



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS, AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE DEFESA AGROPECUÁRIA**  
**CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL**

**ANTONIO CAMPOS LOPES**

**FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Diaphorina citri***  
**KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) E**  
**MONITORAMENTO DA INVASÃO DE *Candidatus***  
***Liberibacter asiaticus* NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA**

Cruz das Almas – Bahia

2015

**ANTONIO CAMPOS LOPES**

**FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Diaphorina citri*  
KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) E MONITORAMENTO  
DA INVASÃO DE *Candidatus Liberibacter asiaticus* NA  
CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Defesa Agropecuária.

Orientador: Dr. Antonio Souza do Nascimento

Co-orientadores: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu

Dr. Ricardo Lopes de Melo

Dra. Suely Xavier de Brito Silva

Cruz das Almas – Bahia

2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS, AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**PROGRAMA DE DEFESA AGROPECUÁRIA**

**CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
ANTONIO CAMPOS LOPES**

---

Pesquisador Dr. Antonio Souza do Nascimento  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
(Orientador)

---

Profª. Drª. Maria Aparecida Castellani  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

---

Pesquisador Dr Francisco Ferraz Laranjeira  
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado Profissional em  
Defesa Agropecuária em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_.

Conferindo o Grau de Mestre em Defesa Agropecuária em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_.

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho ao meu pai Silvio Torres Lopes (in memória) e a minha mãe Solange Isabel Campos Lopes que nunca mediram esforços para que seus filhos evoluíssem em conhecimento.

## **Agradecimentos**

Primeiro a DEUS, pela luz que tenho certeza me enviou todos os dias durante o desenvolvimento deste trabalho, que só assim consegui ter inspiração e motivação para continuar.

À Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) por meio do seu Diretor de Defesa Sanitária Vegetal - Dr. Armando Sá Nascimento Filho por esta oportunidade e pelo apoio na realização das atividades.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA / CNPMF) pela disponibilização da infra-estrutura de laboratórios e de biblioteca para o desenvolvimento deste trabalho.

À Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) pela disponibilidade da infra-estrutura de laboratório.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) que me possibilitou a realizar esse curso de mestrado.

Ao meu orientador Dr. Antonio Souza do Nascimento por ter aceitado o desafio na orientação desde trabalho e pelo constante apoio, confiança e ensinamentos desempenhando com precisão o papel de orientador.

Ao meu co-orientador Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu chefe do Laboratório de Virologia da EMBRAPA/CNPMF por suas valiosas orientações, com críticas e sugestões que me auxiliaram a elaboração deste trabalho, principalmente referente ao Capítulo 2.

Ao meu co-orientador Dr. Ricardo Lopes de Melo pelas suas valiosas orientações, apoio, paciência, perseverança e inestimável amizade.

À minha co-orientadora Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva, pelas orientações, apoio, paciência e perseverança, durante todo o transcorrer deste trabalho, especialmente pelo exemplo de profissionalismo e retidão pessoal, sempre notável.

Aos membros da banca examinadora, Dr<sup>a</sup>. Maria Aparecida Castellani e Dr. Francisco Ferraz Laranjeira pelas críticas e sugestões para aperfeiçoamento deste trabalho.

À Dra. Cristiane de Jesus Barbosa chefe da Central de Laboratórios da Agropecuária.

À MS. Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro, Bibliotecária da Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela sua importante contribuição.

Aos Bolsistas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Antonio Márcio Fernandes, Ícaro Bruno Nogueira Sanches e Simone Bomfim de Menezes que me auxiliaram nos trabalhos dos laboratórios.

Aos colegas de trabalho Alírio Ribeiro dos Santos, Deyse Caribé de Brito, Maria Rozane Sales Maia, Thaís Maria Barbosa Monteiro e Vinicius Pina Costa que contribuíram nas pesquisas de campo.

Aos amigos André Nunes Loula Tôrres e Maria Helena Mascarenhas pela amizade e por estarem sempre disposto a auxiliar nos momentos de dificuldades.

A todos os professores do curso de mestrado profissional em defesa agropecuária, pelos relevantes ensinamentos transmitidos durante a condução das disciplinas.

A minha esposa e meu filho por compartilhar cada momento e entender as dificuldades, as ausências, as irritações, as noites mal dormidas, mas que ao final de tudo a satisfação de testemunhar realmente valeu à pena.

E aos colegas do curso, pela amizade e pela oportunidade de aumentar meus conhecimentos através da troca de informações.

## Epígrafe

“O conhecimento ilustra, mas a experiência assimilada traz a sabedoria;  
Quem estuda pensa que sabe;  
Quem experimenta descobre quanto ainda precisa aprender...  
Os problemas, os desafios em nossa vida aparecem pela  
necessidade que temos de aprender e evoluir!”

**Zibia Gaspareto**

# FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (Hemiptera: Liviidae) E MONITORAMENTO DA INVASÃO DE *Candidatus Liberibacter asiaticus* NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA

Autor: Antonio Campos Lopes.

Orientador: Dr. Antonio Souza do Nascimento.

Co-orientadores: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu, Dr. Ricardo Lopes de Melo e Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva.

**RESUMO:** A Bahia ocupa a segunda posição no *ranking* nacional da produção de citros e a Chapada Diamantina desponta como pólo produtor de frutas de mesa. Dentre as ameaças fitossanitárias à citricultura baiana, o *Huanglongbing* dos Citros é a mais importante. A bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las), é um dos agentes causais do HLB, a qual é transmitida pelo inseto vetor, *Diaphorina citri*, aos *Citrus* spp. e *Murraya paniculata*. Este trabalho teve por objetivo conhecer a flutuação populacional do vetor *D. citri*, em fluxos de brotações em ambos os hospedeiros na Chapada Diamantina, Bahia, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014 e monitorar a presença da bactéria no vetor. Quinzenalmente armadilhas amarelas adesivas eram substituídas e encaminhadas à Central de Laboratórios da Agropecuária (CLA) da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) para contagem dos insetos adultos capturados, permitindo o estabelecimento do Índice Psilídeo/Armadilha/Mês (PAM). Adultos de *D. citri* ocorreram praticamente em todos os meses do período estudado com maior incidência nos municípios de Lençóis e Seabra e caso ocorra a introdução da bactéria do HLB, o risco de disseminação é potencializado nestes municípios. Para o monitoramento da invasão da bactéria foram coletadas 21 amostras, com frequência trimestral nos dois primeiros anos e quinzenal no último ano. O material biológico foi coletado, acondicionado em micro tubos contendo álcool a 70%, identificado e encaminhado ao Laboratório de Virologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A metodologia para extração do DNA genômico do vetor foi baseado no Protocolo de DENG et al.(2006) com modificações e a presença da bactéria foi diagnosticada pela técnica de qPCR com amostras compostas por no mínimo cinco psilídeos adultos ou dez ninfas, que monitora a fluorescência emitida em cada um dos ciclos de amplificação através de um software e seus resultados são expressos em valor de Ct (cycle threshold) que diagnosticaram duas amostras que foram consideradas positivas, fornecendo informações importantes para subsidiar ações de defesa agropecuárias, tendo em vista a tomada de decisão e adoção de medidas mitigatórias de forma precoce à manifestação de sintomas nos hospedeiros.

**Palavras chave:** HLB, inseto vetor, método diagnóstico, defesa agropecuária.

# **POPULATION FLUCTUATION OF *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (Hemiptera: Liviidae) AND MONITORING OF INVASION *Candidatus Liberibacter asiaticus* THE CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA**

Author: Antonio Campos Lopes.

Adviser: Dr. Antonio Souza do Nascimento.

Co-advisers: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu, Dr. Ricardo Lopes de Melo e Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva.

**ABSTRACT:** Bahia ranks second in the national ranking of citrus production and the Chapada Diamantina is emerging as a major producer of table fruit. Among the phytosanitary threats to Bahia citrus, the HLB Citrus is the most important. The bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las) is one of the causative agents of HLB, which is transmitted by the insect vector, *Diaphorina citri*, the *Citrus* spp. and *Murraya paniculata*. This study aimed to know the population vector floating, *D. citri* in shoots flows on both hosts in the Chapada Diamantina, Bahia and monitor the presence of bacteria in the insect vector. Fortnightly yellow sticky traps were replaced and sent to the Agricultural Laboratories Center (CLA) of the Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) to count the adult insects captured, allowing the establishment of the Index Psyllid / Trap / Month (PAM). Adult *D. citri* occurred almost every month of the study period with the highest incidence in the municipalities of sheets and Seabra and in the event of the introduction of the HLB bacterium, the risk of spread is enhanced in these municipalities. For monitoring bacterial invasion were collected 21 samples, on a quarterly basis in the first two years and fortnightly in the last year. The biological material was collected, packed in micro tubes containing 70% alcohol, identified and sent to the Virology Laboratory of Cassava and Embrapa. The methodology for extraction of genomic DNA vector was based on the Protocol DENG et al. (2006) with changes and the presence of bacteria was diagnosed by qPCR technique with composite samples for at least five adult psyllids or ten nymphs, which monitors fluorescence emitted in each of the amplification cycles through a software and its results are expressed in value Ct (cycle threshold) who diagnosed six samples were considered positive, providing important information to support agricultural defense actions, with a view to making decision and adoption of mitigation measures early on for expression of symptoms in the host.

**Key-words:** HLB, insect vector, diagnostic method, agricultural defense.

# LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1</b> Principais Países Produtores de Citros no Mundo.....	23
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>Tabela 1</b> - Localização e caracterização das áreas localizadas nas cinco regiões pesquisadas.....	48
<b>Tabela 2</b> - Índice PAM registrados em cinco municípios da Chapada Diamantina, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.....	54
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>Tabela 1</b> - Amostras de adultos de <i>D. citri</i> em função da latitude e longitude, data de coleta e número de insetos coletados. Bonito, BA, 2014.	71
<b>Tabela 2</b> - Amostras de ninfas de <i>D. citri</i> em função da latitude e longitude, data de coleta e número de insetos coletados. Itaberaba, BA, 2014.....	72
<b>Tabela 3</b> - Componentes usados na técnica de qPCR.....	74
<b>Tabela 4</b> - Locais de coletas de psíldeos adultos cujas análises de qPCR detectaram valores positivos de Ct.....	77

# LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1</b> - Ilustração demonstrando o centro de origem dos citros e diferentes rotas de dispersão da fruta para outras regiões do mundo, demonstrada através das setas.....	21
<b>Figura 2</b> - Ramos em uma planta jovem com o sintoma de “dragão amarelo” .....	24
<b>Figura 3</b> - Primeiro relato do HLB e sua dispersão pelo mundo.....	24
<b>Figura 4</b> - Distribuição das bactérias Laf, Lam e Las, causadoras do HLB no mundo. Destacados em amarelo: a regiões onde ocorre a Laf e Las; em vermelho: Las; em azul: Laf e em laranja: Las e Lam.....	25
<b>Figura 5</b> - Ocorrência do Huanglongbing (HLB, ex-greening) no Brasil. Os Estados destacados em verde representam a confirmação da presença da bactéria. O Estado destacado em amarelo representa a área em estudo....	26
<b>Figura 6A</b> - Plantas com sintomas de HLB, com ramos amarelos destacado na copa, sintoma típico do “dragão amarelo” em planta com idade produtiva.....	27
<b>Figura 6B</b> - Folha com sintoma de mosqueamento assimétrico.....	27
<b>Figura 7A</b> - Sintomas do HLB: Fruto com tamanho reduzido e assimétrico com tortuosidade da columela central, com espessamento do albedo e sementes abortadas.....	28
<b>Figura 7B</b> - Aspecto da desfolha generalizada.....	28
<b>Figura 8</b> - Distribuição geográfica de <i>Diaphorina citri</i> .....	29
<b>Figura 9</b> - Adulto de <i>D. Citri</i> , vetor do <i>huanglongbing</i> dos citros (HLB).....	30
<b>Figura 10</b> - Ciclo de vida do <i>D. citri</i> .....	30
<b>Figura 11</b> - Regiões produtoras de citros classificadas quanto ao risco de introdução do HLB.....	32
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Figura 1</b> - Representação da localização geográfica dos pontos de monitoramento, por municípios, na Chapada Diamantina: Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis, Palmeiras e Seabra.....	47

<b>Figura 2</b> - Conjunto caixa de isopor e caixilho de madeira com duas divisões paralelas para fixação das armadilhas.....	49
<b>Figura 3</b> - Visão geral da operação de leitura, em laboratório, dos insetos capturados nas armadilhas, com auxílio de lupa articulada.....	49
<b>Figura 4</b> - Número total de psilídeos capturados nos cinco municípios estudados. Itaberaba, BA 2014.....	51
<b>Figura 5</b> - Percentual de psilídeos capturados em armadilhas adesivas amarelas por município estudado. Itaberaba, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.....	52
<b>Figura 6</b> - Número médio de adultos de <i>D. citri</i> , calculado por meio do índice PAM (psilídeos/armadilha/mês), capturados nas armadilhas adesivas amarelas instaladas em hospedeiro citros e em hospedeiro murta a 1,5 m do solo. As barras sobre as colunas representam o erro padrão da média.....	52
<b>Figura 7</b> - Flutuação populacional de <i>D. citri</i> nos municípios de: Bonito, laçu, Itaberaba, Lençóis e Seabra, na região da Chapada Diamantina no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.	55
<b>Figura 8</b> - Flutuação da população de <i>D. citri</i> (PAM) em relação às variações climáticas de precipitação (mm), temperatura (°C) e umidade relativa (%) registrados para a região da Chapada Diamantina.....	56

## Capítulo 2

<b>Figura 1</b> - Representação dos pólos produtores de citros no estado da Bahia, na região da Chapada Diamantina.....	66
<b>Figura 2</b> - Representação da localização geográfica dos pontos de coletas dos psilídeos adultos nos municípios de Bonito (latitude S 12° 13' 32,6" e longitude W 41° 15' 27,6"), Itaberaba (latitude S 12° 31' 39,9" e longitude W 40° 00' 40,4"), Lençóis (latitude S 12° 33' 19,4" e longitude W 41° 22' 46,0"), Seabra (latitude S 12° 26' 46,9" e longitude W 41° 45' 03,0") e (latitude S 12° 26' 42,6" e longitude W 41° 51' 53,1") e na região da Chapada Diamantina.....	70
<b>Figura 3</b> - Locais de coletas de psilídeos positivos (📌) no município de Seabra e delimitação do raio de ação de 4 km (📍).....	75
<b>Figura 4A</b> - Plantas com sintomas de HLB, com ramos amarelos	

destacado na copa, sintoma típico do “dragão amarelo” em uma planta jovem.....	76
<b>Figura 4B</b> - Folha com sintoma de mosqueamento assimétrico.....	76
<b>Figura 5</b> - Percentual de psilídeos capturados em armadilhas adesivas amarelas por município estudado. Itaberaba, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.....	78
<b>Figura 6</b> - Percentual de psilídeos adultos coletados na região da Chapada Diamantina. Itaberaba, BA 2014.....	80

