Datnoff et al., 2007). De forma indireta, a absorção e o uso dos nutrientes minerais pelas plantas são afetados como resposta aos problemas fitossanitários, cujos reflexos são alterações da concentração e do acúmulo de nutrientes na planta (Marschner, 1995).

Contudo, as informações acerca do uso dos elicitores, associadas ao manejo nutricional em pomares comerciais, são bastante limitadas e ainda não suportam cientificamente a tomada de decisão para o amplo emprego como ferramenta de manejo dos citros que contribua eficientemente para o controle do HLB. Assim, dada a importância do tema, o presente trabalho apresenta a base para o entendimento da interação estado nutricional e ocorrência de doenças, dos mecanismos de defesa das plantas, e discute resultados de pesquisa já desenvolvidos na citricultura para o controle do HLB.

## DESORDENS NUTRICIONAIS COMO CONSEQUÊNCIA DA OCORRÊNCIA DE DOENÇAS EM PLANTAS

A aquisição, alocação, redistribuição e eficiência de uso dos nutrientes minerais pelas plantas estão relacionadas às condições ambientais e ao manejo cultural, à ocorrência de pragas e doenças, às combinações copas e porta-enxertos, entre outros. Estes fatores, causam direta ou indiretamente sintomas de desordens nutricionais (deficiência ou

toxicidade) que podem, quando mais severos, ser identificados visualmente.

A maioria das doenças dos citros é agrupada como sistêmicas, de ramos, folhas e frutos, e de troncos e raízes e cujos patógenos afetam as árvores por meio de diferentes mecanismos que causam estresses no desenvolvimento da planta, amarelecimento da copa, nanismo, declínio ou morte rápida da planta (Laranjeira et al., 2005). Geralmente, esses mecanismos são caracterizados pela obstrução parcial ou total dos vasos do xilema e disfunção das células do floema, com prejuízos ao transporte de água e de nutrientes bem como de fotoassimilados. Essas injúrias afetam diretamente o sistema vascular de ramos e tronco que causam prejuízos às folhas e prejudicam a fotossíntese, além de danos ao sistema radicular devido a podridões e morte de raízes (Agrios, 1997).

Neste contexto, informações sobre a interação estado nutricional e doenças de plantas têm sido tratadas na citricultura, contudo sem estabelecer ao certo a relação causa e efeito. Um resumo deste assunto foi apresentado por Malavolta et al. (2005), cujos autores determinaram as variações das concentrações de nutrientes e outros elementos minerais em folhas de plantas cítricas afetadas pela clorose variegada (CVC), declínio, morte súbita (MSC) e HLB. Os dados do trabalho mostram tendências de diminuição, aumento ou falta de efeito da doença sobre teores foliares desses elementos (Tabela 1), e se prestam para abordagens confirmatórias de resultados anteriores (Malavolta & Prates, 1991; Wutscher & Hardesty, 1979, Wutscher et al., 1994; Müller et al., 2002), destacando concordâncias e discordâncias sobre o estado nutricional das plantas como também caracterizado, por Spann & Schumann (2009), para plantas sadias e com HLB.

Da mesma forma, o desbalanço nutricional e consequentes características químicas e físicas das folhas, decorrentes de prejuízos causados ao transporte de elementos minerais e fotoassimilados no floema da planta afetada pelo HLB, foi estudado para verificar a possibilidade do diagnóstico precoce da doença (Spann et al., 2008; Spam et al., 2010). Os dados preliminares obtidos estabelecem algumas correlações significativas, contudo não suportam adequadamente

a proposição do diagnóstico precoce como ferramenta para o manejo da doença nos pomares comerciais.

Ainda, Spann e colaboradores têm desenvolvido outros estudos para verificar a eficiência das aplicações foliares de nutrientes para aumentar o seu suprimento e minimizar os prejuízos causados ao desenvolvimento do sistema radicular e, conseqüentemente, ao transporte de água e nutrientes para a parte aérea das plantas (Spann et al., 2010). Neste caso, postula-se que as plantas afetadas pelo HLB e supridas com os nutrientes recuperam em parte a capacidade de crescimento vegetativo e podem ser conduzidas no campo por um período maior, que talvez possa ser econômico. A outra justificativa é que esses nutrientes podem contribuir para o desenvolvimento da resistência adquirida da planta à doença, funcionando como elicitores (Spann et al., 2010). Os dados preliminares obtidos nesses estudos são apresentados no item a seguir.

