

Botânica Aplicada 2

André Luiz Oliveira de Francisco
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2019

André Luiz Oliveira de Francisco
(Organizador)

Botânica Aplicada 2

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B748 Botânica aplicada 2 [recurso eletrônico] / Organizador André Luiz Oliveira de Francisco. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Botânica Aplicada; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-055-1

DOI 10.22533/at.ed.551192201

1. Biologia vegetal. 2. Botânica. 3. Meio ambiente –
Conservação. I. Francisco, André Luiz Oliveira de. II. Série.

CDD 582.1

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra Botânica Aplicada 2 – Inserções Multidisciplinares traz ao leitor diversos temas da área, sendo mais de 28 trabalhos científicos, no qual o leitor poderá desfrutar de pontos da biologia vegetal aplicada abrangentes envolvendo temáticas como de sociedade, conservação do ambiente, produção vegetal, dentre outros.

A obra está seccionada em 4 setores temáticos da botânica: Avaliação da Produção e Desenvolvimento de Plantas; Estudos Taxonômicos de Plantas; Avaliação Botânica para Estudos dos Ambientes; Botânica Aplicada aos Estudos Socioeconômicos do Ambiente, onde os mesmos trarão estudos científicos recentes e inovadores de forma a demonstrar aplicação da biologia vegetal em assuntos como produção de mudas, germinação de plantas, avaliação de áreas degradadas, levantamento florístico para avaliação de ambientes, estudos socioambientais relacionados a botânica, avaliações econômicas de plantas.

A abrangência dos temas nos setores e sua aplicação na preservação, recuperação e avaliação de ambientes é um ponto importante nesta obra proporcionando ao leitor incremento de conhecimento sobre o tema e experiências a serem replicadas. Contudo a obra não se restringe a esta temática, levando o leitor ao conhecimento de temas fisiológicos e de interação entre plantas do nível bioquímico ao fitogeográfico com inúmeras abordagens nos capítulos de espécies pouco conhecidas e estudadas no cotidiano do sistema de produção e ambientes naturais proporcionando abertura de novas fronteiras de ideias para suas pesquisas e aprendizado.

Neste sentido ressaltamos a importância desta leitura de forma a incrementar o conhecimento da aplicabilidade da botânica e para o estudo de espécies botânica ainda pouco retratadas tornando sua leitura uma abertura de fronteiras para sua mente. Boa leitura!

André Luiz Oliveira de Francisco

SUMÁRIO

EIXO I: AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Jacaratia spinosa</i> (Aubl.) A. DC. (Caricaceae) EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS COMPOSTOS COM RESÍDUOS DE CASCA DE AMÊNDOAS DE CASTANHA-DO-BRASIL	
Givanildo Sousa Gonçalves Lúcia Filgueiras Braga Letícia Queiroz de Souza Cunha	
DOI 10.22533/at.ed.5511922011	
CAPÍTULO 2	16
DESENVOLVIMENTO CAULINAR E ENRAIZAMENTO DE <i>Adenium obesum</i> (Forssk.) Roem &Schuld. SOB AÇÃO DE <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	
Dorival Bertochi de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.5511922012	
CAPÍTULO 3	24
EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO DO CHICHÁ <i>Sterculia apetala</i> (Jacq.) H.Karst. (STERCULIACEAE, MALVACEAE) EM VIVEIRO E NUM FRAGMENTO URBANO DE VEGETAÇÃO REMANESCENTE DO CERRADO, GOIÁS	
Dayane Franco Peixoto Marilda da Conceição Barros-Ribeiro Francisco Leonardo Tejerina-Garro	
DOI 10.22533/at.ed.5511922013	
CAPÍTULO 4	41
GERMINATION AND SEEDLING DEVELOPMENT OF THE GREEN FERTILIZER <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC. (FABACEAE) UNDER DIFFERENT 2,4-D CONCENTRATIONS	
Carla Caroline Amaral da Silva Dora Santos da Costa Ida Carolina Neves Direito Cristiane Pimentel Victório	
DOI 10.22533/at.ed.5511922014	
CAPÍTULO 5	53
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE GRÃOS DE PÓLEN DE MILHO-PIPOCA (<i>ZEA MAYS L. EVERTA</i>)	
Géssica Tais Zanetti Maria Heloisa Moreno Julião Leonardo de Assis Lopes Luiz Antônio Assis Lima Lívia Maria ChammaDavide Néstor Antônio HerediaZarate Alessandra Querino da Silva Tiago Almeida de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.5511922015	

CAPÍTULO 6 61

POTENCIAIS EFEITOS ALELOPÁTICOS E MUTAGÊNICOS DE *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth. EM *Allium cepa* L.

Ana Paula De Bona
Schirley Costalonga
Marcieni Ataíde de Andrade
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

DOI 10.22533/at.ed.5511922016

CAPÍTULO 7 72

QUEBRA DE DORMÊNCIA EM *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit E *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) R.D. Webster

Schirley Costalonga
Maria do Carmo Pimentel Batitucci

DOI 10.22533/at.ed.5511922017

CAPÍTULO 8 80

REGULADORES VEGETAIS E TAMANHOS DE SEMENTES NO CRESCIMENTO DE JAMBO

Juliana Pereira Santos
Lúcia Filgueiras Braga

DOI 10.22533/at.ed.5511922018

CAPÍTULO 9 98

SUBSTRATOS ORGÂNICOS NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Jacaratia spinosa* (Aubl.) A. DC. (Caricaceae)

Givanildo Sousa Gonçalves
Lúcia Filgueiras Braga
Letícia Queiroz de Souza Cunha

DOI 10.22533/at.ed.5511922019

CAPÍTULO 10 116

AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA DE EXTRATO AQUOSO DE ADUBO ORGÂNICO ADVINDO DA COMPOSTAGEM DE MATERIAL VEGETAL