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°	Grau
° Brix	Grau Brix é uma escala numérica de índice de refração é utilizada na indústria de alimentos para medir a quantidade aproximada de açúcares em alimentos
° C	Grau Celsius
° N	Latitude norte
° S	Latitude sul
° L	Longitude leste
° W	Longitude oeste
B	Boro
Ca	Cálcio
frutos/há	Frutos por hectare
Há	Hectare
HCl	Ácido clorídrico
IN	Instrução Normativa
km <sup>2</sup>	Quilometro quadrado
M	Metro
MG	Miligrama
mL	Mililitro
µL	Microlitro
Mm	Milímetro
Mm	Milímetro quando se refere à precipitação pluviométrica
Mn	Manganês
NaCl	Cloreto de Sódio
RPM	Rotações por minuto
T	Tonelada
X	Versus
Zn	Zinco

# SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	17
<b>2 OBJETIVOS</b>	20
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
3.1 ORIGEM E DISPERSÃO DA CITRICULTURA.....	21
3.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DA CITRICULTURA.....	22
3.3 <i>HUANGLONGBING</i> DOS CITROS (HLB, <i>ex-greening</i> ).....	23
3.4 OCORRÊNCIAS DO HLB.....	25
3.5 SINTOMATOLOGIA DO <i>HUANGLONGBING</i> DOS CITROS.....	27
3.6 DISTRIBUIÇÕES GEOGRÁFICAS DO VETOR, <i>Diaphorina citri</i> .....	38
3.7 CARACTERÍSTICAS BIOECOLÓGICAS DO VETOR, <i>Diaphorina citri</i> ....	29
3.8 MATERIAL DE PROPAGAÇÃO.....	31
3.9 IMPACTO DA INTRODUÇÃO DO HLB NA CITRICULTURA BAIANA.....	31
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	34
<b>Capítulo 1</b>	
FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.....	41
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	44
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b>	46
2.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	46
2.2 ARMADILHAMENTO.....	46
2.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ARMADILHAS.....	47
2.4 AVALIAÇÃO.....	49
2.5 DADOS CLIMÁTICOS.....	50
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	51
3.1 DENSIDADE DE <i>D. citri</i> NA CHAPADA DIAMANTINA.....	51
3.2 ÍNDICE PAM POR HOSPEDEIRO (CITROS E MURTA) E POR PLANTA CONSIDERADA NÃO HOSPEDEIRA DE <i>D. citri</i> CAPTURADOS	

NA REGIÃO DA CHAPADA DIAMANTINA.....	54
3.3 FLUTUAÇÕES POPULACIONAL DE <i>D. citri</i> EM CINCO MUNICÍPIOS DA CHAPADA DIAMANTINA.....	55
3.4 FLUTUAÇÕES POPULACIONAL DE <i>D. citri</i> X FATORES CLIMÁTICOS EM CINCO MUNICÍPIOS DA CHAPADA DIAMANTINA.....	56
<b>4 CONCLUSÕES</b>	58
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	59
<b>Capítulo 2</b>	
MONITORAMENTO DA INVASÃO DE <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.....	62
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	65
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b>	70
2.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	70
2.2 COLETAS DOS PSILÍDEOS.....	72
2.3 EXTRAÇÃO DE DNA DAS AMOSTRAS DE <i>D. citri</i> .....	73
2.4 DETECÇÃO DE <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> EM PSILÍDEOS POR PCR QUANTITATIVO.....	74
2.5 LEVANTAMENTOS DE DETECÇÃO.....	75
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	77
<b>4 CONCLUSÕES</b>	82
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	83
<b>6 PROPOSIÇÃO DE MEDIDA REGULATÓRIA</b>	84
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	85

# ANEXOS

	Página
Anexo 1.....	92
Anexo 2.....	96

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento e aprimoramento do cultivo de frutas frescas no Brasil têm assegurado o abastecimento da crescente demanda doméstica e, simultaneamente, permitido uma expressiva e crescente participação na pauta de exportações do agronegócio brasileiro.

O Brasil situa-se entre os três maiores produtores de frutas do mundo, com uma safra de 41 milhões de toneladas em 2009 (IBRAF, 2015), o equivalente a 5% da produção mundial. Com esse saldo, fica atrás apenas da China e da Índia (55,6 milhões e 48,1 milhões de toneladas, respectivamente), *status* alcançado graças às condições favoráveis de clima, solo e disponibilidade territorial do País, atraindo assim investimentos públicos e privados em infraestrutura, capacitação, logística e inovação tecnológica (BRASIL, 2007).

Destaca-se a citricultura brasileira que responde por 38% da produção de laranja (19,1 milhões de toneladas) e 61% da produção de suco de laranja (1,33 milhão de toneladas - 65° Brix) no mundo (USDA, 2010). São exportados 98% da sua produção, o que corresponde a 86% do mercado mundial (NEVES et al., 2010).

A Bahia destaca-se como o segundo no ranking da produção nacional de citros (OLIVEIRA et al., 2013), com 64.398 hectares de área colhida e uma produção de 1.045.807 mil frutos e um rendimento de 16.240 frutos por hectare (IBGE, 2012) e a Chapada Diamantina desponta como importante pólo produtor de frutas de mesa, como os cultivos de laranjeiras doce, limeira ácida tahiti e tangerineira por suas condições edafo-climáticas favoráveis, além de sua posição geográfica privilegiadas (PASSOS et al., 2005).

O cultivo de tangerineiras ponkan com vistas à qualidade visual dos frutos em regiões de clima tropical requer maior altitude, a exemplo do município de Bonito, situado a 800 m acima do nível do mar, cuja temperatura

média anual está em torno de 20 °C, favorecendo a produção de frutos com uma coloração da casca e de polpa mais acentuada, além de promoverem um aumento dos teores de açúcar e de ácido acentuando o paladar (AZEVEDO, 2003).

Um dos maiores riscos a citricultura baiana é o avanço de pragas capazes de causar danos irreversíveis nas plantas, ameaçando a quantidade e qualidade das frutas cítricas, podendo levar à erradicação completa de pomares, configurando risco potencial de inviabilidade econômica da produção.

Dentre as diversas pragas que incidem sobre a citricultura mundial, a doença bacteriana conhecida como *huanglongbing* dos citros (HLB, *ex-greening*) é considerada a pior delas por diferentes pesquisadores, em razão de não existir variedades de citros que sejam resistentes, devido à severidade dos sintomas e pela rápida disseminação com que se espalha pelos pomares (DA GRAÇA, 1991; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006).

O inseto vetor é o psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), o qual está amplamente distribuído por todas as áreas citrícolas no país (PARRA et al., 2010).

O psílídeo *D. citri* é provavelmente de origem asiática, o primeiro relato de sua ocorrência se deu em Taiwan, em 1907, e atualmente encontra-se amplamente disseminado por todo o continente asiático (BOVÉ, 2006) e nas Américas (HALBERT; NUNEZ, 2004).

No Brasil, a primeira referência remonta ao ano de 1942 (COSTA LIMA, 1942), relacionando sua ocorrência a citros e a murta (*Murraya paniculata*), planta ornamental, sem ocasionar danos graves.

Entretanto, desde março 2004, após o primeiro registro oficial da doença no Brasil, em Araraquara, área central do estado de São Paulo (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2013), o vetor adquiriu o *status* de praga por ser transmissor da bactéria (DA GRAÇA, 1991; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006)

Conforme instruções do FUNDECITRUS (2009) há apenas uma forma de controlar a doença: a adoção de plano de manejo que envolve a utilização de mudas de boas qualidades sanitárias, erradicação das plantas sintomáticas e o controle do vetor do HLB.

Mediante constantes inspeções fitossanitárias realizadas pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), o Estado ainda apresenta o *status* de área livre de HLB, e por isso, o monitoramento do vetor é uma das estratégias eficientes para avaliação de cenários e predição de riscos de introdução desta doença, sendo de fundamental importância conhecer a flutuação populacional de *D. citri* em pomares comerciais de citros e em seu hospedeiro preferencial, a murta (*Murraya paniculata*), bem como detectar possíveis invasões da bactéria via inseto vetor.

## 2 OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivos conhecer a flutuação populacional do psíldeo adulto, *D. citri*, em plantas cítricas (Limeira Ácida “Tahiti” e Tangerineira “Ponkan”) e em plantas de murta (*Murraya paniculata*) nos municípios de Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis e Seabra na região da Chapada Diamantina, estado da Bahia, e monitorar a invasão da bactéria via inseto vetor.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 ORIGEM E DISPERSÃO DA CITRICULTURA

A maioria dos pesquisadores considera que os citros têm sua origem na Ásia, muito provavelmente, no Sudeste da China, Sul da Península Malaia e Oeste de Myanmar, antiga Birmânia, centro de origem das tangerineiras, toranjeiras e limeiras, existindo evidências de que essas frutas já fossem exploradas no Sul da China há mais de 4.000 anos esta dispersão ocorreu em direção ao sudeste, através das Filipinas e das ilhas do Pacífico (SPURLING, 1969), e nos dias atuais, está presente em praticamente todos os continentes (Figura 1), exceto a Antártida, destacando-se no agronegócio de diversos países (WEBBER et al., 1967).



Figura 1- Ilustração demonstrando o centro de origem dos citros e diferentes rotas de dispersão da fruta para outras regiões do mundo, demonstrada através das setas.

Fonte: Adaptado por Coletta-Filho (2014) de The Citrus Plant; H. Chapot (1975).

A maioria dos pesquisadores considera que a introdução dos citros na Europa deu-se provavelmente através dos invasores, comerciantes árabes ou do exército muçulmano, sendo a cidreira a primeira espécie cítrica a ser introduzida no continente europeu (WEBBER et al., 1967; KOLLER, 1994; DONADIO et al., 2005).

Para Webber et al. (1967) e Figueiredo (2008) os citros foram introduzidos nas Américas, provavelmente pelas expedições de Cristovão Colombo, que em 1493, trouxe para o Haiti sementes de algumas espécies cítricas. Posteriormente foram introduzidas no Brasil através dos portugueses no período colonial, por volta do início do século XV, possivelmente no Estado da Bahia (KOLLER, 1994; DONADIO et al., 2005). No Brasil, as plantas cítricas encontraram condições edafoclimáticas favoráveis expandindo-se para todo os Estados, sendo hoje uma das culturas de maior expressão socioeconômica do país.

### 3.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DA CITRICULTURA

A cultura citrícola destaca-se entre as principais atividades agrícolas mundiais e das mais competitivas agroindustriais, situando-se em ampla área geográfica, localizada entre os paralelos de 35° de latitude Norte e 35° de latitude Sul, sendo que no Mediterrâneo, em razão das excepcionais condições climática, a cultura é explorada em locais com até 42° de latitude Norte (CAMPOS, 1976). Dentre as espécies de maior importância econômica destacam-se: as laranjeiras, os limoeiros e as tangerineiras de grande consumo in natura e industrialização (KOLLER, 1994; DONADIO et al., 2005).

O Brasil apresenta números expressivos que demonstram a importância econômica e social que a citricultura possui em relação à economia do país (AZEVEDO, 2003). Atualmente, destaca-se como o segundo no *ranking em produção de citros* (Tabela 1), responsável por cerca de 20% da produtividade do mundo, com um rendimento de mais de 20 milhões de toneladas e sendo cultivada em todos os Estados, com uma área implantada superior a 800 mil de hectares (FAO, 2014).

Tabela 1- Principais Países Produtores de Citros no Mundo.

<b>País</b>	<b>Área Colhida (ha)</b>	<b>Produção (toneladas)</b>	<b>Rendimento (frutos/ha)</b>
China	2.145.000	22.400.000	10,443
Brasil	828.773	20.180.507	24.350
Estados Unidos	294.126	9.525.450	32.386
Índia	710.000	7.200.000	10.141

Fonte: FAO, 2014. Consultado em 13/02/2014.

A Bahia destaca-se como segundo maior produtor de citros do país, atrás apenas do estado de São Paulo, com uma área colhida de 69.592 hectares para uma produção de 1.125.134 toneladas (IBGE, 2013).

No Estado da Bahia, a citricultura é responsável pela criação de aproximadamente 150 mil empregos diretos, destacando-se em relação aos agronegócios mais representativos do Estado, possuindo áreas de produção consolidadas em diferentes territórios de identidade (SEAGRI, 2010).

### 3.3 HUANGLONGBING DOS CITROS (HLB, *ex-greening*)

*Huanglongbing* (*ex-greening* ou HBL) ocasionada pela bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. é considerada a doença mais severa da citricultura mundial (DA GRAÇA, 1991; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006), em razão dos danos econômicos, da inexistência de tratamento curativo e de sua rápida disseminação afetando todas as variedades de citros (BOVÉ; GARNIER, 2002), além da espécie ornamental, conhecidas pela denominação de murta de cheiro, *Murraya paniculata* (TSAI; LIU, 2000) e *Murraya exótica* (LOPES et al., 2010), bastante utilizada em arborização pública.

*Huanglongbing*, ou doença dos ramos amarelos dos citros é uma palavra originária da China significando “doença do dragão amarelo” (Figura 2), local onde ocorreu o primeiro relato oficial da praga (REINKING, 1919). E desde então tem se observado a sua disseminação para os outros continentes, inclusive nas Américas (Figura 3), onde se localizam os maiores produtores mundiais de citros, estado de São Paulo, no Brasil e o estado da Flórida, nos Estados Unidos (BOVÉ, 2006).



Figura 2 - Ramo em uma planta jovem com o sintoma de “dragão amarelo”.  
Fonte: E.F.Carlos (2009).