**Tabela 1.** Tendências na variação de teores dos elementos minerais nas folhas de citros com o aumento da severidade de doenças

Elemento	Doenças			
	CVC	Declínio	HLB	MSC
N	+	-	-	-
P	-	+	+	0
K	-	+	-	-
Ca	0	-	-	0
Mg	0	-	-	0
S	0	0	-	0
B	0	0	0	-
Co	0	-	0	0
Cu	0	+	+	0
Fe	0	-	+	+
Mn	0	-	0	0
Mo	-	+	0	+
Ni	+	+	-	0
Zn	+	0	-	-
Al	0	-	+	+

**Fonte:** Adaptado de Malavolta et al. (2005)

Legenda: CVC = clorose variegada dos citros, HLB = *huanglongbing* (ex-greening) e MSC = morte súbita dos citros. Aumento (+), diminuição (-) ou falta de efeito (0) da doença sobre a concentração do elemento no tecido foliar.

## A RESISTÊNCIA DE PLANTAS À DOENÇAS

As plantas encontram-se frequentemente em contato com patógenos, embora o desenvolvimento de doenças resulte em poucos desses eventos. Isto se deve às limitações que os microrganismos têm para o seu estabelecimento no hospedeiro dada falhas de mecanismos de patogenicidade ou, por outro lado, ocorrência de mecanismos de defesa primários ou secundários das plantas em resposta à interação com o patógeno (Delaney, 1997). Neste último caso, as funções de defesa estão relacionadas à produção de compostos antimicrobianos, enzimas e componentes estruturais que dificultam o crescimento dos microorganismos (Dixon & Lamb, 1990; Koorneef, 2008).

Embora não claramente definidos, os mecanismos de defesa da planta estão ligados à expressão de muitos genes envolvidos na resposta hipersensitiva (HR). Estes codificam proteínas de sinalização que através de efeitos cascata, ativam a expressão de genes, como por exemplo, os que codificam proteínas relacionadas à patogênese (PR), enzimas envolvidas na produção de fitoalexinas, enzimas de processos oxidativos, reparação de tecidos, lignificação, outras barreiras estruturais celulares que impedem a penetração do patógeno etc. (Reymond & Farmer, 1998).

Muitos dos genes de defesa são regulados por um número pequeno de rotas de sinalizações, as quais dependem de moléculas de baixo peso molecular como o ácido jasmônico (JA), o ácido salicílico (SA), o etileno (ET) e possivelmente, de forma indireta e relacionada com o estresse oxidativo, o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Sticher et al., 1997; Reymond & Farmer, 1998; Walling, 2001; Vlot et al., 2008). Outros hormônios, como ácido abscísico (ABA), brassinosteroides e auxinas têm sido também relacionados com a resposta imune das plantas, contudo sua relevância ainda não é tão bem compreendida (Koorneef et al., 2008).

As diferentes rotas de sinalização que regulam a defesa das plantas são específicas ao tipo de agente patogênico, e são reconhecidas como resistência local (a qual é verificada no mesmo tecido ou órgão da planta onde ocorreu o estímulo da sinalização) ou como sistêmica (verificada em uma parte da planta diferente daquela onde ocorreu o estímulo primário). Essa sinalização ocorre através de estruturas especiais denominadas plasmodesmatas (Lucas & Lee, 2004; Walters, 2009). A resistência sistêmica é caracterizada como adquirida, induzida e induzida por ferimentos (Tabela 2). Outra característica importante da defesa sistêmica é a inter-relação entre sinalizações (no inglês, *cross-talk*), com JA, SA e ET controlando/alterando

**Tabela 2.** Características da resistência das plantas à doenças

Tipo	Resistência sistêmica adquirida	Resistência sistêmica induzida	Resistência induzida por ferimentos
Sinonímia em inglês	<i>Systemic acquired resistance</i> (SAR)	<i>Induced systemic resistance</i> (ISR)	<i>Wound-induced resistance</i> (WIR)
Características	Desenvolve sistemicamente e em sequência à resposta hipersensitiva. É mediada por processo dependente do ácido salicílico (SA) e relacionada à expressão sistêmica de genes relacionados à patogênese (PR). Efetiva contra microrganismos biotróficos.	Desenvolve como resultados da colonização de raízes por rizobactérias que promovem crescimento de plantas. É mediada principalmente pela resposta da produção de ácido jasmônico (JA) e etileno (ET). Mais efetiva contra microrganismos necrotóxicos.	Tipicamente elicitada por injúrias nos tecidos da planta causadas por pragas. Indiretamente pode ser efetiva contra patógenos. Neste caso é mediada pela produção de ET.