Schirley Costalonga
Scheylla Tonon Nunes
Frederico Pereira Pinto

DOI 10.22533/at.ed.55119220110

EIXO II ESTUDOS TAXONÔMICOS DE PLANTAS

CAPÍTULO 11 133

ANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DO GÊNERO EUTERPE (ARECACEAE) DO BIOMA AMAZÔNICO

Luana Linhares Negreiro
Jackeline da Silva Melo
Dheyson Prates da Silva
Iselino Nogueira Jardim
Alisson Rodrigo de Souza Reis

DOI 10.22533/at.ed.55119220111

CAPÍTULO 12 135

AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA E FARMACOGNÓSTICA EM PIPER MOLLICOMUM KUNTH (PIPERACEAE)

Vinicius Magalhães Maciel de Lima
Rudá Antas Pereira
George Azevedo de Queiroz
Ulisses Carvalho de Souza
Sonia Cristina de Souza Pantoja
Anna Carina Antunes e Defaveri
Ygor Jessé Ramos dos Santos
João Carlos da Silva

DOI 10.22533/at.ed.55119220112

EIXO III AVALIAÇÃO BOTÂNICA PARA ESTUDOS DOS AMBIENTES

CAPÍTULO 13 149

AVALIAÇÃO DE UMA ÁREA DE ADEQUAÇÃO ECOLÓGICA ATRAVÉS DA OBSERVAÇÃO DA RELAÇÃO FLOR-POLINIZADOR.

Jeferson Ambrósio Gonçalves
Alexandra Aparecida Gobatto
Fabiana Carvalho de Souza

DOI 10.22533/at.ed.55119220113

CAPÍTULO 14 165

BRIOFLORA DA SERRA DA MERUOCA, CEARÁ, BRASIL

Juliana Carvalho Teixeira
Gildêne Maria Cardoso de Abreu
Maria Elizabeth Barbosa de Sousa
Hermeson Cassiano de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.55119220114

CAPÍTULO 15 176

DIAGNÓSTICO AMBIENTAL E LEVANTAMENTO FLORÍSTICO DA ILHA DAS ENXADAS – BAÍA DE GUANABARA, RIO DE JANEIRO, RJ/BRASIL

João Carlos Silva
Rafaela Borges de S. Rezende
Ramón Silva
Ygor Jessé Ramos
Luiz Gustavo Carneiro-Martins
Karen Lorena Oliveira da Silva
Sonia Cristina de Souza Pantoja

DOI 10.22533/at.ed.55119220115

CAPÍTULO 16 189

DIVERSIDADE DE BRIÓFITAS DA CACHOEIRA DO BOTA-FORA, PIRIPIRI, PIAUÍ, BRASIL

Maria Elizabeth Barbosa de Sousa
Gildene Maria Cardoso de Abreu
Maria do Socorro Grasielle Gomes
Hermeson Cassiano de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.55119220116

CAPÍTULO 17 199

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES ORNAMENTAIS A PARTIR DE LEVANTAMENTO FLORÍSTICO DE CERRADO *SENSU STRICTO* E VEREDA NO INSTITUTO FEDERAL DE BRASÍLIA – CAMPUS PLANALTINA

Marina Neves Delgado
Viviane Evangelista dos Santos Abreu
Sílvia Dias da Costa Fernandes
Gabriel Ferreira Amado
Evilásia Angelo da Silva

DOI 10.22533/at.ed.55119220117

CAPÍTULO 18 215

LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES ARBÓREAS NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DA SERRA DAS ARARAS COM POTENCIAL PARA ARBORIZAÇÃO DE PRAÇAS E AVENIDAS

Creunice Nascimento da Silva
Marcelo Leandro Feitosa de Andrade
Maria Antônia Carniello
Jessica Chaves Destacio

DOI 10.22533/at.ed.55119220118

CAPÍTULO 19 229

LEVANTAMENTO FITOSSOCIOLÓGICO DE UMA ÁREA DE FLORESTA NATIVA NO PDS VIROLA-JATOBÁ, ANAPÚ, ESTADO DO PARÁ

Kananda Maria Moraes Oliveira
Giorgio Ercides Chiarini Nogueira
Márcia Orié de Sousa Hamada

DOI 10.22533/at.ed.55119220119

CAPÍTULO 20 240

MAPEAMENTO DE ESPÉCIES INVASORAS EM TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO LOCALIZADAS NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Scheylla Tonon Nunes
Schirley Costalonga
Frederico Pereira Pinto

DOI 10.22533/at.ed.55119220120

CAPÍTULO 21 248

REGENERAÇÃO NATURAL LENHOSA E COBERTURA DO SOLO EM DUAS VEREDAS NO TRIÂNGULO MINEIRO, MG

Danúbia Magalhães Soares
André R. Terra Nascimento
Lorena Cunha Silva
Cláudio Henrique Eurípedes de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.55119220121

EIXO IV BOTÂNICA APLICADA AOS ESTUDOS SOCIOECONÔMICOS DO AMBIENTE

CAPÍTULO 22 264

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE EXTRATOS DE *Tithonia diversifolia* (Helms.) A. GRAY ORIUNDAS DE DIFERENTES LOCALIDADES

Sávio Cabral Lopes de Lima
Monique Ellen Farias Barcelos
Iransy Rodrigues Pretti
Maria do Carmo Pimentel Batitucci,

DOI 10.22533/at.ed.55119220122

CAPÍTULO 23 275

EM TERRA DE CONCRETO, QUEM TÊM JARDIM É REI: USO DO JARDIM EM ATIVIDADES DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO

Prof. Filipe Ferreira da Silveira
Caroline Tavares Passos
Graziani Curtinaz Rodrigues Schmalz
Valmir Luiz Bittencourt
Dra. Maria Cecília de Chiara Moço

DOI 10.22533/at.ed.55119220123

CAPÍTULO 24 291

ESTUDO COMPARATIVO E DINÂMICA DOS CONHECIMENTOS SOBRE PLANTAS MEDICINAIS DE ESTUDANTES DO CURSO DE EXTENSÃO DO CENTRO DE RESPONSABILIDADE SOCIOAMBIENTAL – JBRJ.