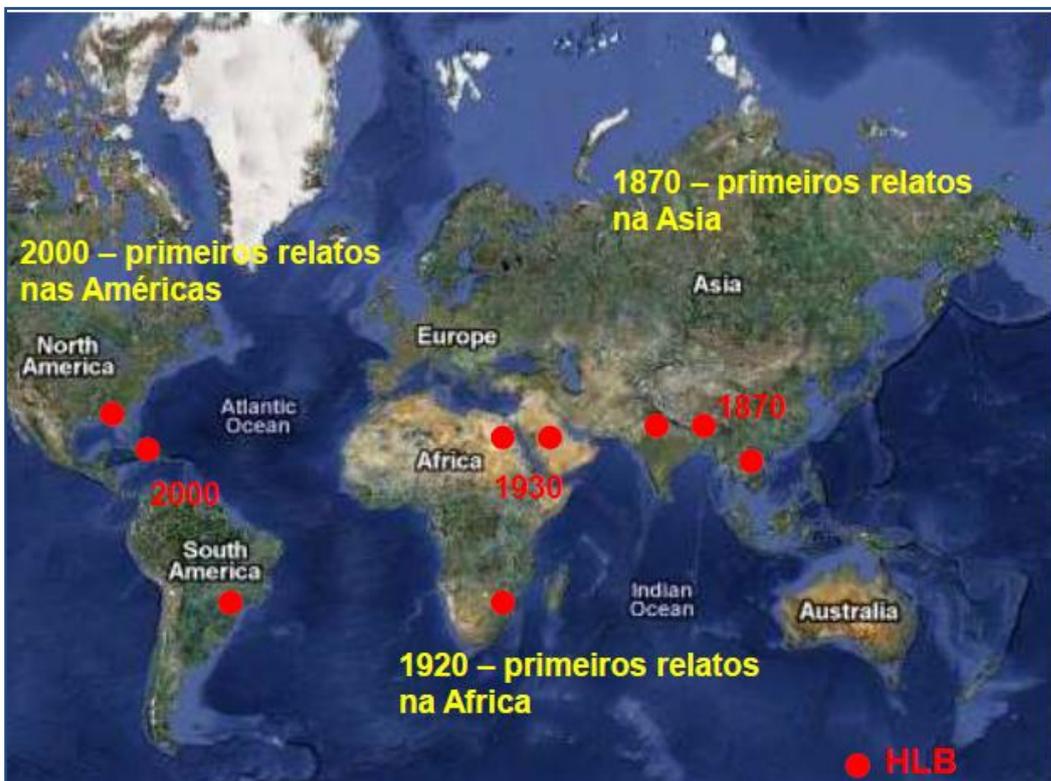


Figura 3 - Primeiro relato do HLB e sua dispersão pelo mundo.  
Fonte: Bové, 2006 (Journal Plant Pathology, v. 88, p. 7-37).

### 3.4 OCORRÊNCIAS DO HLB

Atualmente são conhecidas três espécies da bactéria causadora do HLB: *C. Liberibacter asiaticus* (Las), *C. Liberibacter africanus* (Laf) e *C. Liberibacter americanus* (Lam) que se encontram presente em vários continentes (Figura 4) afetando seriamente a produtividade dos citros (DA GRAÇA, 2008).

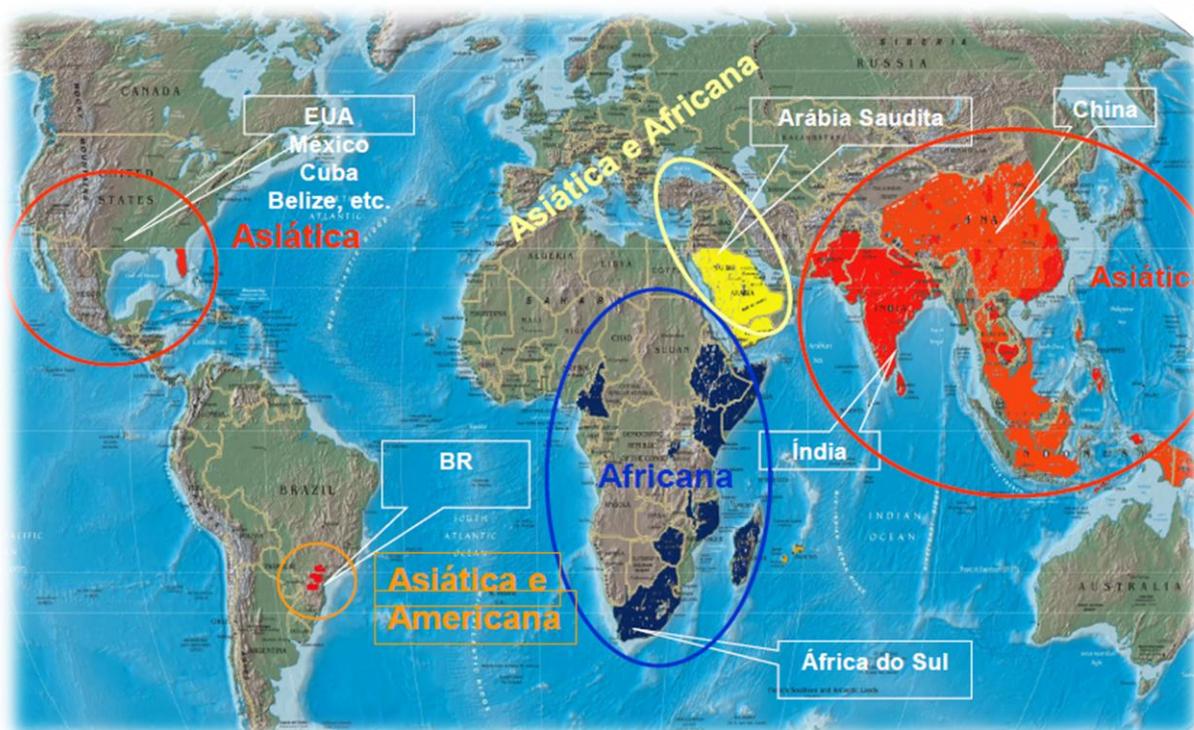


Figura 4 - Distribuição das bactérias Laf, Lam e Las, causadoras do HLB no mundo. Destacados em amarelo: a regiões onde ocorre a Laf e Las; em vermelho: Las; em azul: Laf e em laranja: Las e Lam.  
Fonte: R. P. Leite Junior (2014).

O primeiro relato do HLB nas Américas ocorreu em São Paulo, no ano de 2004 (COLLETA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005), sendo identificada em 2005 na Flórida, nos Estados Unidos e posteriormente em Cuba, provavelmente tendo sido transmitido por psilídeos infectivos vindo da Flórida que sobrevoaram a pequena distância existente entre esses países. (DA GRAÇA, 2008).

No Brasil, a bactéria *C. Liberibacter asiaticus* se encontra amplamente disseminado por todo o estado de São Paulo (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005). Tendo também sido detectada em 2005 no estado de Minas Gerais (TEIXEIRA et al., 2005; BELASQUE JUNIOR et al., 2009) e em 2007 no Leste e no centro do estado do Paraná (IAPAR, 2009) (Figura 5).

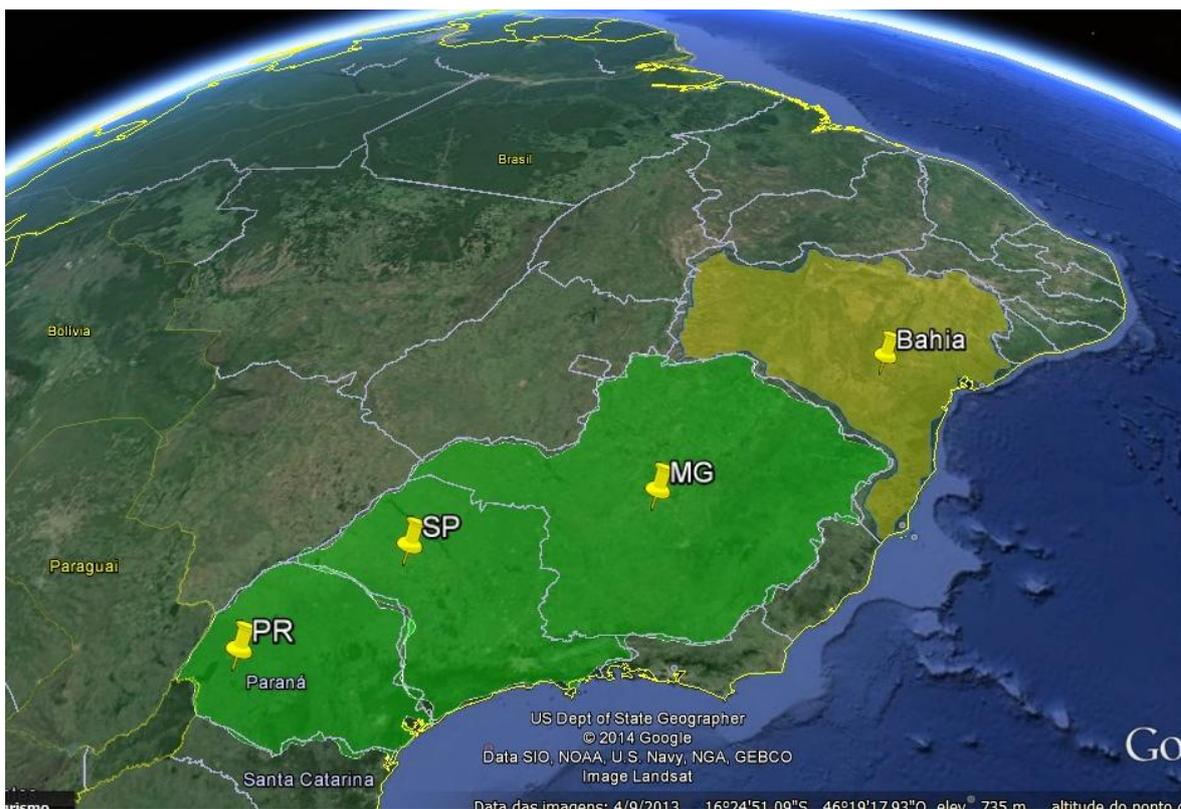


Figura 5 - Ocorrência do Huanglongbing (HLB, ex-greening) no Brasil. Os Estados destacados em verde representam a confirmação da presença da bactéria. O Estado destacado em amarelo representa a área em estudo.

Fonte: S. X. de B. Silva (2014).

Com o advento do HLB, os principais fatores limitantes ao desenvolvimento dos citros estão relacionados com a velocidade de disseminação do agente patogênico, com a severidade dos sintomas e danos potenciais, com sua condição de irreversibilidade em todas as variedades citrícolas, pois atualmente não se conhece nenhuma variedade resistente (BELASQUE JUNIOR *et al.*, 2009; BOSCARIOL-CAMARGO *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2010), ou seja, não existem maneiras economicamente viáveis de se curar as plantas doentes (BOVÉ, 2006)

Diante do cenário nacional, esse patossistema tem como agravante o fato do vetor se encontrar amplamente disseminado no país (PARRA *et al.*, 2010), assim como a presença da bactéria *Candidatus. Liberibacter spp.* em três Estados brasileiros (São Paulo, Minas Gerais e Paraná), permitindo seu enquadramento como praga quarentenária A2, conforme Instrução Normativa (IN) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) nº 53, de 16/10/2008 (Anexo 1).

Embora a doença não leve à morte suas plantas hospedeiras, com a evolução dos sintomas, as plantas vão definhando e tornando-se improdutivas, atingindo o estágio de morte econômica. Pesquisas revelam que num período de até 10 anos

após o surgimento dos primeiros sintomas, na ausência de métodos de controle, pomares inteiros tornam-se inviáveis comercialmente (GOTTWALD et al., 2007).

### 3.5 SINTOMATOLOGIA DO *HUANGLONGBING* DOS CITROS

O surgimento dos primeiros sintomas depois da inoculação da bactéria por psilídeos infectados (PELZ-STELINSKI *et al.*, 2010) ou através de enxertia (LOPES *et al.*, 2010; COLETTA-FLHO *et al.*, 2010) ocorre de maneira lenta com intervalo de pelo de três meses, podendo levar até três anos (MILORI et al., 2012).

Os primeiros sintomas verificados na planta doente são o amarelecimento das folhas novas com sinais semelhantes aos de deficiência de B, Ca, Mn e Zn, ao longo das nervuras foliares, com ampliação da clorose para o surgimento de ramos com folhas amarelas se destacando em contraste com o verde natural das folhagens da copa (TATINENI et al., 2008) (Figura 6A).

A tonalidade da clorose foliar inicialmente apresenta-se de forma difusa e assimétrica, denominado de “mosqueado” (Figura 6B), sendo considerado o sintoma mais característico das plantas afetadas pelo HLB, presente em praticamente todos os locais nos quais o HLB foi relatado, independentemente do agente causal, hospedeiro e condição ambiental (BOVÉ, 2006).

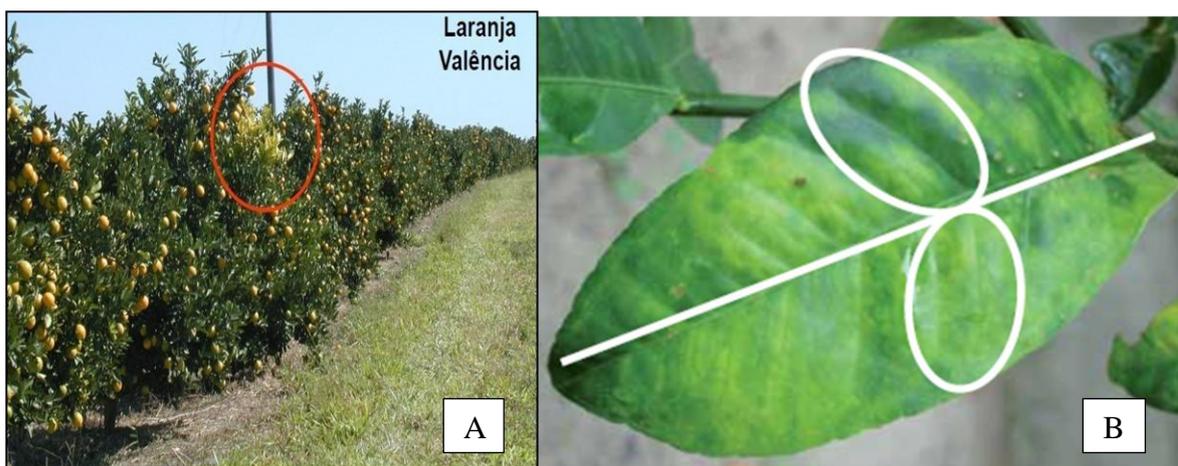


Figura 6 - Plantas com sintomas de HLB, com ramos amarelos destacado na copa, sintoma típico do “dragão amarelo” em planta com idade produtiva (A). Folha com sintoma de mosqueamento assimétrico (B).

Fonte: Juliano Ayres (2008) (A).

Fonte: Juliana Freitas-Astúa (2011) (B).

