

## IRRADIAÇÃO DE BORBULHAS VISANDO A OBTENÇÃO DE RESISTÊNCIA AO CANCRO CÍTRICO POR INDUÇÃO DE MUTAÇÃO

Menten, J.O.M. <sup>1/</sup>  
Pompeu Júnior, J. <sup>2/</sup>  
Dragone, P. <sup>3/</sup>  
Sobrinho, J.T. <sup>2/</sup>  
Prada, V.A. <sup>3/</sup>  
Tulmann Neto, A. <sup>4/</sup>  
Ando, A. <sup>5/</sup>

RESUMO - Com o objetivo de induzir mutação visando resistência ao agente causal do cancro cítrico, iniciou-se uma pesquisa cujas etapas iniciais são discutidas. Para se determinar a radiosensibilidade a raios gama de borbulhas de laranja Pera, borbulhas foram irradiadas com várias doses e enxertadas em cavalos de limão Cravo. Analisando-se a porcentagem de pegamento e o desenvolvimento das ramificações  $V_1$  provenientes destas borbulhas, concluiu-se que a dose de 4,0 kR deveria ser utilizada. Com esta dose, novas borbulhas foram irradiadas e enxertadas. Os ramos  $V_1$ , originados destas borbulhas, foram divididos em 3 grupos, de acordo com a posição das gemas ao longo do ramo. O grupo I consistiu de 1ª e 2ª gemas a partir da base do ramo  $V_1$ ; o grupo II da 3ª e 4ª gemas; e o grupo III, da 5ª e 6ª gemas. Os ramos  $V_2$ , provenientes destes grupos, foram analisados quanto às alterações morfológicas produzidas pela irradiação. Observou-se que quanto mais distante da base do ramo  $V_1$ , maior foi a frequência destas alterações. Baseando-se neste resultado, recomenda-se para trabalhos futuros, a utilização das gemas 5 e 6, onde se pode obter maior frequência de mutação. Borbulhas dos ramos  $V_2$  estão sendo enxertadas em viveiros e as mudas deverão ser posteriormente levadas para a Estação Experimental de Presidente Prudente, onde será feita a seleção visando-se a obtenção de mutantes resistentes ao cancro cítrico.

---

<sup>1/</sup> Bolsista do CNPq, Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA). Piracicaba, SP.

<sup>2/</sup> Bolsista do CNPq, Instituto Agronômico, Seção de Citricultura. Campinas, SP.

<sup>3/</sup> Instituto Agronômico, Seção de Citricultura. Campinas, SP.

<sup>4/</sup> Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA). Piracicaba, SP.

<sup>5/</sup> Bolsista do CNPq, Departamento de Genética da ESALQ, USP e CENA. Piracicaba, SP.

## BUD IRRADIATION TO OBTAIN RESISTANCE TO CITRUS CANKER THROUGH INDUCTION OF MUTATION

ABSTRACT - Research work is being carried out in an attempt to induce mutation for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, the causal organism of citrus canker. The radiosensitivity to gamma rays of the bud of the orange cultivar Pera was determined through irradiation of buds with several doses; the irradiated buds were grafted onto rootstocks of lemon cv. Cravo. The grafting percentage and the development of the V<sub>1</sub> stem from the irradiated buds were analysed; it was concluded that the best dose for induction of mutation is 4,0 kR. New buds were irradiated and grafted with this dose. The V<sub>1</sub> stems were separated into 3 groups, according to the position of the buds on the stem. Group I consisted of the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> buds from the base of the V<sub>1</sub> stem; group II, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> buds; and group III, 5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> buds. The V<sub>2</sub> stems were analysed according to the morphological alterations due to irradiation. It was observed that buds most distant from the base of the V<sub>1</sub> stem showed the highest alterations frequency. From these data, it is recommended to utilise buds number 5 and 6 on the V<sub>1</sub> stem to obtain the highest mutations frequency. Buds for the V<sub>2</sub> stem are being grafted and the plants will be planted at the Experimental Station of Presidente Prudente, where selection for disease resistance will be done.