Karen Lorena Oliveira-Silva
Ygor Jessé Ramos
Jeferson Ambrósio Gonçalves
Gilberto do Carmo Oliveira
Anna Carina Antunes e Defaveri
Irene Candido Fonseca
Ulisses Carvalho de Souza
Luiz Gustavo Carneiro-Martins
Sonia Cristina de Souza Pantoja
João Carlos da Silva

DOI 10.22533/at.ed.55119220124

CAPÍTULO 25 302

ETNOBOTÂNICA HISTÓRICA COMO FERRAMENTA ESTRATÉGICA PARA CONSERVAÇÃO E APLICAÇÃO EM LEGISLAÇÃO BRASILEIRA: PLANTAS MEDICINAIS E ÚTEIS DO SÉCULO XV A XVIII

Luiz Gustavo Carneiro-Martins
Gilberto do Carmo Oliveira
Otávio Henrique Candeias
Sonia Cristina de Souza Pantoja
João Carlos Silva
Nina Claudia Barboza da Silva
Ygor Jessé Ramos

DOI 10.22533/at.ed.55119220125

CAPÍTULO 26 318

JOGO DIDÁTICO INCLUSIVO: ENSINO DE BOTÂNICA PARA DISCENTES OUVINTES, SURDOS E COM DEFICIÊNCIA AUDITIVA

Kamila da Silva Vasconcelos
Marina Neves Delgado
Sílvia Dias da Costa Fernandes

DOI 10.22533/at.ed.55119220126

CAPÍTULO 27 332

MONITORAMENTO DE BACTÉRIAS SISTÊMICAS EM ACESSOS DE CITROS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA

Henrique Castro Gama
Orlando Sampaio Passos
Cristiane de Jesus Barbosa

DOI 10.22533/at.ed.55119220127

CAPÍTULO 28 343

VALOR DE USO DE PLANTA DA FAMÍLIA ARACEAE NA REGIÃO DE MUNGUBA/PORTO GRANDE/AP

Plúcia Franciane Ataíde Rodrigues
Alessandra dos Santos Facundes
Mariana Serrão dos Santos
Adriano Castro de Brito
Luciano Araujo Pereira

DOI 10.22533/at.ed.55119220128

SOBRE O ORGANIZADOR..... 353

MONITORAMENTO DE BACTÉRIAS SISTÊMICAS EM ACESSOS DE CITROS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA

Henrique Castro Gama

Universidade Federal da Bahia, Instituto de
Biologia
Salvador – Bahia

Orlando Sampaio Passos

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária,
Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e
Fruticultura
Cruz das Almas – Bahia

Cristiane de Jesus Barbosa

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária,
Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e
Fruticultura
Cruz das Almas – Bahia

RESUMO: A citricultura configura-se como uma das atividades mais importantes para o desenvolvimento agrícola brasileiro, que lidera o *ranking* de exportação mundial. A clorose variegada dos citros (CVC), causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* Wells et al. e o *Huanglongbing* (HLB), causado pela bactéria *Candidatus Liberibacter* spp., são doenças de grande importância econômica para os citros. O objetivo desse trabalho foi indexar os acessos de citros do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura (BAG-Citros) para a presença das bactérias sistêmicas *X. fastidiosa* e *Ca. L. asiaticus*, por meio da Reação em Cadeia

da Polimerase (PCR). Para tanto, amostras foliares de acessos do BAG-Citros foram coletadas e submetidas à extração do DNA total. Para o diagnóstico molecular, amplificou-se o DNA da *X. fastidiosa* utilizando os *primers* específicos RST31 e RST33, e os *primers* LPas e RPas para amplificação da *Ca. L. asiaticus*. Após amplificação, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose de 1,5%, a 110v por 02 horas. Ao todo foram analisados 500 acessos para *X. fastidiosa* e 100 acessos para *Ca. L. asiaticus*, por meio do diagnóstico molecular, e todos foram negativos para presença de DNA de ambos agentes. Os controles positivos apresentaram os fragmentos esperados de, aproximadamente, 750pb e 960pb, respectivamente. A Embrapa é responsável pela distribuição de material propagativo de citros para todo Brasil. Dessa forma, a certificação da sanidade dos acessos do BAG-Citros é importante, contribuindo assim para a defesa fitossanitária nacional.

PALAVRAS-CHAVE: CVC, Amarelinho, HLB, *Huanglongbing*, Melhoramento Genético.

ABSTRACT: Citriculture is one of the most important activities for Brazilian agricultural development, and it is the world's leading agricultural export product. Citrus variegated chlorosis (CVC), caused by the bacterium *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* Wells et al. and

Huanglongbing (HLB), caused by the bacterium *Candidatus Liberibacter* spp., are diseases of great economic importance for citrus. This work aims to index the citrus accesses of the Active Germplasm Bank from Embrapa Mandioca e Fruticultura (BAG-Citros) for the presence of the systemic bacteria *X. fastidiosa* and *Ca. L. asiaticus* by means of the Polymerase Chain Reaction (PCR). To achieve this, leaf samples of BAG-Citros accessions were collected and submitted to total DNA extraction. For molecular diagnosis, *X. fastidiosa* DNA was amplified using the specific primers RST31 and RST33, and primers LPas and RPas for amplification of *Ca. L. asiaticus*. After amplification, the samples were submitted to 1.5% agarose gel electrophoresis, at 110v for 2 hours. 500 accessions of *X. fastidiosa* and 100 accessions of *Ca. L. asiaticus* were analyzed through molecular diagnosis, and all the results were negative for the presence of DNA from both agents. Positive controls showed the expected fragments of approximately 750bp and 960bp, respectively. Embrapa is responsible for the distribution of citrus propagating material throughout Brazil. Thus, certificating the welfare of the accesses of BAG-Citros is important to the contribution of national phytosanitary defense.

KEYWORDS: CVC, Amarelinho, HLB, *Huanglongbing*, Genetic Enhancement.