Verificam-se também frutos de tamanho reduzido e assimétricos, com deformação da columela central, espessamento do albedo e sementes abortadas (Figura 7A). As plantas apresentam redução do número de radículas, queda acentuada de folhas e frutos e seca dos ramos iniciando-se pelas extremidades (Figura 7B).



Figura 7 - Sintomas do HLB. Fruto com tamanho reduzido e assimétrico, com tortuosidade da columela central, com espessamento do albedo e sementes abortadas (A). Aspecto da desfolha generalizada (B).

Fonte: Marcos A. Machado (2009) (A).

Fonte: Juliano Ayres (2008) (B).

### 3.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO VETOR, *Diaphorina citri*

Embora a citricultura apresente um grande número insetos considerada praga, poucos são aqueles que realmente sejam capazes de causar danos econômicos à cultura (GRAVENA, 1984). Enfatiza-se o psíldeo-asiático-dos-citros, *D. citri* (Hemiptera: Liviidae), por ser um inseto fitófago que se encontra amplamente distribuído no planeta (HALBERT; MANJUNATH, 2004) (Figura 8).

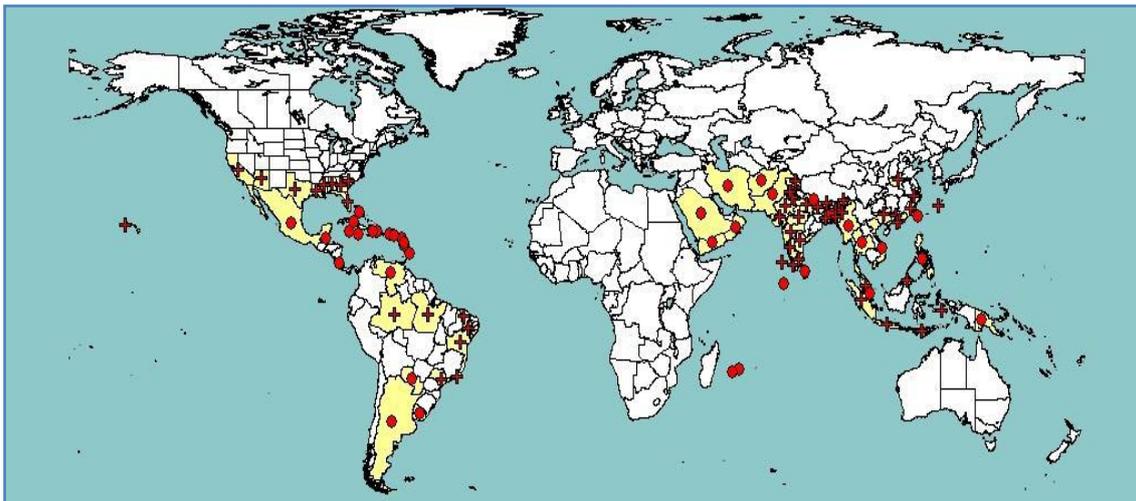


Figura 8 - Distribuição geográfica de *Diaphorina citri*.

Fonte: EPPO (2012).

No Brasil o primeiro relato do inseto ocorreu na década de 1940 (COSTA LIMA, 1942), e até então era considerada como praga secundária, sem muita importância para o Brasil (GALLO et al., 2002). Porém, após a detecção do HLB no estado de São Paulo em 2004 (COLLETA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005), adquiriu o *status* de praga-chave para a cultura do citros devido a sua habilidade em transmitir a bactéria, agente causal do *huanglongbing* dos citros (HLB).

### 3.7 CARACTERÍSTICAS BIOECOLÓGICAS DO VETOR, *Diaphorina citri*

*D. citri* é um pequeno hemíptero com aproximadamente 3 mm de comprimento quando adulto, pertencente à família Liviidae e que se alimenta através da sucção da seiva do floema dos vegetais.

O inseto apresenta o corpo manchado de marrom escuro com cabeça marrom claro, e três ocelos, as antenas são do tipo filiforme e com a extremidade preta, possuem as asas translúcidas, sendo que as anteriores são alargadas da metade até o topo (AUBERT, 1987; BERGMANN et al., 1994; GALLO et al., 2002).

São insetos de hábito relativamente gregário que permanecem aderidos a superfícies das folhas por prolongado período de tempo, principalmente na parte terminal do pecíolo entre a gema axilar e os brotos recém emitidos (LIU; TSAI, 2000). Quando não estão em movimento, apresentam alinhamento de 45° em

relação à superfície em que está localizado (MEAD, 2011; BLACKWELL, 2005; HALL, 2008) (Figura 9).



Figura 9 - Adulto de *D. citri*, vetor do *huanglongbing* dos citros (HLB).  
Fonte: HALL (2008).

*D. citri* apresenta fases de ovo, ninfa (com cinco ínstaes) e adulto (AUBERT, 1987) (Figura 10) e seu ciclo de vida em regiões de climas tropicais é de aproximadamente, duas a três semanas, ao passo em que em regiões de clima temperado este ciclo pode ser ampliado para até dois meses (HODINKSON, 2009). O estágio reprodutivo do psíldeo é alcançado após 2 a 3 dias da emergência do adulto (AUBERT, 1987; YANG, et. al., 2006). A Figura 10 ilustra o ciclo de vida do inseto.

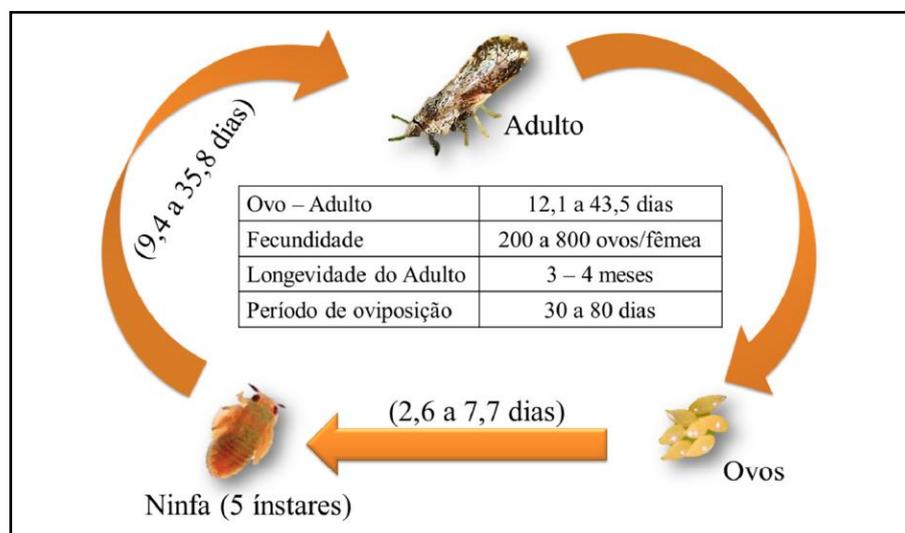


Figura 10 - Ciclo de vida do *D. citri*.  
Fonte: Adaptado de Nava et al. (2007).

Hodkinson (1974) ocorrem várias gerações do *D. citri*, influenciadas de forma direta pelos fatores ambientais e pela espécie hospedeira. Fatores como a altitude, precipitações pluviométricas, umidade relativa do ar e variação de temperatura influenciam diretamente a ocorrência e o desenvolvimento do psílídeo (AUBERT, 1987).

Os principais fatores que influenciam a densidade populacional do psílídeo no hospedeiro citros são os fluxos vegetativos e a temperatura, pois as temperaturas mínimas mais elevadas e as precipitações pluviométricas favorecem o surgimento de fluxos vegetativos e indiretamente o crescimento populacional do inseto (TSAI et al., 2002; ROGERS; STANSLY, 2012).

### 3.8 MATERIAL DE PROPAGAÇÃO

A transmissão da bactéria pode ocorrer por material propagativo contaminado e de forma natural, planta a planta (BOVÉ, 2006). Também o uso de borbulhas contaminadas dará origem a plantas doentes, constituindo-se na principal maneira de propagação da praga a longas distâncias. Devido à importância desta forma de disseminação desta praga, a Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), com a Empresa Baiana de Desenvolvimento Agropecuária (EBDA) e demais representantes da cadeia produtiva decidiram pela elaboração Portaria Estadual nº 243/2011 (Anexo 2) para normatização do sistema de produção de material propagativo de citros (porta-enxerto, borbulhas e mudas) em ambiente protegido e do ingresso e trânsito do referido material no estado da Bahia.

### 3.9 IMPACTOS DA INTRODUÇÃO DO HLB NA CITRICULTURA BAIANA

A fruticultura mundial e brasileira vem sofrendo graves ameaças a sua produção em razão da introdução de novos agentes patológicos de forma constante (ATKINS; CLARK, 2004), e por isso faz-se necessário um serviço oficial de defesa sanitária vegetal para implementar medidas para mitigação do risco, a exemplo de

planos de contingenciamento, delimitação de áreas foco, erradicação e tratamentos fitossanitários (Figura 11).

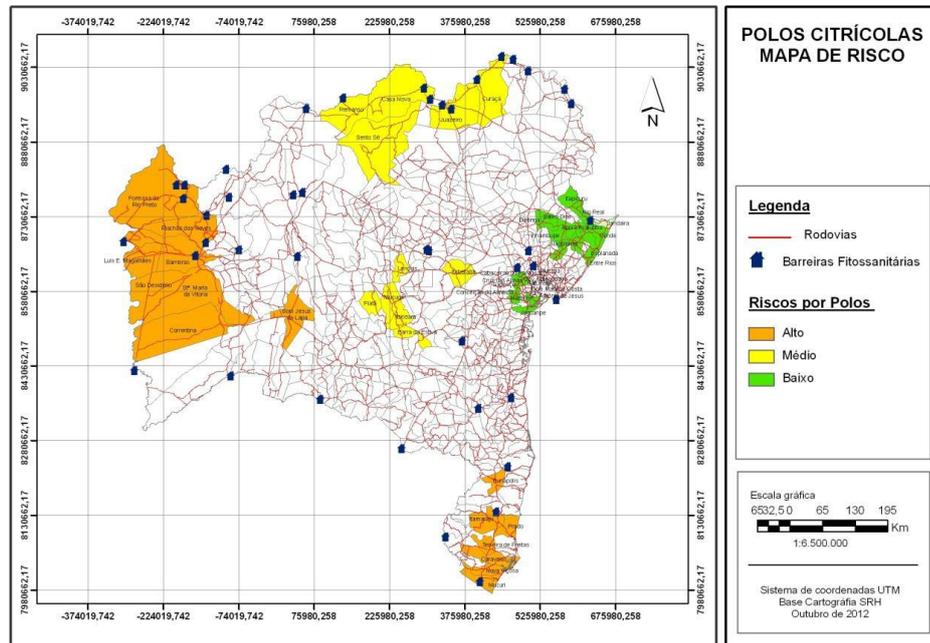


Figura 11 - Regiões produtoras de citros classificadas quanto ao risco de introdução do HLB. Risco alto: Pólos Oeste e Extremo Sul; Risco médio: Pólos Vale do São Francisco e Chapada; Risco baixo: Polos Recôncavo e Litoral Norte. Observa-se também a interface dos pólos citrícolas com as barreiras sanitárias.  
Fonte: Uilian Costa de Almeida (2012).

Estudos econômicos considerando a citricultura baiana revelam que num cenário favorável ao desenvolvimento da praga, ou seja, sem adoção de medidas de controle, os prejuízos serão de 1,8 bilhões de reais para um período de vinte anos (OLIVEIRA et al., 2013). Assim, todo esforço interinstitucional deve ser envidado para retardar o ingresso da praga no Estado.

Tradicionalmente a identificação dos agentes patogênicos tem sido realizada através das manifestações dos sintomas visuais nas plantas, mas, essa técnica exige experiência do avaliador e muitas vezes a acurácia do método pode ser comprometida quando a praga apresentar características passíveis de confundimento com outras enfermidades e até deficiências nutricionais, como no caso do HLB, ademais esse sintomas visuais podem levar até 36 meses para se manifestarem (MILORI et al., 2012), podendo induzir a erro no diagnóstico e na interpretação dos resultados (ATKINS; CLARK, 2004).

Então, há necessidade de métodos diagnósticos cada vez mais precisos e de rápida disponibilização dos resultados. Nessa direção, encontram-se os métodos moleculares, a exemplo do qPCR (Reação em Cadeia de Polimerase quantitativo em tempo real) capaz de amplificar e detectar o DNA bacteriano presente no inseto vetor e na planta infectada, ainda que assintomática (ATKINS; CLARK, 2004). Esta tecnologia tem se revelado um instrumento de suma importância para detecção e identificação de vários agentes patogênicos (ATKINS; CLARK, 2004).

Assim, para atuar de forma estratégica, o serviço oficial de defesa sanitária vegetal de um País, ou Estado deve se apropriar do conhecimento científico para promover uma constante atualização dos métodos de detecção de pragas e atuar de forma mais eficiente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, U. C. **Bahia: Pólos citrícolas, trânsito vegetal e riscos da introdução do Huanglongbing dos citros**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo Baiano Campinas, Cruz das Almas.
- ATKINS; S. D.; CLARK, I. M. Fungal molecular diagnostics: a mini review. **Journal of Applied Genetics**, v. 45, n. 1, p. 3-15, 2004.
- AUBERT, B. Le psylle asiatique des agrumes (*Diaphorina citri* Kuwayama) au Brésil. Situation actuelle et perspectives de lutte. **Fruits**, Paris, v. 42, n.4, p. 225-229, 1987.
- AZEVÊDO, C.L.L. Sistema de produção de citros para o nordeste, 16. Embrapa Mandioca e Fruticultura: Cruz das Almas, BA. Sistema de Produção 16. Versão eletrônica, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/processamento.htm>>. Acesso em: 27 jun. 2014.
- BELASQUE JUNIOR, J.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P., BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J, M. Controle do *Huanglongbing* no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, vol. 31, p. 53-64, 2009.
- BEGAMANN, E.C.; FERNANDES, S.C.S; FARIA, A.M. Surto de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), em pomares cítricos no estado de São Paulo. **Biológico**, v. 56, p. 22-25, 1994.
- BLACKWELL, P. *Diaphorina citri*. EPPO. **Bulletin**. v.35, n.2, p. 331-333, 2005.
- BOSCARIOL-CAMARGO, R.L.; CRISTOFANI-YALY, M.; MALOSSO, A.; COLETTA-FILHO, H.D; MACHADO, M.A.. Avaliação de diferentes genótipos de citros à infecção por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Citrus Research & Technology**, v.3, n.1, p. 85-90, 2010.
- BOVÉ, J. M. *Huanglongbing*: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, p.7-37, 2006.

BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. Phloem and xylem restricted plant pathogenic bacteria. **Plant Science**, v. 163, p. 1083-1098, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva de frutas**. Brasília: IICA : MAPA/SPA, 2007. 102 p. (Agronegócios; v. 7).

CAMPOS, J.S. de. Cultura dos citros. Campinas, SP, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1976. 100p. (**Boletim Técnico, 88**).

COLLETA-FILHO, H.D.; TARGON, M.L.P.N.; TAKITA, M. A.; DE NEGRI, J.D.; POMPEU JUNIOR, J.; MACHADO, M.A.; DO AMARAL, A.M.; MULLER, G.W. First Report of the Causal Agent of *Huanglongbing* (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, p. 1382, 2004.

COLETTA-FILHO, H.D.; CARLOS, E.F. Ferramentas para diagnóstico de *huanglongbing* e detecção de agentes associados: dos sintomas aos ensaios de laboratório. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v.31, n.2, p. 129-143, 2010.

COLETTA-FILHO, H.D. Centro de Citricultura Sylvio Moreira. IAC. Disponível em: <<http://www.centrodecitricultura.br/userfiles/file/HLB/Helvecio.pdf>>. Acesso em: 9 ago. 2014.

COSTA LIMA, A.M. **Insetos do Brasil**; Rio de Janeiro. Escola Nacional de Agronomia, 1942. 327 p. (Série didática, 3: Homóptera).

DA GRAÇA, V.J. Citrus *greening* disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, n. 1, p. 109-136, 1991.

DA GRAÇA, V.J. Biology, history and Word status of *huanglongbing*. **Memorias del Taller Internacional sobre Huanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos**. Hermosillo, México, 2008. 7p.

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

**EPPO. Database on Quarantine pest. *Diaphorina citri***, 2006. Disponível em [http://www.eppo.org/QUARANTINE/Insects/Diaphorine\\_citri/DIAACI\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/QUARANTINE/Insects/Diaphorine_citri/DIAACI_ds.pdf). Acesso em 15 de agosto de 2012.

**FAO**. The Statistics Division. **FAOSTAT**: core production data. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org/site/340/default.aspx>>. Acesso em: 22 julho de 2014.

FIGUEIREDO, M. G. **Retorno econômico dos investimentos em pesquisa e desenvolvimento (P & D) na citricultura paulista**. 2008. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2008, 153p.

FUNDECITRUS: Fundo de Defesa da Citricultura. **Manual Técnico de Greening**. 2009.12p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola, FEALQ**, 2002, 920p.

GOTTWALD, T.R.; DA GRAÇA, J.V.; BASSANEZI, R.B..Citrus *huanglongbing*: the pathogen and its impact. **Plant Health Progress**. v.6, 2007.

GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas dos citros. **Revista Laranja**. v.5, p. 323-362, 1984.

HALBERT S.E e MANJUNATH K.L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and *greening* disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, v. 87, n. p. 330-353, 2004.

HALBERT S.E e NUNEZ C.A. Distribution of the Asian citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribe basic. **Florida Entomologist**, v.83, n. 3, p. 401-402, 2004.

HALL, D.G. Biology, History and World Status of *Diaphorina citri*. **Memorias del Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus Liberibacter* spp) y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*)**. México, 2008, 11p;

HODKINSON, I.D. The biology of the Psylloidea (Homoptera): a review. **Bulletin of Entomological Research**, v.64, p. 325-339, 1974.

HODKINSON, I. D. Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. **Journal of Natural History**, v. 43, n. 1-2, p. 65-179, 2009.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. IAPAR discute a doença HLB dos citros. Disponível em: <http://www.iapar.br>. Acesso em 17 de janeiro de 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA - **IBRAF**. Disponível em <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em 17 de abril de 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **IBGE**, 2013 Disponível em <http://www.ibge.gov.br/sidra>. Acesso em 6 de janeiro de 2015.

KOLLER, O.C. **Citricultura**: laranja, limão e tangerina. Porto Alegre. Editora Rigel, 1994, 446p.

LIU, Y.H.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera:Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, v. 137, n. 3, p. 201-206, 2000.

LOPES, S.A.; FRARE, G.F.; CAMARGO, L.E.A.; WULFF, N.A.; TEIXEIRA, D.C.; BASSANEZI, R.B.; BEATTIE, G.A.C.; AYRES, .A.J. Liberibacters associated with

orange jasmine in Brazil: incidence in urban areas and relatedness to citrus Liberibacters. **Plant Pathology**, v. 59, n. 6, p. 1044-1053, 2010.

MACHADO, M.A.; LOCALI-FABRIS, E.C.; COLLETA-FILHO, H.D. *Candidatus* Liberibacter spp., agentes do *huanglongbing* dos citros. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 25-35, 2010.

**MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.**

**Instrução Normativa nº 53, de 16 de outubro de 2008.** Disponível em:

<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarlegislacao>. Acesso em 12 abril de 2015.

MEAD, F.W.; FASULO, T.R. Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta:Hemiptera: Psyllidae). 2011, 7p.

MILORI, D.M; BOAS, P.V.; VERNÂNCIO, A.L.; CARDENALI, M.C.; FERREIRA, E.J.; MARTINS, P.K.; FREITAS-ASTÚA, J.; BRESOLIN, J. Diagnóstico de Citrus Greening (HLB) utilizando espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS), EDITORES, v. 13560, p. 78-81, 2012.

NAVA, D.E.; TORRES, M.L.G.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. **Biology of *Diaphorina citri* (Hem. Psyllidae) on different hosts and different temperatures.** Journal of applied entomology, Berlin, v. 131, n. 9 e 10, p. 709-715, 2007.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O Retrato da Citricultura Brasileira.** Ribeirão Preto: Citrus BR, p.138, 2010.

OLIVEIRA, J.M.C; DO NASCIMENTO, A.S.; DE MIRANDA, S.H.G.; BARBOSA, C.D.J.; LARANJEIRA, F.F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do *huanglongbing* (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, 2013.

PARRA, J. R. P.; LOPES, J.R. S.; TORRES, M. L. G.; NAVA, D. E.; PAIVA, P. E B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 37-51, 2010.

PASSOS, O.S.; ALMEIDA, C. O.; PEIXOUTO, L.S. Potencialidade da Chapada Diamantina para citricultura. **Bahia Agrícola**, v.7, n.1, p. 32-36, 2005.

PELZ-STELINSKI, K.S.; BRLANSKY, R.H.; EBERT, T.A.; ROGERS, M.E. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, v.103, n. 5, p. 1531–1541, 2010.

REINKING, O.A. Diseases of economic plants in South China. **Philippine Agriculturist**, v.8, p. 109-135, 1919.

ROGERS, M.E.; STANSLY, P.A.; STELINSKI, L.L..Florida citrus pest management guide: Asian citrus psyllid and citrus leafminer. (<http://edis.ifas.ufl.edu/ENY734>). University of Florida, Gainesville, FL, USA, 2012. Acesso em 19 de dezembro de 2014.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA - SEAGRI. **Desempenho da Agricultura Baiana**. Salvador, 2008. 130p.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA - SEAGRI. **Programa de Desenvolvimento Sustentável da Citricultura Baiana**. Salvador, 2010. 20p. (não publicado - prelo).

SPURLING, M.B. Citrus in the Pacific area. In: INTERNACIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1, 1968. Riverside. **Proceedings...** Riverside, CA: University of California, v. 1, p. 93-101, 1969.

TATINENI,S.; SAGARAM, U.S.; GOWDA, S.; ROBERTSON, C.J.; DAWSON, W.O.; IWANAMI, T.; WANG, N. In plant distribution of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”

as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR.

**Phytopatology**, v. 98, n. 5, p. 592-599. 2008.

TEIXEIRA, D.C; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANET, J.L; DA COSTA, P.I.; AYRES, A.J.; BOVE, J. *Candidatus Liberibacter americanus*, associated with citrus *Huanglongbing* (greening disease) in São Paulo state, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1857-1862, 2005.

TSAI, J.H.; LIU, Y.H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1721-1725, 2000.

TSAI, J.H.; WANG, J.J; LIU, Y.H.; Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera:Psyllidae) in Southern Florida. **Florida Entomologist**, v. 85, p. 446-451, 2002.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA., 2010.

**United States Department of Agriculture** – USDA. Foreign Agricultural Service (FAS). Institucional portal. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov>> Acesso em: 22 maio. 2011.

WEBBER, H.J.; REUTHER, W.; LAWTON, H.W. History and development of the citrus industry. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (eds). **The Citrus Industry**. Berkeley, University of California Press, v.1, p.1-39, 1967.

YANG, Y.; HUANG, M.; BEATTIE, G.A.; XIA, J.; OUYANG, Y.; XIONG, J.. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: a *status* report for China. **International Journal of Pest Management**, v. 52, n. 4, p. 343-352, 2006.

## CAPÍTULO 1

### **FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Liviidae) NA REGIÃO DA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Artigo a ser submetido ao Comitê Editorial do periódico científico: Revista Brasileira de Fruticultura (RBF).

## FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (Hemiptera: Liviidae) NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.

Autor: Antonio Campos Lopes.

Orientador: Dr. Antonio Souza do Nascimento.

Co-orientadores: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu, Dr. Ricardo Lopes de Melo e Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva.

**RESUMO:** A Bahia ocupa a segunda posição no *ranking* nacional da produção de citros e a Chapada Diamantina desponta como pólo produtor de frutas de mesa, com destaque para tangerina “Ponkan” e lima ácida “Tahiti”. Dentre as ameaças fitossanitárias à citricultura baiana, o HLB dos citros é a mais importante, decorrente dos danos econômicos relatados mundialmente. O patossistema envolve a bactéria *C. Liberibacter asiaticus*, um inseto vetor (*D. citri*) e dois hospedeiros: todas as espécies comerciais do gênero *Citrus* e murta (*M. paniculata*). Com o objetivo de compreender os fatores relacionados com a sazonalidade da dinâmica populacional do vetor na Chapada Diamantina, no período de março/2011 a fevereiro/2014, foram instaladas e georreferenciadas 30 armadilhas adesivas amarelas em pomares de citros e áreas urbanas contendo murta, dos municípios de Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis e Seabra. Quinzenalmente as armadilhas eram substituídas e encaminhadas à Central de Laboratórios da Agropecuária (CLA) da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) para contagem dos insetos adultos capturados. Para retratar mensalmente a densidade média populacional do vetor, estabeleceu-se o Índice PAM (Psilídeo/Armadilha/Mês). Os valores médios de temperatura (°C), precipitação (mm) e umidade relativa (%) também foram registrados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e médias comparadas pelo teste de Tukey e pelo Teste T, a 5% de probabilidade. O psilídeo esteve presente em todas as coletas realizada, com picos populacionais após período chuvoso, no início do verão, provavelmente devido à emissão de novas brotações.

**Palavras-chave:** Greening, HLB dos citros, huanglongbing, Índice PAM, Psilídeo.

## **POPULATION FLUCTUATION OF *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (Hemiptera: Liviidae) THE CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.**

Author: Antonio Campos Lopes.

Adviser: Dr. Antonio Souza do Nascimento.

Co-advisers: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu, Dr. Ricardo Lopes de Melo e Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva.

**ABSTRAT:** Bahia ranks second in the national ranking of citrus production and the Chapada Diamantina emerging as production hub table fruit, especially tangerine "Ponkan" and acid lime "Tahiti". Among the phytosanitary threats to Bahia citrus, citrus HLB is the most important, due to the reported economic damage worldwide. The pathosystem involves the bacterium *Ca. Liberibacter asiaticus* an insect vector (*D. citri*) and two hosts: all commercial species of the genus *Citrus* and myrtle (*M. paniculata*). In order to understand the factors related to the seasonality of the population dynamics of the vector in the Chapada Diamantina, from March / 2011 to February / 2014 were installed and georeferenced 30 yellow sticky traps in citrus orchards and urban areas containing myrtle, of cities, Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis and Seabra. Every two weeks the traps were replaced and sent to the Agricultural Labs Center (CLA) of the Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) to count the adult insects captured. To portray the monthly average population density of the vector, established the Index PAM (Psyllid / Trap / Month). The mean values of temperature (° C), precipitation (mm) and relative humidity (%) were also recorded. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means compared by Tukey test and T Test at 5% probability. The psyllid was present in all collections held, with population peaks after rainy season in early summer, probably due to the issuance of new shoots.

**Key-words:** Greening, Citrus HLB, Huanglongbing, Index PAM, Psyllid.

## 1 INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira lidera a produção mundial de laranja (CITRUS BR, 2015), sendo responsável por 25% do total produzido (47 milhões de toneladas) e 61% da produção mundial de suco de laranja (1,33 milhão de toneladas), exportando 98% da sua produção, com participação de 86% do mercado mundial (NEVES et al., 2010).

A Bahia destaca-se como o segundo no ranking da produção nacional de citros com 69.592 hectares de área colhida e uma produção de 1.125.134 toneladas (IBGE, 2013). A região da Chapada Diamantina desponta como polo produtor de frutas de mesa, com destaque para tangerina “Ponkan” e lima ácida “Tahiti”, além de ser considerado como área de médio risco a introdução do HLB (ALMEIDA, 2012).

Um dos fatores que contribui para a elevação dos custos de produção na citricultura brasileira é a ocorrência de pragas e doenças capazes de causar danos irreversíveis às plantas, ameaçando a quantidade e qualidade das frutas cítricas, podendo levar à erradicação completa de pomares, configurando risco potencial de inviabilidade econômica como é o caso do HLB.

Caso *Huanglongbing* (HLB, *ex-greenig*) venha a ser introduzido no estado da Bahia acarretará um prejuízo de 1,8 bilhões de reais (OLIVEIRA et al., 2013). Esta praga afeta todas as variedades de citros, e normalmente o tempo entre a manifestação dos primeiros sintomas até a morte econômica do pomar não ultrapassa dez anos (GOTTWALD et al., 2007). O inseto vetor, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908, é o responsável pela disseminação da doença (BOVÉ, 2006).

A Bahia ainda apresenta o *status* de área livre de HLB (CASTRO et al, 2010) reconhecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento não existindo relatos oficiais da presença do complexo bacteriano até o presente momento.