### INTRODUÇÃO

Os dados da safra de 1981/82 revelaram que o Brasil passou a ser maior produtor mundial de laranjas, colhendo 235 milhões de caixas contra 185 milhões dos EUA, assumindo também a liderança mundial na produção de sucos (570 mil toneladas contra 480 mil dos EUA) (CITRUS 1982). No Brasil, São Paulo é o maior Estado produtor e, entre os vários problemas de doenças e pragas, cita-se que a mais séria ameaça continua sendo o cancro cítrico, presente também no Paraná e Mato Grosso (AMARO 1982). A erradicação, que consiste na eliminação de plantas hospedeiras contaminadas e suspeitas, é o método mais efetivo do controle à doença, devido à ausência, até o momento, de métodos de controle eficientes, que utilizem produtos defensivos ou variedades comerciais de citros resistentes ou imunes (FEICHTENBERGER 1982).

Ao mesmo tempo em que se realizam pesquisas utilizando-se a variabilidade natural para seleção de fontes de resistência (FEICHTENBERGER 1982), citam-se trabalhos (MALAVOLTA Jr., et alii 1982; TULMANN NETO et alii 1982) objetivando-se conseguir mutantes induzidos resistentes em laranja Pera. Pesquisas com indução de mutação com o mesmo objetivo vêm sendo realizadas na Argentina

(ZUBRZYCKI & DIAMANTE DE ZUBRZYCKI 1982) e os autores concluíram que a solução do problema através do uso de mutação parece ser promissora, pois, quatro materiais mais resistentes que o controle foram selecionados, sendo um deles obtido espontaneamente e os outros induzidos por raios-X.

Devido a situação exposta, a Seção de Citricultura do IAC, Estação Experimental de Limeira, Instituto Biológico de São Paulo e a Seção de Radiogenética do CENA, iniciaram trabalhos visando obtenção de resistência a *Xanthomonas campestris* pv *citri*, agente causal do cancro cítrico, através de indução de mutações. Para isto, vários aspectos foram considerados, tais como escolha do material a ser tratado, tipo de mutagênico, dose, etc.. O tratamento em citros pode ser feito a partir de vários materiais, tais como sementes, borbulhas, rólens e plântulas (KUKIMURA et alii 1976; SPIEGEL-ROY & KOCHBA 1972). Se estruturas multicelulares, tais como sementes ou borbulhas, forem tratadas com radiações, por exemplo, caso ocorra uma mutação em uma das células, haverá uma situação de quimerismo. Existem vários métodos que podem permitir que este quimerismo não se manifeste no mutante induzido. TULMANN NETO et alii (1983) discutem por exemplo, o uso de plântulas decapitadas, que é um destes métodos. Em trabalhos com plantas de propagação vegetativa, um material muito utilizado, para tratamento com mutagênicos, são borbulhas que, sendo estruturas multicelulares, irão produzir o quimerismo citado anteriormente. Tais quimeras podem ser do tipo mericlinal, periclinal ou setorial, dependendo da posição da célula mutada no interior da borbulha (BROERTJES & VAN HARTEN 1978a). Por isto, DONINI (1977) considera que a indução de mutação somática pode não representar um problema, mas as dificuldades podem aparecer no momento de se isolar tal mutação, diante do quimerismo presente. Para que se possa fazer tal isolamento, tanto é importante a escolha da dose de radiação como a metodologia a ser utilizada. É importante obter-se altas frequências de mutações e, tanto quanto possível, grandes setores mericlinais. Estes setores mericlinais podem produzir clones periclinais homogêneos e estáveis, através de tratamentos adequados (BROERTJES & VAN HARTEN 1978b). Estes tratamentos são conhecidos como de "cutting back" ou podas repetidas, como será aqui traduzido. O método das podas repetidas tem sido aplicado com sucesso em frutíferas, permitindo a obtenção de mutantes para uma série de características. Isto porque quando se irradiam borbulhas, como já explicado, poderia haver ocorrência de pequenos setores mutados. Tais setores poderiam ser difíceis de serem detectados por causa de seu pequeno tamanho ou porque poderiam não participar no futuro crescimento da planta (DONINI 1977). Quando se aplica uma ou mais podas em um ramo originário de uma borbulha tratada ( $V_1$ ), no novo ramo obtido ( $V_2$ ) existe a possibilidade de manifestação da mutação induzida, permitindo o seu isolamento e multiplicação.