1 | INTRODUÇÃO

A citricultura é uma das atividades mais importantes para o potencial crescimento do mercado agrícola brasileiro, que lidera o *ranking* de exportação mundial de citros. No contexto de produção nacional, o Estado de São Paulo configura-se como o maior polo de produção cítrica do Brasil, seguido pelos estados de Minas Gerais, Paraná e Bahia (IBGE, 2017).

Porém, a cultura dos citros enfrenta grandes problemas fitossanitários em decorrência da disseminação de doenças e pragas que afetam pomares comerciais. Dentre as principais doenças que limitam a produção e comercialização de frutos de citros no Brasil, destacam-se a Clorose Variegada dos Citros (CVC) e o *Huanglongbing* (HLB), causadas por bactérias sistêmicas (BARBOSA et al., 2014).

A Clorose Variegada dos Citros (CVC), também conhecida como amarelinho, é causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* (Wells et al.), bactéria gram-negativa do tipo bastonete, restrita ao xilema vegetal. Os principais sintomas apresentados pelas plantas infectadas com a CVC incluem a presença de manchas cloróticas esparsas, localizadas próximas às bordas da face adaxial de folhas maduras da copa (**figura 01A**), lesões de cor palha, muitas vezes necrosadas são manifestadas na face abaxial foliar (**figura 01B**). Os frutos são suscetíveis à queimadura provocada pelo sol, manifestando manchas (**figura 01C**), além de apresentarem rigidez e redução de tamanho, inviabilizando o seu comércio (**figura 01D**) (SANTOS FILHO et al., 2010; ROSSETTI & DE NEGRI, 2011).

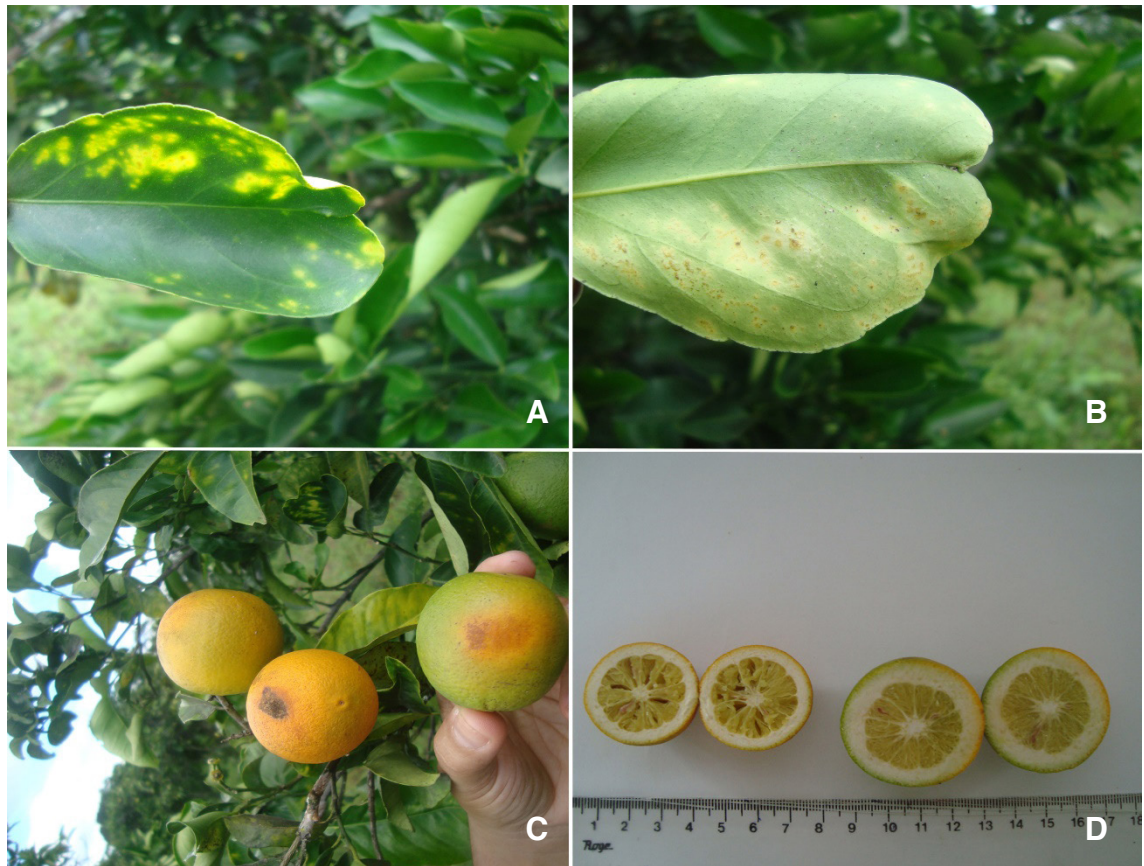


Figura 01. Sintomas apresentados por plantas infectadas com Clorose Variiegada dos Citros. **A.** Manchas cloróticas localizadas na borda da face adaxial foliar **B.** Lesões de cor palha na face abaxial **C.** Frutos apresentando queimadura causada por exposição ao sol e **D.** Rigidez e redução de tamanho dos frutos. Fonte: Cristiane de Jesus Barbosa, Embrapa Mandioca e Fruticultura (**figura 02A e 02B**); Hermes Peixoto Santos Filho, Embrapa Mandioca e Fruticultura (**figura 02C e 02D**).

A CVC pode ser transmitida por 12 espécies de cigarrinhas (Cicadellidae, Hemiptera), e por meio de material propagativo, como mudas e borbulhas, infectado (FUNDECITRUS, 2007). O manejo da doença envolve a utilização de mudas saudáveis e certificadas, cuja segurança das plantas matrizes deve ser levada em conta, com a utilização de telas antiáfidas. Além disso, a erradicação ou eliminação de plantas afetadas e a poda dos ramos afetados contribui para o manejo da CVC. O controle vetorial é mediado pelo monitoramento de espécies de cigarrinhas com histórico de transmissão e por controle químico, com a utilização de inseticidas sistêmicos, via tronco, em plantas novas (YAMAMOTO *et al.*, 2002; SANTOS FILHO *et al.*, 2010).