A região da Chapada Diamantina destaca-se como importante pólo produtor de frutas de mesa, como os cultivos de laranjeiras doce, limeira ácida tahiti e tangerineira por suas condições edafo-climáticas favoráveis, além de sua posição

geográfica privilegiadas (PASSOS et al., 2005), tendo sido classificada como sendo de médio risco a introdução da doença bacteriana HLB (ALMEIDA, 2012).

O monitoramento populacional do inseto vetor é uma prática necessária para estabelecer estratégias de controle da doença (RORIZ et al., 2011). Conhecer a flutuação populacional do inseto vetor nas áreas comerciais de citros, e em plantas de murta (*Murraya paniculata*), foi o objetivo deste trabalho.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no período de março de 2011 a fevereiro de 2014, na região da Chapada Diamantina, abrangendo os municípios de Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis e Seabra, no estado da Bahia.

Nos municípios de Bonito, Iaçú e Itaberaba foram selecionadas propriedades rurais com áreas de produção comercial acima de 100 hectares, com sistema de irrigação localizada e em quadras com plantas com mais de seis anos e em fase de produção. As fazendas localizadas nos municípios de Iaçú e Itaberaba estão localizadas a uma altitude média de 230 e 238 metros respectivamente, enquanto no município de Bonito acima de 819 metros de altitude. No município de Seabra foram selecionadas pequenas propriedades citrícolas com áreas inferiores a um hectare, além de áreas consideradas de risco para a introdução da praga, e no município de Lençóis apenas áreas consideradas de risco, sendo que, estão situadas a uma altitude média de 881 e 540 metros respectivamente.

### 2.2 ARMADILHAMENTO

Foi instalado um total de 30 armadilhas adesivas amarelas, a uma altura média de dois metros de altura (CHIARADIA et al., 2008), sempre no terço superior da planta hospedeira, preferencialmente próximo a uma brotação recém emitida, sendo seis em cada um dos cinco municípios estudado, em área de produção comercial de citros, em pomares de fundo de quintal e em áreas consideradas de risco: margem de rodovias, aeroporto de Lençóis, além de áreas com presença de murta, *Murraya paniculata* (L.) Jack (Figura 1), por ser considerada o hospedeiro preferencial para o vetor (AUBERT, 1987; IKEDA; ASHIHARA, 2008) em razão de oferecer condições adequadas de alimentação, desenvolvimento e reprodução (NAVA et al., 2007), devido às constantes brotações (LIU; TSAI, 2000).

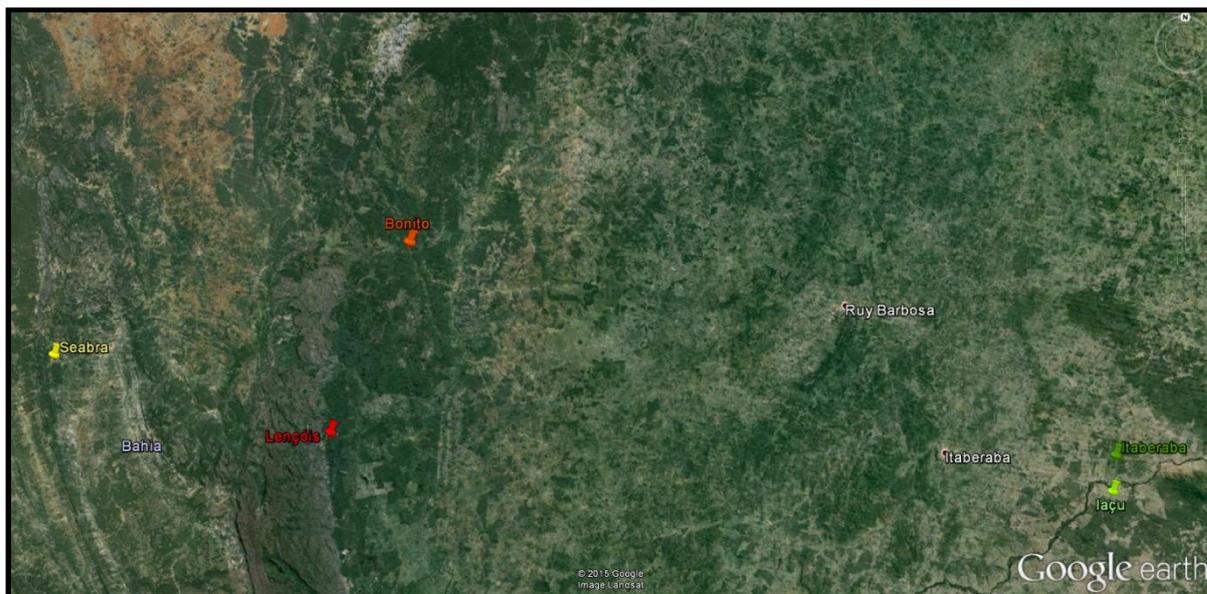


Figura 1 - Representação da localização geográfica dos pontos de monitoramento, por municípios, na Chapada Diamantina: Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis, Palmeiras e Seabra. Os pinos verde claros representam áreas de produção comercial de lima ácida “tahiti” no município de Iaçú; Os pinos verde escuro representam áreas de produção comercial de lima ácida “tahiti” no município de Itaberaba; pino laranja área de produção comercial de tangerina ponkan no município de Bonito; o pino vermelho área com presença de citros, murta e planta não hospedeira no município de Lençóis e o pino amarelo área com plantio de citros e de murta no município de Seabra.

Fonte: Google Earth, 2015.

### 2.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ARMADILHAS

Cada armadilha foi identificada por meio de uma série formada de três algarismos: 1.1.2; 1.1.3 a 1.1.n, onde o 1º algarismo representando a Chapada Diamantina, o 2º algarismo a região pesquisada e o 3º a localização da armadilha em uma determinada planta, todas elas georeferenciadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Localização e caracterização das áreas localizadas nas cinco regiões pesquisadas.

Código	Região	Município	Altitude	Coordenada Geográficas		Espécie
				S	W	
1.1.1	Itaberaba	Itaberaba	232	12°32'36,5"	40°00'26,7"	Lima Acida Tahiti
1.1.2	Itaberaba	Itaberaba	232	12°32'37,8"	40°00'45,9"	Lima Acida Tahiti
1.1.3	Itaberaba	Itaberaba	248	12°31'39,9"	40°00'40,4"	Lima Acida Tahiti
1.1.4	Itaberaba	Itaberaba	240	12°31'20,8"	40°00'57,2"	Lima Acida Tahiti
1.1.5	Itaberaba	Itaberaba	245	12°32'21,7"	40°01'03,0"	Lima Acida Tahiti
1.1.6	Itaberaba	Itaberaba	231	12°32'48,8"	40°01'02,9"	Lima Acida Tahiti
1.2.1	laçu	laçu	228	12°35'35,2"	40°01'04,9"	Lima Acida Tahiti
1.2.2	laçu	laçu	230	12°35'25,7"	40°00'45,0"	Lima Acida Tahiti
1.2.3	laçu	laçu	230	12°36'13,7"	40°01'19,4"	Lima Acida Tahiti
1.2.4	laçu	laçu	236	12°35'37,6"	40°01'37,0"	Lima Acida Tahiti
1.2.5	laçu	laçu	232	12°35'12,1"	40°01'36,7"	Lima Acida Tahiti
1.2.6	laçu	laçu	228	12°35'27,3"	40°01'16,9"	Lima Acida Tahiti
1.3.1	Bonito	Bonito	829	12°12'24,8"	41°18'26,0"	Tangerina Ponkan
1.3.2	Bonito	Bonito	814	12°12'35,3"	41°18'29,9"	Tangerina Ponkan
1.3.3	Bonito	Bonito	812	12°12'41,1"	41°18'27,9"	Tangerina Ponkan
1.3.4	Bonito	Bonito	818	12°12'45,5"	41°18'34,7"	Tangerina Ponkan
1.3.5	Bonito	Bonito	823	12°12'39,8"	41°18'39,8"	Tangerina Ponkan
1.3.6	Bonito	Bonito	819	12°12'54,3"	41°18'39,8"	Tangerina Ponkan
1.4.1	Seabra	Seabra	833	12°22'45,7"	41°46'57,6"	Tangerina Ponkan
1.4.2	Seabra	Seabra	847	12°25'44,7"	41°46'58,6"	Murta
1.4.3	Seabra	Seabra	796	12°29'21,4"	41°43'30,5"	Murta
1.4.4	Seabra	Seabra	1.022	12°26'42,6"	41°51'53,1"	Tangerina Mexerica
1.4.5	Seabra	Seabra	980	12°26'04,3"	41°50'33,2"	Laranja Bahia
1.4.6	Seabra	Seabra	811	12°26'46,9"	41°45'03,0"	Laranja Pera
1.5.1	Lençóis	Lençóis	379	12°33'52,9"	41°23'20,4"	Laranja Bahia
1.5.2	Lençóis	Lençóis	378	12°33'19,6"	41°22'46,2"	Murta
1.5.3	Lençóis	Palmeiras	911	12°27'42,4"	41°28'04,8"	Não Hospedeira
1.5.4	Lençóis	Lençóis	403	12°33'38,0"	41°23'14,6"	Murta
1.5.5	Lençóis	Lençóis	490	12°29'13,3"	41°16'27,2"	Não Hospedeira
1.5.6	Lençóis	Palmeiras	684	12°22'43,2"	41°31'30,1"	Tangerina Ponkan

As armadilhas ficavam em exposição no campo, por um período de quinze dias, após o qual eram coletadas e substituídas por novas, sempre no mesmo dia da semana, acondicionadas em um conjunto “caixa de isopor e caixilho” (FIGURA 2) com as dimensões de 29,0 cm x 35,0 cm x 45,0, o qual era transportado para o laboratório.



Figura 2 - Conjunto caixa de isopor e caixilho de madeira com duas divisões paralelas para fixação das armadilhas.

Fonte: EMBRAPA.

## 2.4 AVALIAÇÃO

As armadilhas coletadas foram encaminhadas para o laboratório do Centro de Laboratórios da Agropecuária (CLA), da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), em Salvador/BA para a contagem dos insetos com auxílio de lupa articulada (Figura 3) e de uma planilha quadriculada impressa, lado “A” e lado “B”, com o mesmo número de quadrículas da armadilha, sendo anotado o número de psilídeo encontrado em cada quadrícula.

Os dados foram registrados em planilhas eletrônicas para cálculo do número de insetos capturados, utilizando-se o índice PAM (psilídeo/armadilha/mês) para quantificar a população do psilídeo-asiáticos-dos-citros.



Figura 3 - Visão geral da operação de leitura, em laboratório, dos insetos capturados nas armadilhas, com auxílio de lupa articulada.

Fonte: EMBRAPA.

## 2.5 DADOS CLIMÁTICOS

Os dados climáticos foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia – INMET relativos à pluviosidade total (mm), temperatura média (°C) e umidade relativa média compensada (%) e da estação meteorológica existente na Fazenda Santa Cruz, durante todo o período do experimento.

## 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas análises utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute, 2002<sup>©</sup>), ANOVA, e após esta Análise de Variância, os dados foram submetidos à transformação de Log, e posteriormente ao Teste de Tukey, 5% de probabilidade, considerando como tratamentos as diferentes localidades e tipos de hospedeiros. Também foram realizadas análises através do programa estatístico StatDisk 12.0.1 (v.2013)<sup>©</sup> e os resultados das médias de PAM submetidos individualmente para cada planta hospedeira, citros e murta, a Análise por meio do Teste T com 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 DENSIDADE DE *D. citri* NA CHAPADA DIAMANTINA

No período de março de 2011 a fevereiro de 2014, efetuou-se a leitura de 1.080 armadilhas coletadas nos municípios estudados, Bonito, Iaçú, Itaberaba, Lençóis e Seabra, tendo sido capturado um total de 2.256 indivíduos (Figura 4).

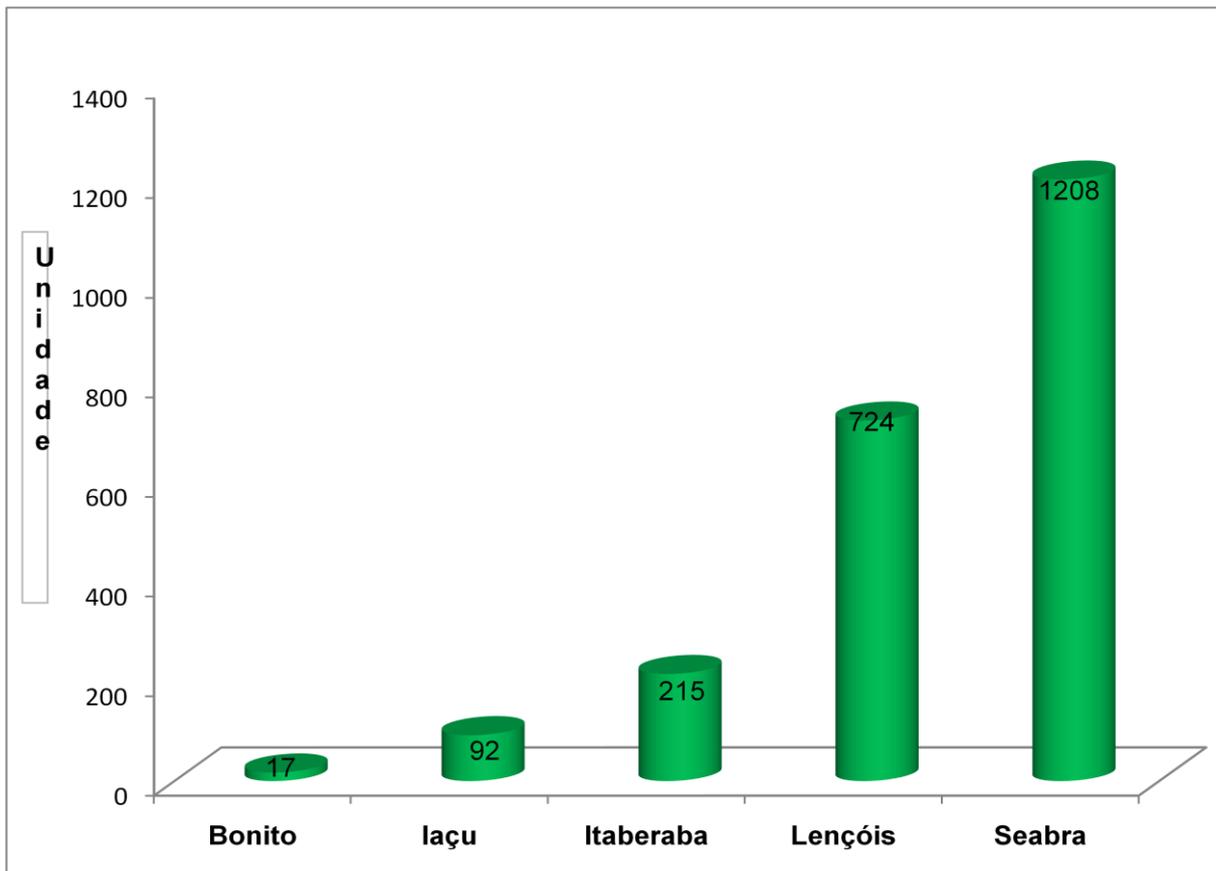


Figura 4 - Número total de psilídeos capturados nos cinco municípios estudados. Itaberaba, BA 2014.