No trabalho de indução de mutação visando resistência ao cancro cítrico,

decidiu-se que um dos métodos a serem utilizados seria o de irradiação, com raios gama, de borbulhas axilares da cultivar Pera, aplicando-se o método das podas repetidas. Para que tal método pudesse ser utilizado da maneira mais eficientemente possível, havia a necessidade de escolher a dose de irradiação a ser utilizada. Além disso, procurava-se saber quais das gemas obtidas na ramificação  $V_1$ , originária do tratamento das borbulhas, deveriam ser utilizadas para a detecção dos possíveis mutantes.

O presente trabalho teve por objetivo o estabelecimento da dose de raios gama a ser utilizada, bem como a identificação da melhor posição das gemas nos ramos  $V_1$  para a aplicação do método das podas repetidas, visando-se obtenção de resistência ao cancro cítrico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os tratamentos foram feitos com raios gama provenientes da fonte de  $^{60}\text{Co}$  do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, SP. Foram tratados feixes com borbulhas da cultivar Pera, sendo esta cultivar escolhida por apresentar boas qualidades para consumo *in natura* e para industrialização. Feixes com ramos novos, recém-colhidos, de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasmas do IAC, na Estação Experimental de Limeira, foram levados ao CINA e colocados na fonte de  $^{60}\text{Co}$ . A irradiação foi feita utilizando-se as fontes pares, com a taxa de dose de 113,7 kR/hora e o diâmetro dos tubos na fonte foi de 60 cm. As borbulhas irradiadas foram enxertadas em porta-enxerto de Limão Cravo, na Estação Experimental de Limeira.

### *Determinação da radiosensibilidade*

Para a escolha da dose definitiva a ser aplicada no experimento, realizou-se um experimento preliminar, irradiando-se borbulhas, segundo o método descrito, com 3,0; 4,5; 6,0; 7,5 e 9,0 kR. As borbulhas irradiadas e as testemunhas, não irradiadas, foram enxertadas no dia seguinte na Estação Experimental de Limeira. Foram utilizadas 50 borbulhas para cada tratamento, tendo sido enxertadas duas borbulhas em cada porta-enxerto.

A avaliação dos efeitos da radiação sobre as borbulhas foi feita pela comparação do pegamento da enxertia, exame visual e pela medida do comprimento da nova ramificação proveniente da borbulha irradiada (denominada  $V_1$ ), escolhendo-se a mais desenvolvida em cada porta-enxerto.

### *O método das podas repetidas*

Para esta etapa do trabalho, foi feita nova irradiação, seguindo-se tam

bem a metodologia descrita no início. Desta vez, vários feixes de ramos novos foram irradiados com a dose de 4,0 kR, determinada de acordo com o item anterior. Cerca de 2.297 borbulhas irradiadas, mais o controle (103 borbulhas), foram enxertadas no campo. Nas ramificações  $V_1$ , originadas de borbulhas irradiadas, foram feitas várias observações, tais como comprimento aos 125 dias, anomalias morfológicas, etc.. Como o objetivo do trabalho era o de se verificar quais das borbulhas da brotação  $V_1$  apresentaram maior número de mutações morfológicas após a poda, resolveu-se dividir o material em três grupos. O primeiro grupo consistiu-se em fazer a poda no ramo  $V_1$ , de tal forma que se deixassem apenas as duas primeiras gemas, a partir da enxertia. No segundo grupo, fez-se a poda no ramo  $V_1$ , de tal forma que se deixassem a terceira e quarta gemas, a partir da enxertia, para posterior desenvolvimento. Neste caso, a 1ª e 2ª gemas foram eliminadas através de canivete. No terceiro grupo, fez-se a poda no ramo  $V_1$ , tal que se deixassem a quinta e sexta gemas, a partir da enxertia, para posterior desenvolvimento. Neste caso, a 1ª, 2ª, 3ª e 4ª gemas do ramo  $V_1$  foram eliminadas através de canivete. O mesmo procedimento foi aplicado em ramificações provenientes do controle, não irradiado. Depois desta primeira poda, as plantas continuaram o seu desenvolvimento. As novas ramificações, provenientes das gemas remanescentes após as podas, foram denominadas de  $V_2$ . As ramificações  $V_2$  dos três grupos de tratamento foram observadas em relação às alterações morfológicas nas folhas, hastes, internódios e espinho. Quanto às folhas, observou-se tipos diferentes, alongados, mais espessos, mais largos, retorcidos, duplos e de coloração diferente. As hastes foram analisadas quanto ao retorcimento, bifurcação ou haste dupla, e os internódios e os espinhos, quanto ao comprimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Determinação da radiosensitividade*