Comumente chamado de *greening* dos citros, o HLB tem como agente causal, no Brasil, as espécies bacterianas gram-negativas *Candidatus Liberibacter asiaticus*, com maior prevalência, e *Ca. L. americanus* (TEIXEIRA *et al.*, 2010). Considerada a doença mais importante e destrutiva para a produção mundial de citros, foi registrada no estado de São Paulo em 2004 (COLETTA-FILHO *et al.*, 2004), configurando-se como a principal ameaça fitossanitária aos pomares citrícolas de estados que possuem o *status* de área livre da doença.

A transmissão do agente causal do HLB é mediada pelo psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), e por meio de material propagativo infectado

(BOVÉ, 2006). Os sintomas apresentados pelas plantas infectadas com HLB incluem ramos com coloração amarelada, contrastando com a coloração esperada em ramos saudáveis (**figura 02A**), folhas com manchas irregulares esverdeadas ou amareladas (**figura 02B**), não amadurecimento dos frutos, permanecendo com a coloração verde e apresentando manchas (**figura 02D**). Além disso, os frutos iniciam sua maturação pelo pedúnculo, fornecendo ao fruto assimetria (**figura 02C**) (FUNDECITRUS, 2009). Dentre as espécies de *Citrus* cultivadas no Brasil, a laranja doce (*C. sinensis*), apresenta maior sensibilidade frente à infecção por *Ca. L. asiaticus*, levando sempre a morte da planta (FOLIMONOVA et al., 2009).

O manejo do HLB envolve inspeções frequentes em pomares comerciais de citros, aquisição de mudas saudáveis e certificadas. Além disso, a erradicação de árvores contaminadas, bem como a eliminação de plantas de murta (hospedeira do psílido e da bactéria), contribuem para o manejo da doença. O controle vetorial é baseado no monitoramento de adultos e ninfas em plantações de citros, uso de armadilhas adesivas amarelas ou verdes, além do controle químico, por meio de inseticidas em pulverização e sistêmicos, permitem o manejo adequado da doença (FUNDECITRUS, 2009).

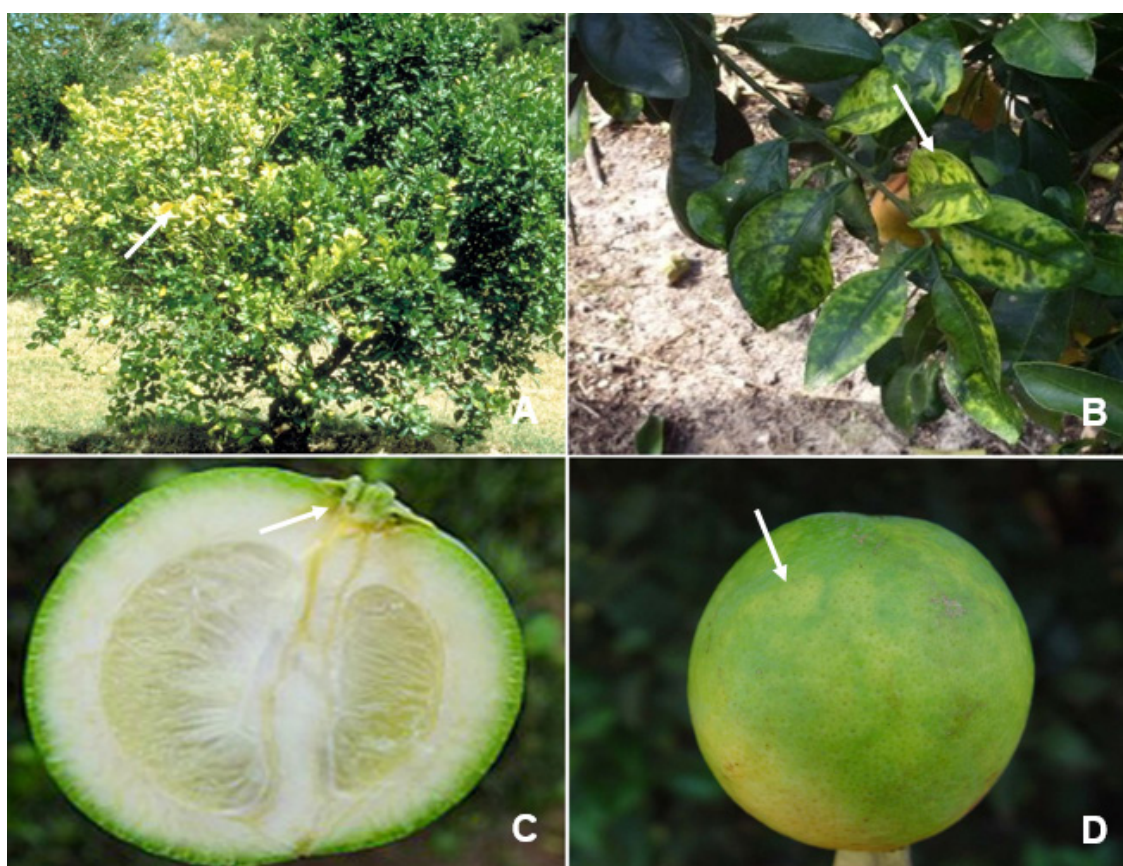


Figura 02. Sintomas apresentados por plantas infectadas com *Huanglongbing*. **A.** Ramos com coloração irregular **B.** Folhas com manchas irregulares (mosqueadas) **C.** Fruto assimétrico com maturação peduncular **D.** Fruto verde com presença de manchas. Fonte: Francisco Ferraz Laranjeira, Embrapa Mandioca e Fruticultura (**figura 02A, 02C e 02D**); Sueli Xavier de Brito Silva, Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (**figura 02B**).

O Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura

possui um papel fundamental para a cadeia de produção dos citros, com a distribuição de material propagativo de citros (mudas e borbulhas) para todas as regiões do Brasil (PASSOS et al., 2007). Dessa forma, a sanidade do material vegetal que é disponibilizado deve ser garantida.