Fonte: Francia et al. (2008); Walters (2009).

a atividade de outro regulador (Reymond & Farmer, 1998). Assim, SA primariamente é antagônico às sinalizações mediadas pelo JA, também como ABA e auxinas, enquanto que o JA e ABA suprimem a sinalização do SA (Vlot et al., 2009). Essas interações podem auxiliar a planta a priorizar um rota em relação à outra. Por exemplo, durante a patogênese, dirigir o gasto energético para a síntese de proteínas, suprimindo simultaneamente a expressão de genes responsáveis pela resistência induzida por ferimentos contra pragas. Por outro lado, os patógenos podem usar o estímulo a determinada sinalização pela síntese de compostos na planta, incluindo mímicos de reguladores, ou promovendo a degradação de outros, como estratégia para confundir os sistemas de defesa e favorecer seu desenvolvimento (Reymond & Farmer, 1998).

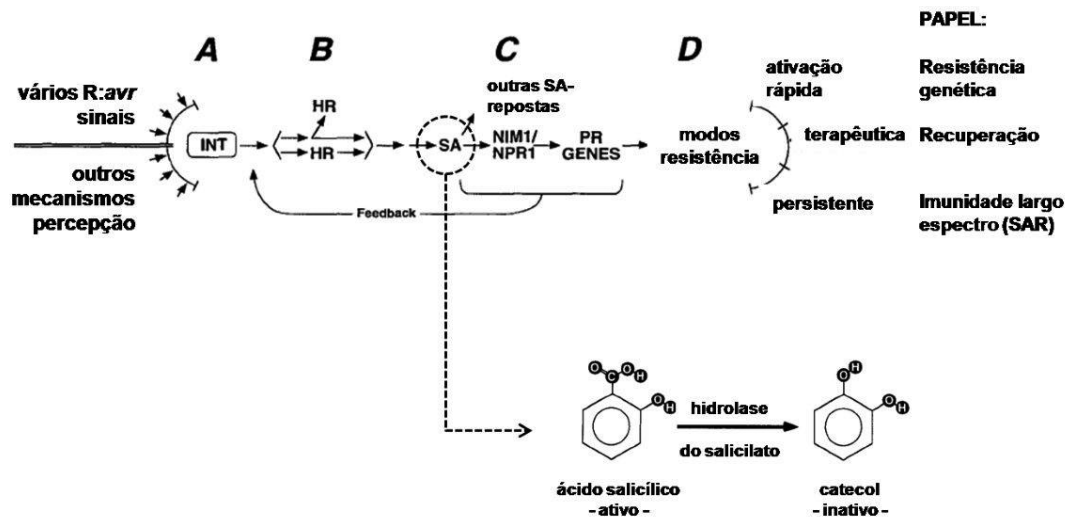
### Resistência sistêmica adquirida e o papel dos elicitores

A defesa das plantas através da resistência sistêmica é ativada pela percepção da planta à ação do patógeno e é mediada por genes de resistência (*R*) que reconhecem patógenos que possuam um gene correspondente de avirulência (*avr*), ou ainda outros

fatores que possam ser identificados (Figura 1). Contudo, se a planta ou o patógeno não apresentarem estes genes correspondentes, a susceptibilidade da planta à infecção ocorre à medida que as respostas de defesa não são ativadas em tempo ou intensidade necessárias (Vlot et al., 2009).

No modelo da Figura 1, esses primeiros sinais são recebidos por moléculas identificadas como receptoras que ativam a reação local hipersensitiva, a qual pode causar a morte celular ou ainda promover o acúmulo de ácido salicílico, e subsequentemente induzir a expressão de genes identificados como *NIM1/NPRI* e *PR* (Delaney, 1997; Nimchuk et al., 2003). Da expressão desses genes, verifica-se a indução de várias formas de resistência cuja reação rápida caracteriza a resistência genética e aquela moderada caracteriza a resistência terapêutica (a qual atenua a severidade da doença) ou sistêmica (a qual contribui para a resistência de amplo espectro contra infecções sucessivas).