Os dados de pegamento das enxertias e a altura média da brotação  $V_1$ , aos 104 dias após a irradiação, encontram-se na TABELA 1, mostrando-se os dados reais e os dados transformados, considerando-se a testemunha não irradiada como igual a 100,0.

Pode-se observar que, de modo geral, quanto maior a dose de raios gama, maior o decréscimo no pegamento das enxertias e na altura média de  $V_1$ . Estes fatos já eram esperados, constituindo-se em parâmetros utilizados para a escolha da dose a ser utilizada (BROETJES 1979). Já é fato bem estabelecido que, dentro de certos limites, quanto maior a dose de radiação, maior a frequência de mutação. Embora à primeira vista fosse interessante escolher-se altas doses, esta talvez não seja a melhor alternativa. Isto porque haveria o risco da ocorrên

cia de mutações múltiplas indesejáveis (HANSEL 1966). Em plantas de propagação sexual, de ciclo curto, este problema ainda poderia ser resolvido eliminando-se tais mutações através de cruzamentos. Mas para plantas de propagação assexuada, ou de ciclo longo como as frutíferas, isto não é tão simples e, em certos casos, nem desejável, pela grande segregação devido a heterosigose em geral ser alta. No caso de frutíferas, DONINI (1977) utilizou doses ao redor daquela que causa 50% de letalidade ( $LD_{50}$ ).

TABELA 1 - Pegamento de enxertia e altura média dos ramos  $V_1$  após tratamento de borbulhas de laranja Pera com várias doses de raios gama

DOSE (kR)	PEGAMENTO DE ENXERTIA		ALTURA MÉDIA DO $V_1$	
	REAL (%)	EM RELAÇÃO AO CONTROLE (%)	REAL (cm)	EM RELAÇÃO AO CONTROLE (%)
0,0	43	100,0	77,1	100,0
3,0	32	66,0	58,2	75,5
4,5	32	66,0	30,8	40,0
6,0	13	30,2	18,2	23,6
7,5	5	11,6	7,5	9,7
9,0	0	0,0	0,0	0,0

Observando-se os dados da TABELA 1, verifica-se que a  $LD_{50}$  está situada entre 4,5 kT e 6,0 kR. Entretanto, se este critério fosse adotado, tal dose iria provocar grande redução na altura da ramificação  $V_1$ , como se pode observar pela altura média em relação ao controle. Por esta razão é que, para a continuação da pesquisa, resolveu-se utilizar a dose de 4,0 kR, que é uma dose que embora cause significativa redução na percentagem de pegamento, não causa redução drástica no crescimento da ramificação  $V_1$ .

#### *O método das podas repetidas*

Na TABELA 2 apresenta-se a percentagem de alterações morfológicas na rotação  $V_2$ , em relação ao número de gemas desenvolvidas. Observa-se que, à medida que se analisam gemas mais distanciadas da base do ramo  $V_1$ , é maior o número de alterações morfológicas observadas. Evidentemente, há um limite para tal aumento e este limite é dado pela filotaxia da cultura com que se está trabalhando. Na presente pesquisa, resolveu-se analisar as alterações até a sexta gema ao longo do ramo  $V_1$ , pois observou-se que seis gemas consecutivas cobrem toda a circunferência da haste e deve, portanto, incluir todos os possíveis mutantes setoriais.