O objetivo desse trabalho foi indexar os acessos de citros do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa para a presença de *X. fastidiosa* e *Ca. L. asiaticus*, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do campo avançado da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizado no Centro Tecnológico Agropecuário da Bahia (CETAB), em parceria com a Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB).

2.1 Extração de DNA total

Amostras foliares de plantas de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura foram submetidas à extração do DNA total, com base no protocolo de extração de DNA de bactérias no tecido vegetal idealizado por Dellaporta e colaboradores (1983).

Amostras foliares foram seccionadas, maceradas com nitrogênio líquido, e submetidas ao tampão de extração (Tris-HCl a 100mM, EDTA a 50mM, NaCl a 200mM, SDS a 1,32%, β -mercaptoetanol a 0,2% e H₂O milli-Q). Em seguida, as amostras foram incubadas em banho-maria a 65°C por 20 minutos, com agitação em vortex a cada 5 minutos. Após incubação, foi adicionado acetato de potássio 5M, agitado em vortex por 1 minuto, incubado a -20°C por 10 minutos, e centrifugado a 5.000 RPM por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e adicionado a ele Clorofórmio:álcool Iso-amílico (24:1), com centrifugação a 10.000 RPM por 10 minutos. A coleta do sobrenadante foi realizada, acompanhada de uma precipitação final em álcool isopropílico, centrifugação por 10 minutos a 14.000 RPM, e ressuspensão com tampão TE (Tris-HCl a 10mM e EDTA a 1mM). As amostras foram quantificadas a partir do espectrofotômetro L-Quant® da Locus Biotecnologia.

2.2 Diagnóstico Molecular

Amostras de DNA foram amplificadas a partir da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), com os *primers* específicos RST31 (5'-GCGTTAATTTTCGAAGTGATTTCGATTGC-3') e RST33 (5'-CACCATTCGTATCCCGGTG- 3') para amplificação do DNA da *X. fastidiosa* (MINSAVAGE et al., 1994), e LPas (5'-TGGTGATAGGGTGGATTTAG-3') e RPas (5'-CAACCTCGAAGAAAACAGAC-3') para amplificação da *Ca. L. asiaticus* (COLETTA-

FILHO et al., 2010). A PCR foi realizada em volume final de 15 μ L com o preparo de um *mix* contendo tampão de amplificação Tris/KCl-1X, dNTP a 0.1mM, MgCl₂ a 2.5mM, 1U de Taq DNA polimerase, *primers* a 0.4 μ L, e 25ng de DNA total extraído por amostra.

Nos ciclos de reação para *X. fastidiosa*, a desnaturação ocorreu a 94°C inicialmente por 3 minutos, e em 35 ciclos com duração de 30 segundos. A temperatura utilizada para o anelamento foi de 55°C em 35 ciclos com duração de 30 segundos cada. A extensão ocorreu a 72°C em 35 ciclos de 45 segundos, finalizando com 5 minutos. Os ciclos para *Ca. L. asiaticus* envolveram uma desnaturação inicial de 3 minutos a 94°C e 35 ciclos de 30 segundos. O anelamento foi realizado em 35 ciclos de 45 segundos a 60°C. A temperatura utilizada para extensão foi de 72°C durante 35 ciclos de 50 segundos, finalizando em 10 minutos. Após a amplificação, as amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose de 1.5%, utilizando Tampão TBE 1x, coloração com brometo de etídio, a 110v por 02 horas.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acessos de laranja doce (*Citrus sinensis*), híbridos de tangerina, trifoliatas e seus híbridos, pomelo (*C. paradisi*), lima ácida Tahiti (*C. latifolia*), limão cravo (*C. limonia*), tangerinas (*C. reticulata*), limão verdadeiro (*C. limon*), limão rugoso (*C. jambhiri*), mexerica (*C. deliciosa*), limão galego (*C. aurantiifolia*), laranja azeda (*C. aurantium*), e acessos de outras espécies de *Citrus* e gêneros relacionados foram indexados para ausência das bactérias sistêmicas *X. fastidiosa* e *Ca. L. asiaticus* (**tabela 01**).

Espécies de <i>Citrus</i> e gêneros relacionados	Variedades	Nº de acessos analisados
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Pera (40), Russas (15), Hamlin (9), Lima (18), C. sinensis PI (9), Sanguinea (9), Natal (6), Flor (7), Doce (6), Comuna (5), Seleta (3), Champanhe (1), Torocco (1), Torregrosso (1), Westin (1), Watupka (1), Washington (1), Valencia (1), Vaccaro (1), Telde (1), Sunstar (3), Sukkari (1), Strand (1), Sincorá (1), Shamouti (1), Serra D'água (1), Salustiana (1), Pineapple (1), Piralima (1), Rico (1), Rotuma (1), Rubi (1), Parson (1), Parent (1), Orama (1), Olivelihoods (1), Navelina (2), Navelate (1), Navel (2), Midsweet (1), Melrosa (1), Mediterrânea (1), Marrs (1), Lue Gim Gong (1), Leng (1), Laranja (3), Lane Late (2), Lamb Summer (1), Khalily (1), Kavatta (2), Jaraguá (1), Jaffa (1), Isle of Pines (1), Imperial (2), Ilhoa (1), Havard (1), Hashimoto (2), Fuya (1), Goden (1), Gardner (1), Fisher (1), Finiki (1), Espanhole (1), Dom João (1), Doble Fina (1), Crescent Sweet (1), Cara Cara (1), Campista (1), Caipira (3)	200
<i>C. aurantium</i> L.	Narrow (1), Willow (1), Zhuluan (1), Smooth (1)	4
<i>C. reticulata</i> Blanco	Span (1), Swatow (1), Fortune (1), Ponkan (3), Tangerina (2), Reticulata (2), Encore (1), Fairchild (1), Richards (1), Ponican (1)	14
<i>C. paradisi</i> Marcf.	Pomelo (34), Davis Seedless (1), Wheeny (1), Shambar (1)	37
<i>C. latifolia</i> Tanaka	Lagoa Grande (1), Tahiti (26)	27
<i>C. limon</i> (L.) Burm. f.	Lisboa Tetraploide (1), Frost (2), DCG (1), Eureka (3), Limão (3), Malay (1), Siciliano (1), Strong (1)	13
<i>C. limetta</i> Risso	Cravo x Trifoliata (1)	1
<i>C. deliciosa</i> Ten.	Sun Chu Sha (1), Sinzikon (2), Mexerica (4), Tuá (1)	8
<i>C. jambhiri</i> Lush.	Rugoso (10)	10
<i>C. clementina</i> hort. ex Tanaka	PI (1)	1
<i>C. limonia</i> Osbeck	Comum (16), Cravo (6)	22
<i>C. unshiu</i> Marcow.	Satsuma (2), C. Unshiu PI (2)	4
<i>C. volkameriana</i> V. Ten. & Pasq.	Limão Volkameriano (1), Volkameriano (2)	3
<i>C. sunki</i> hort. ex Tanaka	Sun Kat (1)	1
<i>C. reshni</i> hort. ex Tanaka	Cleópatra (1)	1