A importância do SA nesse modelo é evidenciado em estudos com plantas geneticamente transformadas com o gene bacterial *nahG*, o qual codifica a hidrolase do salicilato, uma enzima que promove a transformação do SA em catecol – este último, forma inativa no desenvolvimento da resistência sistêmica (Figura 1).



**Figura 1.** Modelo de sinalização da rota que regula a expressão da resistência adquirida em plantas. A) ativação da rota pelo reconhecimento da interação genes de resistência (*R*) e avirulência (*avr*) e recebimento de sinais por receptor (INT); B) resposta hipersensitiva (HR); C) acúmulo de ácido salicílico (SA) e indução de genes que codificam proteínas relacionadas à patogênese (*PR*) – linha tracejada demonstra ação de enzima que converte SA em catecol e inativa a sinalização de resistência, cujo mecanismo evidencia a importância do SA; D) modos de resistência expressos. Fonte: Adaptado de Delaney (1997).



Essas plantas transformadas são inaptas ao acúmulo de SA e conseqüentemente mais suscetíveis à doenças (Delaney, 1997).

A pesquisa tem envidado esforços para caracterizar os agentes que induzem a resistência adquirida que possam de maneira direta ou indireta contribuir para a resposta das plantas contra fitopatógenos com potencial para a agricultura (Vallad et al., 2004; Guidetti-Gonzalez et al., 2007; Febres et al., 2009).

Na citricultura, mais recentemente, Francis et al. (2009) demonstraram a redução de cerca de 70% do número de lesões de cancro cítrico causadas por *Xanthomonas citri* subsp. *citri* em folhas de citrumelo Swingle [*Citrus paradisi* Macf. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] tratado com o inseticida sistêmico imidacloprid (molécula que na planta é transformada em ácido cloronicotínico, análogo ao ácido isonicotínico, sinalizador da SAR) comparado com plantas não tratadas. A resposta ocorreu em função da indução da SAR, a qual foi confirmada pela expressão do gene *PR-2*.

O efeito do imidacloprid e outros sinalizadores da SAR foi também testado em plantas de tangerina Cleópatra (*C. reshni* hort. ex Tan.) enxertadas com borbulhas infectadas com *Ca. Liberibacter*, contudo não se verificou resultados semelhantes quanto a redução da expressão de sintomas e título da bactéria causadora do HLB (Graham et al., 2008).

O sucesso do uso de elicitores reside na determinação de como diferentes fatores interagem para a formação da rede de sinalização que induz à resistência das plantas às doenças, e que o desafio adicional envolve a integração desse conhecimento em aplicação prática e econômica (Vlot et al., 2008). Contudo, é sabido que outra característica da resistência adquirida é o fato de que esta não promove o controle completo da doença, mas contribui para a redução da severidade, e embora níveis de controle tenham sido obtidos em condições controladas, níveis mais baixos são reportados no campo (Walters & Heil, 2007; Walters, 2009). Ainda, segundo os referidos autores, uma das razões para a aparente incapacidade da resistência prover adequada proteção das plantas seria que esta já se encontra “induzida” nas condições de campo, e seu efeito representaria o resultado da interação da planta com os ambientes

biótico (outros patógenos, micorrizas e microrganismos rizosféricos) e abiótico (como estresse hídrico e estado nutricional das plantas).

### **Resistência sistêmica adquirida e ocorrência do HLB**

Na Flórida (EUA), um pomar de laranjas do condado de Hendry despertou a atenção de técnicos e pesquisadores sobre o uso de produtos que aparentemente têm contribuído para a melhoria da vegetação das plantas afetadas pelo HLB. A experiência local da aplicação de sulfato de zinco (Zn) e sulfatos de Zn mais magnésio (Mg) para o controle da mancha graxa, de fosfito para o controle de *Phytophthora* e de peróxido de hidrogênio + *Bacillus subtilis* para o controle do cancro cítrico foi combinada com a aplicação de salicilato de potássio para o controle do HLB. A esses produtos, ainda, verifica-se a adição de manganês (Mn), boro (B), molibdênio (Mo) e nitrato de potássio para o suprimento de nutrientes para as plantas, além do óleo como inseticida para o controle do psíldeo (Giles, 2009). Essa mistura é aplicada via foliar várias vezes ao ano, quando os fluxos de vegetação apresentam folhas jovens a recém-maduras.