TABELA 2 - *Frequência de alterações morfológicas em ramos  $V_2$  originados de gemas ao longo de ramos  $V_1$  provenientes de borbulhas de laranja Pera irradiadas com 4,0 kR de raios gama*

RAMOS $V_2$ PROVENIENTES DE GEMAS AO LONGO DO RAMO $V_1$	NÚMERO DE RAMOS $V_2$ ANALISADOS	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS	
		(Nº)	(%)
Grupo I (gemas 1 e 2)	1.125	106	8,42
Grupo II (gemas 3 e 4)	1.107	221	20,00
Grupo III (gemas 5 e 6)	1.071	248	23,20

As alterações morfológicas, provenientes de diferentes gemas ao longo do ramo  $V_1$ , servem para indicar quais gemas devem ser as preferidas para posteriormente desenvolverem ramos onde será realizada a seleção em busca do mutante procurado. Embora muitas destas alterações morfológicas possam não ser mutações, e sim simples efeito fisiológico da irradiação, servem de parâmetro útil em indução de mutação em plantas de propagação vegetativa. Assim é que, buscando-se neste tipo de informação, recomenda-se, em maçã, a utilização da sexta à décima gema do ramo  $V_1$  (LAPINS 1972). Em cereja, recomenda-se o uso de gema situada entre a quinta e décima posição, observando-se que a mais alta frequência de mutantes para internódio mais curto e mais grosso, foi obtida com a quinta e a sexta gemas (DONINI 1976).

Baseando-se nos dados obtidos, pode-se recomendar, para futuros trabalhos, a utilização da quinta e sexta gemas do ramo  $V_1$ , que são as que, provavelmente, irão proporcionar as maiores frequências de mutações no que se refere a resistência ao agente causal do cancro cítrico ou outros caracteres.

Na TABELA 3 são detalhadas as frequências dos diferentes tipos de alterações morfológicas observadas nas brotações  $V_2$ . Verifica-se que, independentemente do grupo observado, foi maior a percentagem de folhas disformes, observando-se, também para os três grupos, grande percentagem de folhas mais alongadas e haste retorcida. É de interesse destacar-se a ocorrência de certa percentagem de ramos com internódios curtos, nos três grupos. Se, pelo menos, algumas destas alterações forem realmente mutações, mutantes de porte compacto poderiam

ser obtidos. Certa percentagem de plantas com folhas mais espessas foram observadas nos grupos I e II. Esta característica, se mantida poderá ser de interesse no que se refere a suscetibilidade a certas doenças ou mesmo pragas.

Apesar de se julgar que as maiores probabilidades de mutações irão ser provenientes de gemas pertencentes ao grupo III, todos os grupos serão utilizados para a continuação do trabalho visando-se resistência ao cancro cítrico. Para isto, borbulhas dos ramos  $V_2$ , provenientes dos três grupos, estão sendo enxertadas em viveiros. Na época adequada, estas mudas (12 a 13 mil) serão levadas à Estação Experimental de Presidente Prudente, onde serão submetidas à infecção natural do cancro cítrico e onde será feita a seleção.

TABELA 3 - *Freqüência dos vários tipos de alterações morfológicas em ramos  $V_2$  originários de gemas ao longo de ramos  $V_1$  provenientes de borbulhas de laranja Pera irradiadas com 4,0 kR de raios gama*

TIPOS DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM RAMOS $V_2$	PORCENTAGEM EM RELAÇÃO AO TOTAL DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS (1)		
	GRUPO I GEMAS 1 e 2	GRUPO II GEMAS 3 e 4	GRUPO III GEMAS 5 e 6
Folha disforme	55,1	50,6	62,8
Folha alongada	7,6	13,1	8,0
Folha espessa	2,5	18,8	0,0
Folha larga	6,8	3,7	1,0
Coloração folha	4,2	1,1	1,0
Folha retorcida	1,7	1,1	0,6
Folha dupla	0,0	0,4	0,0
Haste retorcida	6,8	6,0	18,6
Haste bifurcada	11,9	3,0	2,6
Haste dupla	1,7	0,0	0,0
Internódio curto	1,7	2,2	4,8
Espinho longo	0,0	0,0	0,6



## CONCLUSÕES

As seguintes conclusões puderam ser obtidas através dos experimentos realizados:

1 - A determinação da radiosensitividade de borbulhas da cultivar Pera indicou que, baseando-se na LD<sub>50</sub> e na altura da ramificação V<sub>1</sub> dose de 4,0 kR de raios gama deve ser utilizada.