Na Figura 4 verifica-se que nos municípios de Seabra e Lençóis foi capturados a maioria dos psilídeos, 1.208 e 724, respectivamente. Enquanto, nos municípios de Bonito, Iaçú e Itaberaba foram capturados apenas 324 psilídeos, isto é apenas 14,36 % do total de psilídeos capturados em toda a região da Chapada Diamantina.

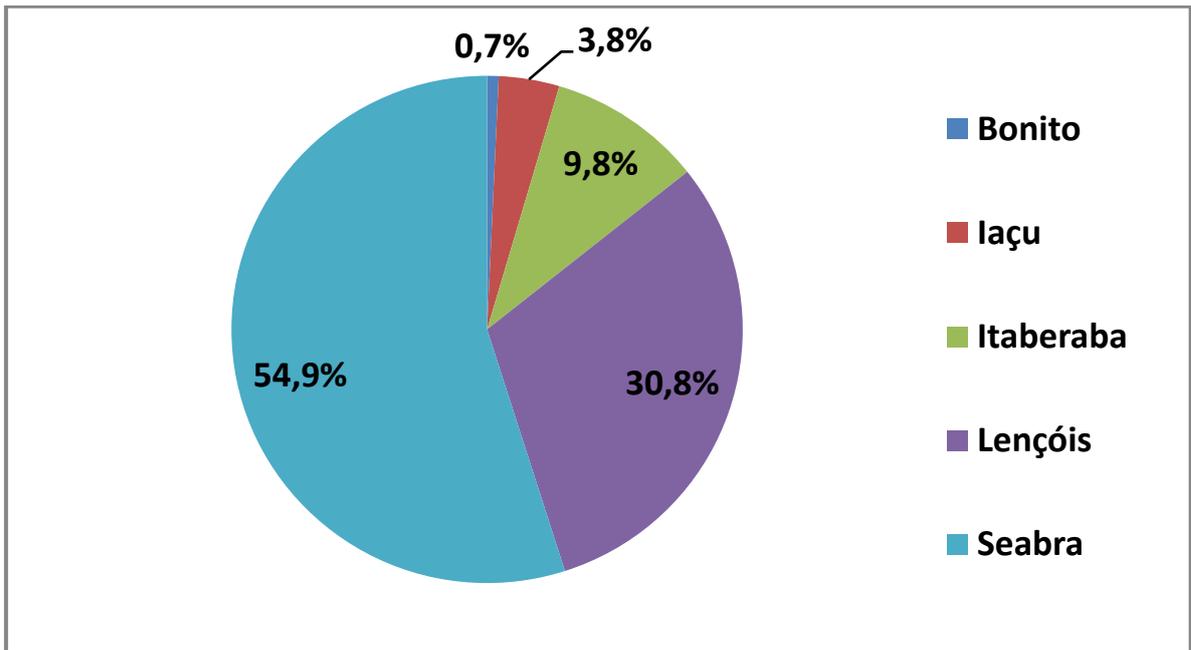


Figura 5 - Percentual de psilídeos capturados em armadilhas adesivas amarelas por município estudado. Itaberaba, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.

O percentual de *D. citri* adultos capturados também foi avaliado no presente estudo. Conforme demonstra a Figura 5, os maiores percentuais de psilídeos adultos capturados foram verificados no município de Seabra com 54,9% dos indivíduos capturados, sendo, portanto, o município que apresenta maior risco para a entrada e disseminação da bactéria *C. Liberibacter* spp.

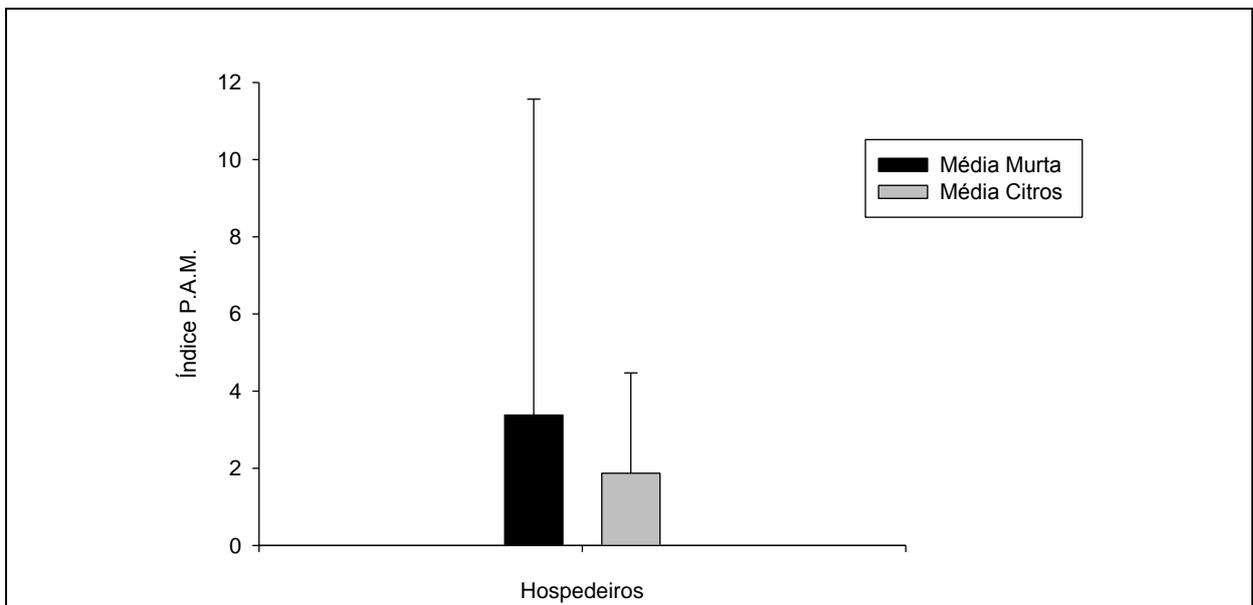


Figura 6. Número médio de adultos de *D. citri*, calculado por meio do índice PAM (psilídeos/armadilha/mês), capturados nas armadilhas adesivas amarelas instaladas em hospedeiro citros e em hospedeiro murta a 1,5 m do solo. As barras sobre as colunas representam o erro padrão da média.

Na Figura 6 embora se verifique uma maior captura de *D. citri* em armadilhas adesivas amarelas instaladas em hospedeiros do tipo murta em relação aquelas instaladas em hospedeiros do tipo citros, entretanto quando submetidas às análises estatísticas através do Test T os resultados demonstram que não houve diferença significativa, quando se compara, de maneira geral, os hospedeiros murta e citros, para a região da Chapada como um todo ( $T_{0.05,32} = 2.0369$ ), sendo as médias  $\pm$  DP respectivas iguais a  $3.4 \pm 8.19$  e  $1.9 \pm 2.60$  psilídios/armadilha/mês ou índice P.A.M.

Estes resultados diferem a de outros estudos que menciona a murta, *Murraya paniculata* (L.) Jack como sendo uma planta hospedeira preferencial do inseto vetor, *D. citri* (AUBERT, 1987; IKEDA; ASHIHARA, 2008), pelo fato dele encontrar condições adequadas para o seu desenvolvimento: alimentação, desenvolvimento e reprodução (NAVA et al., 2007). Provavelmente as brotações constantes da murta colaboram para sustentar a população, principalmente na ausência de brotações dos pomares cítricos (TSAI; LIU, 2000).

Este fato provavelmente ocorreu devido existências de armadilhas instaladas em murtas em local com grande quantidade de partículas de poeiras no ar e de idade avançada, fatos que contribuíram para a baixa emissão de novas brotações, pois a incidência do vetor parece estar relacionada com a presença de novas brotações, conforme descrito por MEAD (2007).

### 3.2 ÍNDICE PAM POR HOSPEDEIRO (CITROS E MURTA) E POR PLANTA CONSIDERADA NÃO HOSPEDEIRA DE *D. citri* CAPTURADOS NA REGIÃO DA CHAPADA DIAMANTINA

Tabela 2 - Índice PAM registrados em cinco municípios da Chapada Diamantina, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.

Município	Nº de Armadilha	Hospedeiro	PAM / hospedeiro	PAM / média por município
Bonito	6	Citros (Lima Ácida "Tahiti")	0,0009	0,0009
laçu	6	Citros (Lima Ácida "Tahiti")	0,0050	0,0050
Itaberaba	6	Citros (Lima Ácida "Tahiti")	0,0119	0,0119
Lençóis	2	Citros	0,0491	
	2	Murta	0,0974	0,0429
	2	Planta não hospedeira	0,0016	
Seabra	4	Citros	0,0957	
	2	Murta	0,0084	0,0669
TOTAL	30			

A Tabela 2 revela que o índice populacional de *Diaphorina citri* adulto nos municípios de Bonito, laçu e Itaberaba é baixo, quando comparados com os dados do Recôncavo Baiano, fator que deverá contribuir positivamente para a não disseminação do agente causal do HLB, a bactéria *Candidatus Liberibacter spp.*, nestes municípios.

O baixo índice PAM no município de Bonito pode ser justificado pela proximidade da área de plantio, onde estavam instaladas as armadilhas, vizinha a áreas de plantio de goiaba, que é uma cultura atacada por um grande número de insetos, considerados pragas, tendo sido registrado por Mariconi e Soubihe Sobrinho (1961) mais de cem espécies presentes no Brasil, havendo necessidade de frequentes aplicações de inseticidas, e que por deriva poderia contribuir para o controle da população do *D. citri*.

Enquanto nos municípios de laçu e Itaberaba a baixa densidade populacional está relacionada, provavelmente, pelo isolamento de outras áreas com produção de citros e a não existência de outras espécies hospedeiras na região, como a murta.

As maiores densidades populacionais foram registradas nos municípios de Lençóis e Seabra, provavelmente devido à existência de uma grande quantidade de espécies hospedeiras, conhecida pelo nome popular de murta, *M. paniculata*, do

local onde as armadilhas estavam instaladas. E a existência de hortos no município de Seabra pode se constituir em “porta de entrada” para a bactéria do HLB dos citros.

Fato que pode ser observado com facilidade através da análise do índice PAM no município de Lençóis e que foi mascarada no município de Seabra, em razão, das armadilhas estarem instaladas em murta mais velha ou em local de grande quantidade de partículas de poeiras no ar, fatos que contribuíram para a baixa emissão de brotos novos.

### 3.3 FLUTUAÇÕES POPULACIONAIS DE *D. citri* EM CINCO MUNICÍPIOS DA CHAPADA DIAMANTINA

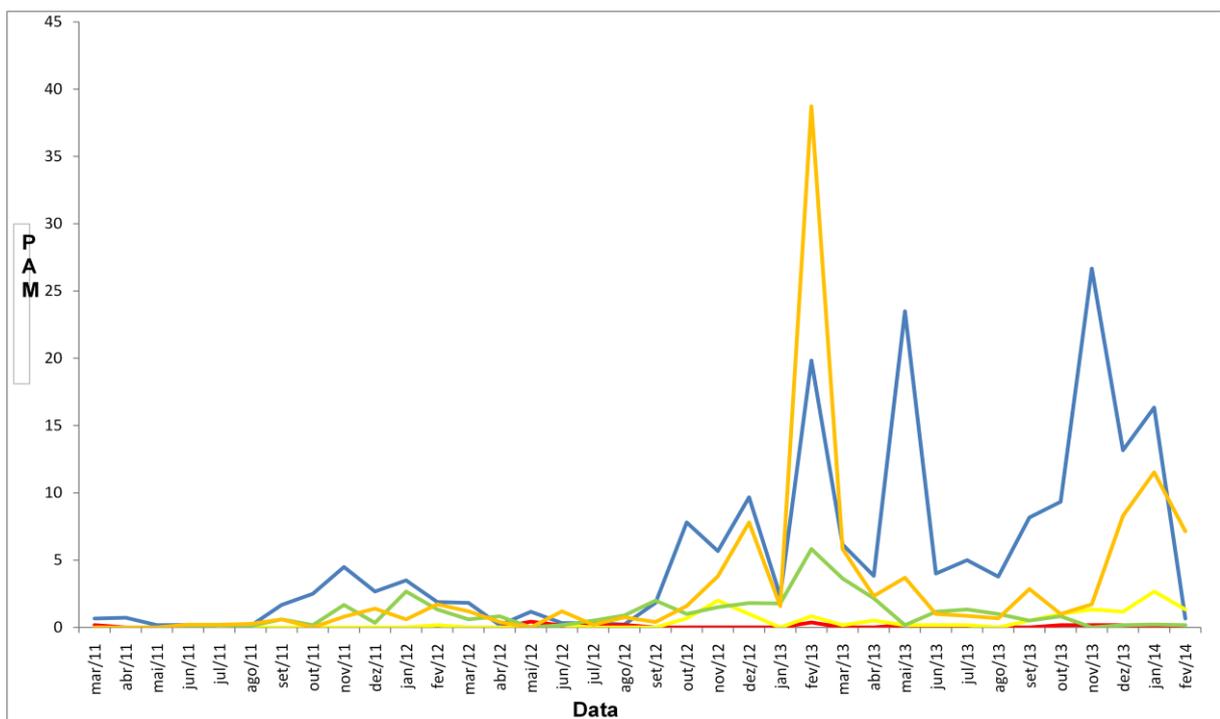


Figura 7 - Flutuação populacional de *D. citri* nos municípios de: Bonito representada pela linha vermelha, laço representada pela linha amarela, Itaberaba representada pela linha verde, Lençóis representada pela linha laranja e Seabra representada pela linha azul, na região da Chapada Diamantina no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.

Na Figura 7 observa-se que foram encontrados psíldeos adultos em todas as cinco regiões pesquisadas, sendo o município de Seabra a que apresentou maior quantidade e freqüência de indivíduos capturados principalmente, nos períodos de outubro de 2011 a janeiro de 2012 e outubro de 2012 a janeiro de 2014, atingindo

com pico de 26,667 em novembro de 2013, entretanto o maior pico populacional foi obtido no município de Lençóis com índice PAM de 38,727.