As observações do citricultor apontam para a recuperação da vegetação das plantas afetadas no seu pomar, que embora continuem doentes, têm a expectativa do aumento da vida produtiva. Com base nessa experiência, os Drs. Bob Rouse, Phil Stansly e Alejandro Arevalo, pesquisadores do South West Florida Research and Education Center (SWFREC), Universidade da Flórida (UF), em Immokalee, iniciaram experimentos de campo para testar a efetividade desse “pacote de proteção” e suas misturas parciais, o que denotaram de “tratamento foliar especial”. O Dr. Tim Spann, do Citrus Research and Education Center (CREC), UF, em Lake Alfred, e colaboradores têm também avaliado o uso desses produtos e correlacionado à ocorrência de sintomas visuais do HLB e da bactéria causadora da doença com o estado nutricional das plantas em pomares comerciais.

Os resultados obtidos nas pesquisas na Universidade da Flórida, até o momento, são preliminares. Em laranjeiras Valência [*C. sinensis* (L.) Osbeck] com sete anos de idade com HLB que

receberam a aplicação do tratamento foliar especial em relação ao controle não aplicado, os pesquisadores verificaram um melhor enfolhamento inicial e a redução dos sintomas em folhas de cerca de 35% para 5% (Arevalo et al., 2009). No entanto, essas diferenças visuais desapareceram após dois a quatro meses das aplicações e os níveis de plantas com sintomas visíveis do HLB foram maiores que aqueles inicialmente avaliados no estudo. Ainda, o tratamento especial não reduziu o número de psilídeos encontrados no pomar quando inseticidas não foram aplicados em conjunto.

As avaliações do estudo anterior no segundo ano de desenvolvimento do experimento demonstraram que o nível de infecção das plantas com HLB, determinados pelo diagnóstico da bactéria por meio da técnica do PCR quantitativo, foram iguais para os tratamentos controle e nutricional [valor Ct<sup>4</sup> médio = 26,4] e diferiram dos tratamentos inseticida e nutricional mais inseticida (Ct médio = 28,6), o que demonstrou a importância do controle da população do psilídeo no pomar (Arevalo, A. & Stansly, P. – dados não publicados). A produção de frutos no experimento em 2009 foi cerca de 1,0 caixa (40,8 kg) por planta nos tratamentos controle, nutricional e inseticida e 1,3 caixa (40,8 kg) por planta no tratamento nutricional mais inseticida. Apesar da diferença de produção observada, não foi possível caracterizar se o tipo de resposta observada deveu-se aos efeitos da adubação, do uso dos sinalizadores da SAR ou do efeito aditivo destes, principalmente em um pomar de baixa produtividade, apesar de fertirrigado.

O Dr. Spann (comunicação pessoal), com base nesses trabalhos, informa que é possível a indução de resistência como já discutido, embora não tenha evidência direta deste efeito ao aplicar o “pacote de proteção”, e conclui que “a melhoria do estado nutricional não cura a planta, somente pode retardar o progresso da doença em uma árvore infectada”. Outros resultados não publicados também destacam que o tratamento foliar especial não tem contribuído para a redução significativa da concentração da bactéria na planta.

Dada a limitada disponibilidade de informações acerca da resistência adquirida nos citros e a ocorrência do HLB, o emprego de substâncias elicitoras e a

interação com o manejo de nutrientes na cultura deve ser criticamente avaliada para a manutenção da eficiência de produção dos pomares. Neste sentido é necessário considerar que as respostas evidenciadas na Flórida (EUA) são relacionadas principalmente à redução dos sintomas foliares de deficiências minerais, especialmente de Zn e Mn, uma vez que os pomares exibem deficiência desses nutrientes por estarem significativamente afetados pela doença. Portanto, a aplicação foliar promove a redução de cloroses e deformações típicas favorecendo a melhor aparência da planta tratada. Vale ressaltar que o tratamento apenas com ácido salicílico não mostrou o mesmo efeito na planta. Assim, com a aplicação de doses maiores de nutrientes contidos no “pacote de proteção”, é possível que o número de ramos secos (devido ao *dieback* – sintoma severo de deficiência de Zn) e de folhas de tamanho reduzido e com coloração verde-pálido diminuam, propiciando melhor aparência vegetativa à planta. Entretanto, como destacado anteriormente, não se observa remissão do HLB na planta, pois os ramos novos recém-maduros apresentam sintomas da doença.