2 - A análise de alterações morfológicas, em ramos V<sub>2</sub>, indicou que, para os grupos estudados, quanto mais distante da base do ramo V<sub>1</sub> as gemas estivessem, maior era a percentagem destas alterações, indicando que a quinta e a sexta gemas devem ser as preferidas em trabalho com indução de mutação com o material utilizado.

## LITERATURA CITADA

- 01 - AMARO, A.A. São Paulo. *Laranja*, 3:71-101, 1982.
- 02 - BROERTJES, C. Induced mutant techniques in breeding asexually propagated plants. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Manual on Mutation Breeding*. Vienna, 1979. p.159-66.
- 03 - \_\_\_\_\_ & VAN HARTEN, A.M. Shoot apices: organization and post irradiation behaviour. In: \_\_\_\_\_. *Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops*. Amsterdam, Elsevier, 1978. p.19-32.
- 04 - \_\_\_\_\_ & VAN HARTEN, A.M. Cherry. In: \_\_\_\_\_. *Application of mutation breeding methods in the improvement of propagated crops*. Amsterdam, Elsevier, 1978. p.230-36.
- 05 - DONINI, B. The use of radiation to induce useful mutations in fruit trees. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Improvement of vegetatively propagated plants and tree crops through induced mutations*. Vienna, 1976. p.55-67.
- 06 - \_\_\_\_\_. Breeding methods and applied mutagenesis in fruit plants. In: WORKSHOP EUR. COMM., Israel, 1977. *Proceedings... Israel, Association EURATOM-ITAL*, 1977. p.453-78.
- 07 - FEICHTENBERGER, E. Cancro cítrico - resultados de pesquisas recentes desenvolvidas pelo Instituto Biológico de São Paulo. *Laranja*. 3:117-133, 1982.

- 08 - HANSEL, H. Induction of mutations in barley: some practical and theoretical results. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Mutations in plant breeding*. Vienna, 1966. p.117-37.
- 09 - KUKIMURA, H.; IKEDA, F.; FUJITA, H.; MAETA, T.; NAKAJIMA, K.; NATAGIRI, K.; NAKAHIRA, K. & SOMEGOU, M. Genetical, cytological and physiological studies on the induced mutations with special regard to effective methods for obtaining useful mutants in perennial woody plant. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Improvement of vegetatively propagated plants and tree crops through induced mutations*. Vienna, 1976. p.93-137.
- 10 - LARANJA: Brasil confirma a liderança mundial. *Citrus*, 53:7-9, 1982.
- 11 - LAPINS, K.O. Induced mutations in fruit trees. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Induced mutations in vegetatively propagated plants*. Vienna, 1972. p.1-19.
- 12 - MALAVOLTA Jr., V.A.; ROSSETTI, V. & SALIBE, A. Cancro cítrico-resistência da laranja Pera submetida a irradiações. In: ROSSETTI, V. & OLIVEIRA, D.A. *Fesquisas em citros*. São Paulo, Instituto Biológico, 1982. p.11.
- 13 - SPIEGEL-ROY, P. & KOCHIBA, J. Mutation breeding in citrus. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Induced mutations in vegetatively propagated plants*. Vienna, 1972. p.91-103.
- 14 - TULMANN NETO, A.; MENTEN, J.O.M. & ANDO, A. Cancro cítrico - a produção de variedades resistentes através de agentes mutagênicos. *Laranja*, 3:135-140, 1982.
- 15 - ; ; ; POMPEU Jr., J.; SOBRINHO, J.T.; DRAGONE, P.; PRADA, V.A. & CAETANO, A.A. O método da decapitação e irradiação de plântulas na indução de mutação de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7, Florianópolis, 1983. (Enviado para publicação)
- 16 - ZUBRZYCKI, H.M. & DIAMANTE de ZUBRZYCKI, A. Introduction of mutants in citrus for the development of resistance to *Xanthomonas citri* (Hasse) Donnon. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Induced mutations in vegetatively propagated plants II*. Vienna, 1982. p.91-110.