<i>C. aurantiifloia</i> (Christm.) Swingle	Galego (5)	5
<i>C. myrtifolia</i> Raf.	Chinotto (1)	1
<i>C. depressa</i> Hay.	Shekwasha (1)	1
<i>C. medica</i> L.	Cidra (4)	4
<i>C. yatsushiro</i> hort. ex Tan.	Yatsushiro (2)	2
<i>C. tachibana</i> (Mak.) Tan.	Tachibana 809 (1)	1
<i>C. taiwanica</i> Tan. et Shim.	Taiwanica (1)	1
<i>C. tankan</i> Hay.	Tankan (2)	2
<i>C. oleocarpa</i> hort. ex Tan.	Tim Kat (1)	1
<i>C. webberi</i> Wester	Webberi (1)	1
<i>C. tamurana</i> hort. ex Tan.	Tamurana (1)	1
<i>C. pennivesiculata</i> Tanaka	Pennivesiculata (1)	1
<i>C. grandis</i> (L.) Osbeck	Toranja (9)	9
<i>Citrus</i> spp.	Wart Jana (1), Spp B-4 (1)	2
<i>Fortunella</i> spp.	Gindan (1), Centenária Ba (1), Kumquat (2)	4
<i>Fraustrine</i> spp.	Faustrine 71.137 (1)	1
<i>Microcitrus</i> spp.	Microcitrus (1)	1
<i>Eremocitrus glauca</i> (Lindl.) Burkill	Eremocitrus (1)	1
<i>Severinia buxifolia</i> (Poir.) Ten.	Severinia buxifolia (1)	1
Híbridos de tangerina	Tangelo (14) Tangor (2), Tanjaroa (2), Murcott (6), Lee (1), Minneola (1), Kinnow (2), King x Dancy (4), King (1), Jaboti (1), Fremont (1), Falglo (1), Changsha x Eng. Trif. (1), Nova (2), Orlando (1), Ortanique (3), Page (1), Piemonte (1), Robinson (1), Sunburst (1), Sunki (4), Cleópatra x Sw (7), Cleópatra x Trif. (3), Cleópatra x Rubidoux (1), Dancey CRC (1), Sunki x English (2), Sunki x Swingle (1), Wilking (1)	67
Trifoliatas e híbridos	Swingle (2), Sacaton (1), Troyer (1), Citrange (15), Citromelo (8), Thomas Ville (1), Trifoliata (19)	47

Tabela 01. Espécies e Variedades do Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa indexadas para os agentes causais da Clorose Variegada dos Citros e *Huanglongbing*.