Vale ressaltar que o maior problema deste tipo de tratamento alternativo é que ele muda o foco do citricultor sobre o manejo mais adequado da doença (inspeção, erradicação e controle rigoroso do vetor), conforme determina a Instrução Normativa 53 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008), pondo em risco a sua continuidade no negócio citrícola. Não havendo cura da planta doente, ela persiste como fonte de inóculo a contaminar o restante do pomar e propriedades vizinhas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ocorrência de várias doenças nos citros está relacionada à desordens nutricionais, cuja relação causa efeito nem sempre é claramente definida. Contudo, verificam-se propostas para o ajuste do manejo de nutrientes para o controle ou redução da severidade dessas no pomar. Mais recentemente, tem-se discutido o uso de elementos minerais e outras moléculas como indutores da

<sup>4</sup> Valor Ct obtido no diagnóstico por PCR quantitativo é inversamente proporcional ao título da bactéria no tecido vegetal; o laboratório do SWFREC/UF considera positivo amostras para HLB que apresentam Ct < 36, conforme informações dos autores.

resistência adquirida na planta (SAR) com o mesmo objetivo. É demonstrado que essa resposta imune depende de fatores inerentes à planta e ao patógeno e se dá através de mecanismos de sinalização, os quais podem ser induzidos pelo uso de indutores conhecidos como elicitores. Embora a literatura apresente exemplos de sucesso da SAR para algumas culturas, ainda existem dúvidas acerca das vias até sua expressão, como concentrações ótimas de produtos para aplicação em plantas e indução da sinalização, definição da inter-relação entre sinalizações e efetividade em condições controladas e de campo.

Os estudos desenvolvidos recentemente com a aplicação de misturas de elicitores e outros elementos, embora tenham destacado a melhoria da vegetação de pomares cítricos afetados pelo HLB, não comprovaram a cura das plantas infectadas. Vale salientar que esses estudos foram realizados em pomares de baixa produtividade. Além disso, dispõe-se de poucas informações as quais não sustentam a aplicação dessas misturas para supressão da doença no campo. Ressalta-se também que alguns dos componentes dessas misturas elicitoras, como micronutrientes, já são recomendados para a aplicação na citricultura (Mattos Jr. et al., 2009).

Assim, a substituição da estratégia da diminuição do inóculo do HLB no pomar, com a erradicação de plantas doentes, e do controle do psilídeo nas condições atuais da citricultura brasileira pela utilização das misturas elicitoras poderá trazer ao citricultor maiores prejuízos a longo prazo, uma vez que as informações disponíveis apontam apenas para o retardamento do desenvolvimento da doença no pomar, condição esta que não é permitida de acordo com legislação federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O direcionamento de novas pesquisas deve procurar responder questões sobre quais são os principais componentes envolvidos na SAR, modos de aplicação dos seus elicitores, efetividade contra plantas infectadas e sadias, além do custo, que possam validar o emprego dessa estratégia em pomares de alta produtividade, se dada mudanças na legislação atual sobre a obrigatoriedade da erradicação de plantas afetadas pelo HLB.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios G (1997) Plant pathology. Academic Press, New York, 635p.
- Arevalo HA, Stansly PA & Rouse RE (2009) Preliminary effects of insecticidal control of asian citrus psyllid and combinations of nutrients and systemic acquired resistance elicitors on incidence of greening disease in citrus resistant. Pest Management Newsletter 18:14-17.
- Bassanezi RB, Montesino LH & Stuchi ES (2009) Effects of huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. European Journal of Plant Pathology 125:565-572.
- Belasque Jr J, Bergamin Filho A, Bassanezi RB, Barbosa JC, Gimenes-Fernandes G, Yamamoto PT, Lopes SA, Machado MA, Leite Jr RP, Ayres AJ & Massari CA (2009) Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de *Huanglongbing* (HLB, *greening*) visando o controle efetivo da doença. Tropical Plant Pathology 34:137-145.
- Bové JM (2006) Huanglongbing: a destructive newly-emerging century-old disease of citrus. Journal of Plant Pathology 88:7-37.
- Brlansky RH & Rogers ME Citrus huanglongbing: understanding the vector-pathogen interaction for disease management Disponível em: <<http://www.wapsnet.org/online/feature/HLB/>> Acesso em dez 2007.
- Carlos EF, Coletta-Filho HD, Bacocina G, Alves KCS, Pereira MAR, Dorta SO & Machado MA (2006) Symptoms and distribution of *Candidatus Liberibacter* sp. based on PCR (polymerase chain reaction) and visual diagnosis In: International *Huanglongbing - Greening* Workshop 1 2006 Ribeirão Preto Proceedings... Ribeirão Preto: Fundecitrus e outros 2006 p23.
- Coletta-Filho HD, Targon MLPN, Takita MA, De Negri JD, Pompeu Jr J, Amaral AM, Müller GW & Machado MA (2004) First report of the causal agent of huanglongbing (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) in Brazil. Plant Disease 88:382.
- Coletta-Filho HD, Carlos EF, Alves KCS, Tersi FE, & Machado MA (2005) Detecção e distribuição irregular de *Candidatus Liberibacter* spp. agente causal de *huanglongbing* dos citros. Fitopatologia Brasileira 30:S60.