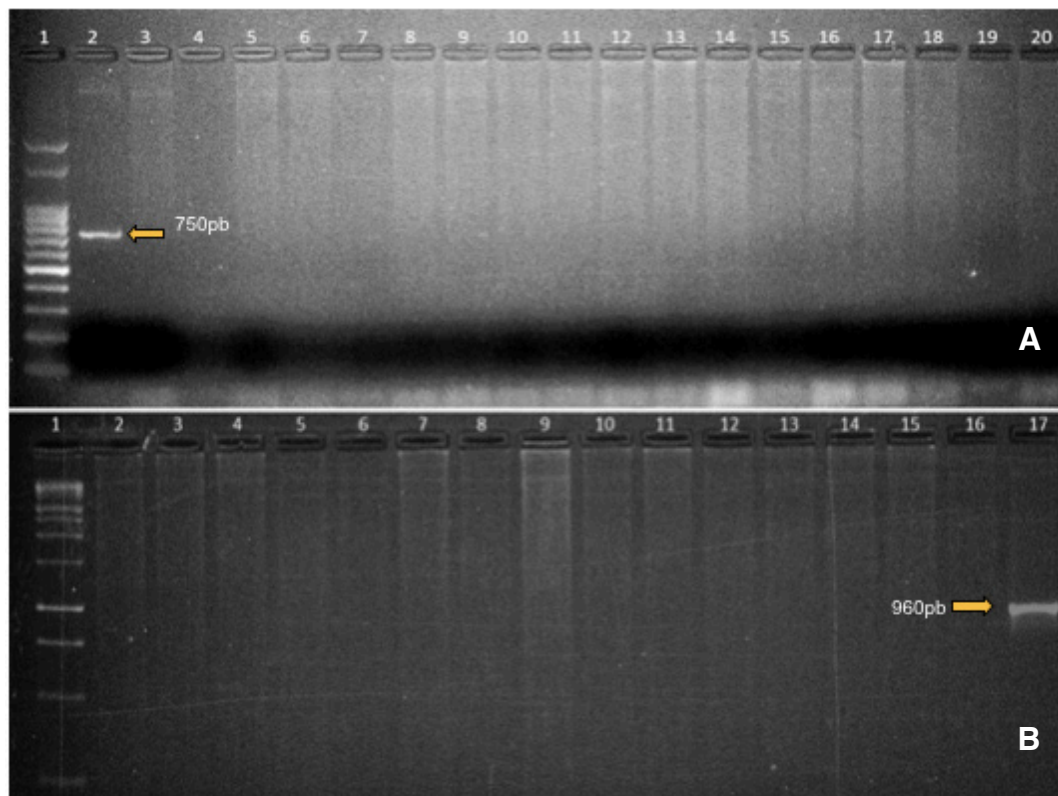


Figura 03 A. Gel de agarose 1.5% mostrando os produtos de amplificação do DNA total obtido de amostras de acessos de citros, utilizando os *primers* RST31 e RST33 1: Marcador de peso molecular de 100pb 2: Controle positivo, com fragmento esperado de, aproximadamente, 750pb 3: Controle negativo 4: Água 5-19: Amostras analisadas **B**. Gel de agarose 1.5% mostrando os produtos de amplificação do DNA total obtido de amostras de acessos de citros, utilizando os *primers* LPas e Rpas 1: Marcador de peso molecular de 1000pb 2: Controle negativo 3: Água 4-16: Amostras analisadas 17: Controle positivo, com fragmento esperado de, aproximadamente, 960pb.

Ao todo foram analisados 500 acessos de citros para *X. fastidiosa* e 100 acessos de *C. sinensis* para *Ca. L. asiaticus*, por meio do diagnóstico molecular, e todos foram negativos para presença de DNA de ambos os agentes. Os controles positivos de *X. fastidiosa* apresentaram fragmentos esperados de, aproximadamente, 750 pares de base (pb) (**figura 03A**). Os controles positivos para *Ca. L. asiaticus*, apresentaram fragmentos esperados de, aproximadamente, 960pb (**figura 03B**).

4 | CONCLUSÃO

O monitoramento de bactérias sistêmicas, agentes do *Huanglongbing* e Clorose Variegada dos Citros, em acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Citros, garante a sanidade vegetal do material propagativo de citros que é distribuído pela Embrapa Mandioca e Fruticultura para todas as regiões do Brasil. Dessa forma, fornecer o *status* de acessos sabidamente sadios ao BAG-Citros contribui para o manejo das doenças em campo, favorecendo a redução da disseminação de doenças nos pomares comerciais, além de assegurar a qualidade da produção citrícola regional e nacional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio nas análises moleculares fornecido pelo Técnico Químico da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Epaminondas do Patrocínio, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, pelo financiamento da bolsa para o desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, C. J.; RORIZ, A. K. P.; SILVA, S. X. B.; BARBOSA, L. V. **Pragas Quarentenárias A1 e A2 da Citricultura Baiana**. Comunicado Técnico 156, p. 01-07, 2014.

BOVÉ, J. M. **Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus**. Journal of Plant Pathology, v. 88, p. 7-37, 2006.

COLETTA-FILHO, H. D.; CARLOS, E. F.; LOTTO, L. L.; LUCIANE, F. C.; ALVES, K. C. S.; PEREIRA, M. A. R.; MACHADO, M. A. **Prevalence of *Candidatus Liberibacter* spp. in HLB-diseased Citrus Plants in São Paulo State, Brazil**. Proceedings, 17th Conference, International Organization of Citrus Virologists – Insect-Transmitted Prokaryotes, p. 110-115, 2010.

COLETTA-FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; DE NEGRI, J. D.; POMPEU Jr. J.; AMARAL, A. M.; MULLER, G. W.; MACHADO, M. A. **First report of the causal agent of huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil**. Plant Disease, v. 88, p. 1382, 2004.

DELLAPORTA S. L.; WOOD J.; HICKS, J. B. **A plant DNA minipreparation: version II**. Plant Molecular Biology. Reporter, v. 1 p. 19-21, 1983.

FOLIMONOVA, S. Y.; ROBERTSON, C. J.; GARNSEY, S. M.; GOWDA, S.; DAWSON, W. O. **Examination of the responses of different genotypes of Citrus to Huanglongbing (Citrus Greening) under different Conditions**. Phytopathology, v.99, p. 1347-1354, 2009.

FUNDECITRUS. **Manual técnico - Greening**. 2009. 12p. Disponível em:< http://www.citrusbr.com/manuaistecnicos/fundecitrus_greening.pdf>. Acesso em: 10 set. 2017.

FUNDECITRUS. **Manual técnico da CVC**. 2007. 12p. Disponível em: < http://www.citrusbr.com/manuaistecnicos/fundecitrus_cvc.pdf>. Acesso em: 25 set. 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, IBGE. 2017. Disponível em: < <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/resultados-censo-agro-2017.html>> Acesso em: 05 ago. 2018.

MINSAVAGE, G. V.; THOMPSON, C. M.; HOPKINS, D. L.; LEITE, R. M. V. B.; STALL, R.E. **Development of a Polymerase Chain Reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue**. Phytopathology. v.84, p. 456-461, 1994.

PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. S.; SOBRINHO, A. P. C.; SOUZA, A. S.; SANTOS, L. C.; PEIXOUTO, L. S. **Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical: Passado, Presente e Futuro**. Documentos 163, p. 01-61, 2007.

ROSSETTI, V.; DE NEGRI, J. D. **Clorose Variegada dos Citros - Revisão**. Citrus Research & Technology, Cordeirópolis.v. 32, p. 61-66, 2011.

TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; LOPES, S. A.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; SPÓSITO, M. B.;

BELASQUE JÚNIOR, J.; BASSANEZI, R. B. **Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao *huanglongbing***. Citrus Research & Technology, Cordeirópolis, v31, p. 115-128, 2010.

YAMAMOTO, P. T.; ROBERTO, S. R.; PIRA JÚNIOR, W. D.; FELIPPE, M. R.; FREITAS, E. P. **Espécies e flutuação populacional de cigarrinhas em viveiro de citros, no município de Mogi-Guaçu-SP**. Revista Brasileira de Fruticultura. v.24, p. 389-394, 2002.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-055-1



9 788572 470551