- da Graça JV (1991) Citrus greening disease. Annual Review of Phytopathology 91:109-136.
- Datnoff LE, Elmer WH & Huber DM (2007) Mineral nutrition and plant disease. APS Press: St Paul, 278p.
- Delaney TP (1997) Genetic dissection of acquired resistance to disease. Plant Physiology 113:5-12.
- Dixon RA & Lamb CJ (1990) Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 41:339-367.
- Febres VJ, Khalaf A, Gmitter Jr FG & Moore GA (2009) Production of disease resistance in *Citrus* by understanding natural defense pathways and pathogen interactions. Tree and Forestry Science and Biotechnology 3:30-39.
- Folimonova SY, Robertson CJ, Garnsey SM, Gowda S & Dawson WO (2009) Examination of the responses of different genotypes of citrus to huanglongbing (citrus greening) under different conditions. Phytopathology 99:1346-1354.
- Francia D, Demaria D, Calderini O, Ferraris L, Valentino D, Arcioni S, Tamietti G & Cardinale F (2008) Do pathogen-specific defense mechanisms contribute to wound-induced resistance in tomato? Plant Signaling & Behavior 3:340-341.
- Francis MI, Redondo A, Burns JK & Graham JH (2009) Soil application of imidacloprid and related SAR-inducing compounds produces effective and persistent control of citrus canker. European Journal of Plant Pathology 124:283-292.
- Giles F An alternative approach Florida Grower Jan 2009.
- Gottwald TR, da Graça JV & Bassanezi RB (2007) Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact Plant Health Progress Disponível em: <<http://www.wapsnet.org/online/feature/huanglongbing/>> Acesso em set 2007.
- Graham JH, Dawson WO & Robertson C (2008) Imidacloprid-induced systemic acquired resistance (SAR) in Cleopatra mandarin and development of HLB In: International Research Conference on Huanglongbing 1 2008 Orlando Proceedings... Orlando: USDA e outros p310.
- Guidetti-Gonzalez S, Freitas-Astúa J, Amaral AM, Martins NF, Mehta A, Silva MS & Carrer H (2007) Genes associated with hypersensitive response (HR) in the citrus EST database (CitEST) Genetics and Molecular Biology 30:943-956.
- Halbert SE & Manjunath KL (2004) Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist 87:330-353.
- Koornneef A, Leon-Reyes A, Ritsema T, Verhage A, Otter FCD, van Loon LC & Pieterse CMJ (2008) Kinetics of salicylate-mediated suppression of jasmonate signaling reveal a role for redox modulation. Plant Physiology 147:1358-1368.
- Laranjeira FF, Amorim L, Bergamin Filho A, Aguilar-Vildoso CI & Coletta-Filho HD (2005) Fungos procariotos e doenças abióticas In: Mattos Jr D, De Negri JD, Pio RM & Pompeu Jr J. Citros. IAC e Fundag: Campinas. p.509-536.
- Lopes SA & Frare GF (2008) Graft transmission and cultivar reaction of citrus to "*Candidatus Liberibacter americanus*". Plant Disease 92:21-24.
- Lucas WJ & Lee JY (2004) Plasmodesmata as a supracellular control network in plants. Nature Reviews. Molecular Cell Biology v5 p712-726.
- Malavolta E & Prates HS (1991) Alterações na composição mineral das folhas de pomares afetados pela anomalia "amarelinho" ou clorose variegada. Laranja 12:15-18.
- Malavolta E, Cabral CP, Prates HS, Oliveira SC, Lavres Jr J, Malavolta M & Moraes MF (2005) Composição mineral de folhas de citros afetadas por declínio, amarelinho (CVC), morte súbita e *huanglongbing* (HLB) Informações Agrônomicas 110:3-6.
- MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Instrução Normativa nº 53 de 16 de outubro de 2008 Diário Oficial da União de 17/10/2008 Seção 1 Página 2.
- Mattos Jr D, Quaggio JA, Cantarella H & Boaretto RM (2009) Citros: manejo da fertilidade do solo para alta produtividade. Informações Agrônomicas 128:5-12.

- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. Academic Press: San Diego, 889p.
- Müller GW, De Negri JD, Aguilar-Vildoso CI, Mattos Jr D, Pompeu Jr J, Teófilo Sobrinho J, Machado MA & Girotto LF (2002) Morte súbita dos citros: uma nova doença na citricultura brasileira. *Laranja* 23:371-386.
- Nimchuk Z, Eulgem T, Holt III BF & Dangl JL (2003) Recognition and response in the plant immune system. *Annual Review of Genetics* 37:579-609.
- Reymond P & Farmer EE (1998) Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Current Opinion in Plant Biology* 1:104-411.
- Roussef R, Danyluk M, Goodrich R, Sims C, Valim F & Spann TM (2008) Aroma volatile differences in juices from HLB infected and control late season Valencia oranges. In: International Citrus Congress 11 Wuhan Program and Abstracts... Wuhan: ISC 2008 p39.
- Spann TM, Schumann A, Etxeberria E & Oswalt WC (2008) Huanglongbing effects on nutrient balance and starch content of sweet orange leaves In: International Citrus Congress 11 Wuhan Program and Abstracts... Wuhan: ISC 2008 p53.
- Spann TM & Schumann AW (2009) The role of plant nutrients in disease development with emphasis on citrus and huanglongbing. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 122:169-171.
- Spann TM, Atwood RA, Dewdney MM, Ebel RC, Ehsani R, England G, Futch S, Gaver T, Hurner T, Oswalt C, Rogers ME, Roka FM, Ritenour MA & Zekri M (2010) IFAS Guidance for huanglongbing (greening) management Disponível em: <[www.wagnetonline.com/documents/02-26-10-uf-ifas-hlb-guidepdf](http://www.wagnetonline.com/documents/02-26-10-uf-ifas-hlb-guidepdf)> Acesso em: 26 fev 2010.
- Sticher L, Mauch-Mani B, & Métraux JP (1997) Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 35:235-370.
- Tanaka FAO, Kitajima EW, Jesus JR WC, Ayres AJ, Gimenes-Fernandes N & Bové JM (2006) First report of the electron micrograph of “*Candidatus Liberibacter*” particles on citrus in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 31:99.
- Teixeira DC, Ayres AJ, Kitajima EW, Tanaka FAO, Danet L, Jagoueix-Eveillard S, Saillard C & Bové JM (2005) First report of a Huanglongbing-like disease of Citrus in São Paulo State Brazil and association of a new *Liberibacter* species “*Candidatus Liberibacter americanus*” with the disease. *Plant Disease* 89:107.
- Vallad GE & Goodman RM (2004) Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science* 44:1920-1934.
- Vlot AC, Klessig DF & Park SW (2008) Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Current Opinion in Plant Biology* 11:36-442.
- Vlot AC, Dempsey DA & Klessig DF (2009) Salicylic acid a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology* 47:177-206.
- Walling LL (2001) Induced resistance: from the basic to the applied. *Trends in Plant Science* 6:445-447.
- Walters D & Heil M (2007) Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71:3-17.
- Walters DR (2009) Are plants in the field already induced? Implications for practical disease control. *Crop Protection* 28:459-465.
- Wutscher HK & Hardesty C (1979) Concentrations of 14 elements in tissues of blight-affected and healthy Valencia orange trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 104:9-11.
- Wutscher HK, Pavan MA & Perkins RE (1994) A survey of mineral elements in the leaves and roots of citrus variegated chlorosis (or Amarelinho) affected orange trees and 45 acid extrants elements in the soil of orchards in northern São Paulo and southern Minas Gerais. *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 37:147-156.
- Yamamoto PT, Felipe MR, Sanches AL, Coelho JHC, Garbim LF & Ximenes NV (2009) Eficácia de inseticidas para o manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros. *BioAssay* 4:1-9.