### 3.4 FLUTUAÇÕES POPULACIONAIS DE *D. citri* X FATORES CLIMÁTICOS EM CINCO MUNICÍPIOS DA CHAPADA DIAMANTINA.

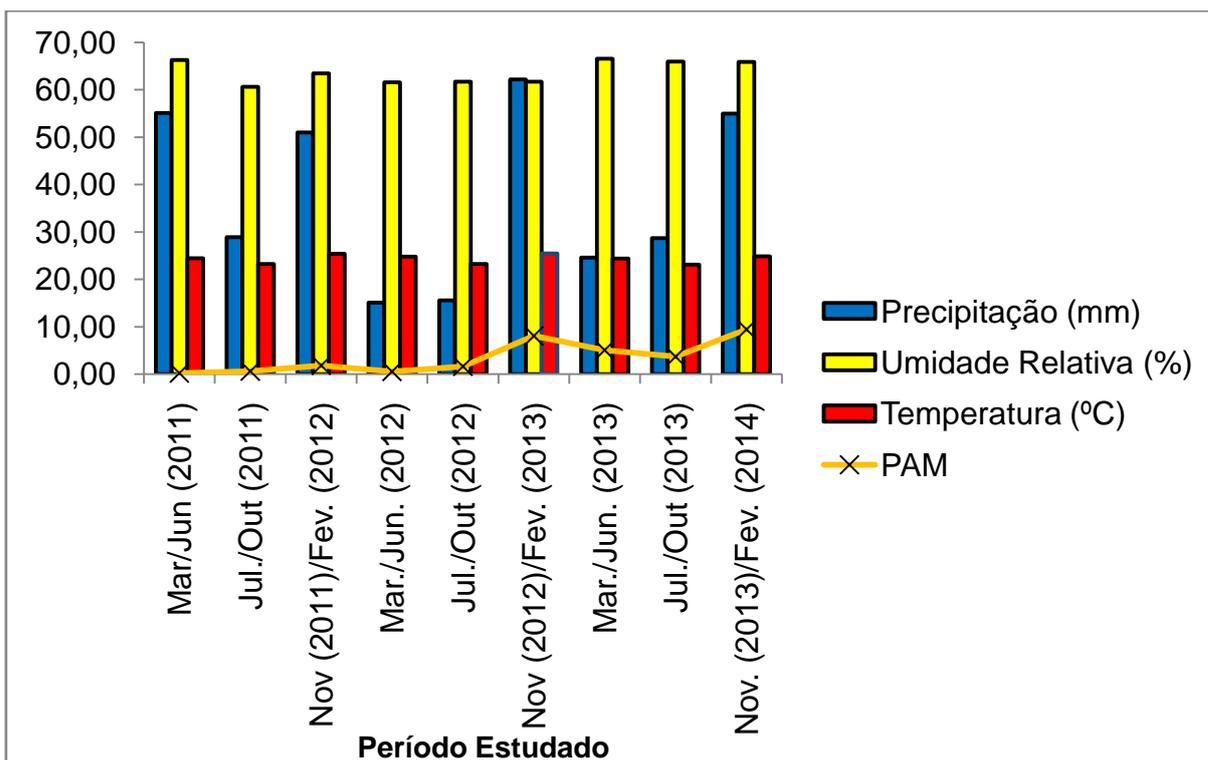


Figura 8 - Flutuação da população de *D. citri* (PAM) representada pela linha laranja em relação às variações climáticas de precipitação (mm) representada pela linha azul, temperatura (°C) representada pela linha vermelha e umidade relativa (%) representada pela linha amarela registrados para a região da Chapada Diamantina.

Ao observar a Figura 8 verifica-se a presença do *D. citri* adulto em praticamente todo o período estudado, de março de 2011 a fevereiro de 2014, obtendo os maiores índices PAM logo após períodos de elevação pluviométrica, provavelmente devido às emissões de novas brotações, período favorito para o inseto para realização de suas atividades de alimentação e oviposição, em razão do aumento de fluxo vegetativo (YAMAMOTO et al., 2001; SKELLEY; HOY, 2004; CHONG; RODA; MANNION, 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

É possível contatar um aumento do índice PAM o período e novembro de 2012 a fevereiro de 2013, logo após um período chuvoso e que contribuiu para emissão de novos ramos das plantas hospedeiras. E um segundo pico populacional

no período de novembro de 2013 a fevereiro de 2014 que também aconteceu após um período chuvoso.

Estes dados quando submetidos a análise de variância, ANOVA, com médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e o Teste T a 5% de probabilidade, demonstraram a existência de uma correlação positiva entre o índice PAM em hospedeiros citros e UR (%), bem como o índice PAM de murta e Temperatura (°C).

## 4 CONCLUSÕES

4.1 Embora tenha sido constada a presença do psíldeo em todas as áreas monitoradas, verificou-se uma maior abundância nos municípios de Lençóis e Seabra.

4.2 Adultos de *D. citri* ocorreram praticamente em todos os meses do período estudado e seu pico populacional verificou-se no mês de fevereiro de 2013, nos municípios de Lençóis e Seabra, logo após precipitações totais de 255,4 mm e 113,2 mm respectivamente.

4.3 Havendo a introdução da bactéria do HLB na região, o risco de disseminação é potencializado em Seabra, devido ao elevado índice populacional do vetor.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, U. C. **Bahia: Pólos citrícolas, trânsito vegetal e riscos da introdução do Huanglongbing dos citros**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo Baiano Campinas, Cruz das Almas.
- AUBERT, B. Le psylle asiatique des agrumes (*Diaphorina citri* Kuwayama) au Brésil. Situation actuelle et perspectives de lutte. **Fruits**, Paris, v. 42, n.4, p. 225-229, 1987.
- BOVÉ, J. M. *Huanglongbing*: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal Plant Pathology**, p.7-37, 2006.
- CASTRO, M. E. A.; BEZERRA, A. R.; LEITE, W. A.; MUNDIN FILHO, W.; NOGUEIRA, N. D. Situação e ações do estado de Minas Gerais frente ao *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.2, p.163-168, 2010.
- CHIARADIA, L.A.; MILANEZ, J.M.; SMANIOTTO, M.A.; DAVILA, M.R.F. Flutuação populacional e altura de captura de *Diaphorina citri* em pomar de citros. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 7, n. 2, p. 157-159, 2008.
- CHONG, J.H.; RODA, A.L.; MANNION, C.M. Density and Natural Enemies of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), in the Residential Landscape of Southern Florida. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, v.27, n.1, p.33-49. 2010.
- CITRUS BR. Disponível em <http://www.citrusbr.com>. Acesso em 19 de abril de 2015.
- GOTTWALD, T. R. ; DA GRAÇA, J. V.; BASSANEZI, R. B. Citrus *Huanglongbing*: The Pathogen and Its Impact. **Plant Health Progress**, v. 6, 2007.
- IKEDA, K.; ASHIHARA, W. Preference of adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) for *Murraya paniculata* and Citrus unshiu. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology (Japan)**, v.52, n.1, p.27-30, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, IBGE, 2013.  
Disponível em <http://www.ibge.gov.br/sidra>. Acesso em 29 de dezembro de 2014.

LIU, Y.H.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera:Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, v. 137, n. 3, p. 201-206, 2000.

MARICONI, F.A.M.; SOUBIHE SOBRINHO, J. **Contribuição para o conhecimento de alguns insetos que depredam a goiabeira** (*Psidium guajava* L.). Piracicaba: Instituto de Genética – ESALQ - USP, 1961. 57p. **Publicação Científica**.

NAVA, D.E.; TORRES, M.L.G.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hemiptera, Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9-10, p. 709-715, 2007.

NEVES, M.F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O Retrato da Citricultura Brasileira**. Ribeirão Preto: CitrusBR, p.144, 2010.

OLIVEIRA, J.M.C; DE NASCIMENTO, A.S.; DE MIRANDA, S.H.G.; BARBOSA, C.D.J.; LARANJEIRA, F.F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do *huanglongbing* (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, n.3, 2013.

RORIZ, A. K. P.; BARBOSA, C. D. J.; SOUZA, E. S.; ALMEIDA, D. O; VELAME, K. V.C.; SILVA, S. X. B.; OLIVEIRA, J. M.C.; NASCIMENTO, A. S. do; ANDRADE, E. C. Monitoramento populacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), vetor do HLB e da presença de *Candidatus Liberibacter* nas regiões produtoras de citros no Estado da Bahia. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2011.

SKELLEY, L.H; HOY, M.A. Asynchronous rearing method of the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, v.29, p.14-23, 2004.

TSAI, J.H.; LIU, Y.H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1721-1725, 2000.

YAMAMOTO, P.T.; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região Norte do Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, v.30, n.1, p.165-170, 2001.

**United States Department of Agriculture** – USDA., 2010 Foreign Agricultural Service (FAS). Institucional portal. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov>> Acesso em: 22 maio. 2011.

## CAPÍTULO 2

### MONITORAMENTO DA INVASÃO DA BACTÉRIA *Candidatus Liberibacter asiaticus* NA REGIÃO DA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico: Florida Entomologist.

## **MONITORAMENTO DA INVASÃO DA BACTÉRIA *Candidatus Liberibacter asiaticus* NA REGIÃO DA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA.**

Autor: Antonio Campos Lopes

Orientador: Dr. Antonio Souza do Nascimento

Co-orientadores: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu, Dr. Ricardo Lopes de Melo e Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva

**RESUMO:** O HLB é a praga mais destrutiva da citricultura mundial em razão dos danos econômicos, inexistência de tratamento curativo, além de sua rápida disseminação e evolução nos pomares afetados e inexistência de variedades de citros resistentes. A bactéria *Ca. Liberibacter asiaticus* (Las), é um dos agentes causais do HLB, tendo como vetor o *Diaphorina citri* que coloniza o floema das plantas hospedeiras: *Citrus sp.* e *Murraya paniculata*. Esse trabalho teve como objetivo monitorar a invasão da bactéria por meio de diagnose por PCR em Tempo Real – qPCR de amostras do inseto vetor coletados em municípios da Chapada Diamantina, estado da Bahia. A referida técnica monitora a emissão de fluorescência a cada ciclo de amplificação do DNA alvo e seus resultados são relacionados a valores de Ct (cycle threshold). Neste trabalho foram coletadas e georreferenciadas vinte e uma amostras em diferentes áreas com frequência trimestral, nos dois primeiros anos, tendo sido ampliado depois para quinzenal, no último ano. As quais foram acondicionadas em microtubos contendo álcool a 70%, devidamente identificados e encaminhados para o Laboratório de Virologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A metodologia para extração do DNA genômico do vetor foi baseado no Protocolo de DENG et al.(2006) com modificações usando amostras compostas por no mínimo cinco psilídeos adultos ou dez ninfas. Nas análises de qPCR foram identificadas duas amostras do município de Seabra com valores de Ct de 23 e 29, sendo consideradas positivas. As informações obtidas no presente estudo serão fundamentais para subsidiar ações de defesa agropecuárias no estado da Bahia, tendo em vista a necessidade iminente de assumir decisão e adotar medidas mitigatórias de forma antecipada à manifestação da doença nos pomares de citros.

**Palavras chave:** Análise molecular, Diagnóstico, HLB, Invasão biológica, Pragas quarentenárias e PCR quantitativo.

## **MONITORING OF INVASION BACTERIA *Candidatus Liberibacter asiaticus* THE CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA**

Author: Antonio Campos Lopes

Adviser: Dr. Antonio Souza do Nascimento

Co-advisers: Dr. Emanuel Felipe Medeiros Abreu, Dr. Ricardo Lopes de Melo e Dr<sup>a</sup>. Suely Xavier de Brito Silva

**ABSTRAT:** The HLB is the most destructive pest of citrus worldwide because of economic damage, lack of curative treatment, and its rapid spread and evolution in affected orchards and lack of resistant citrus varieties. The bacterium *Ca. Liberibacter asiaticus* (Las) is one of the causative agents of HLB, as a vector having the *Diaphorina citri* phloem colonizing host plants *Citrus* sp. and *Murraya paniculata*. This study aimed to monitor the invasion of bacteria through diagnosis by Real-Time PCR - qPCR vector insect samples collected in in cities of Chapada Diamantina, Bahia. This technique monitors the fluorescence emission at each target DNA amplification cycle and the results are related to Ct values (cycle threshold). In this work we were collected and geo-referenced twenty-one samples in different areas on a quarterly basis in the first two years, and was later expanded to fortnightly, last year. Which it was placed in microtubes containing 70% alcohol, properly identified and sent to the Virology Laboratory of the Embrapa Cassava and Fruticulture. The methodology for extraction of genomic DNA vector was based on the Protocol DENG et al. (2006) with modifications using samples comprising at least five adult psyllids or ten nymphs. In the analysis of qPCR were identified two Seabra municipality of samples with values of Ctde 23:29, being considered positive. The information obtained in this study will be crucial to subsidize agricultural defense actions in the state of Bahia, in view of the imminent need to take decision and adopt mitigation measures in advance to the manifestation of the disease in citrus orchards.

**Key-words:** Molecular analysis, diagnostic, HLB, biological invasion, quarantine pests and PCR quantitative.

## 1. INTRODUÇÃO

*Huanglongbing* dos citros (HLB, *ex-greening*) é considerada a praga mais severa da citricultura mundial (DA GRAÇA, 1991; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006; OLIVEIRA et al., 2013), podendo ocasionar perdas econômicas expressivas comprometendo toda a cadeia da citricultura, por sua rápida disseminação, não existir tratamento curativo e nem variedades resistentes (BOVÉ, 2006; BELASQUE JR et al, 2009).

Atualmente, são conhecidas três espécies da bactéria causadora do HLB no mundo: *Candidatus Liberibacter africanus* (Laf), *Ca. L. americanus* (Lam) e a *Ca.L. asiaticus* (Las) (JAGOUEIX et al., 1994; GARNIER et al., 2000; TEIXEIRA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2013) sendo que as duas últimas já foram identificadas no Brasil.

A bactéria foi detectada inicialmente no Brasil em 2004, na região de Araraquara, estado de São Paulo, tendo sido diagnosticada a presença da bactéria Las (COLETTA-FILHO et al., 2004) sendo posteriormente também identificada a presença da Lam (TEIXEIRA et al., 2005), sendo que a primeira espécie se encontrando-se amplamente disseminadas por todas as áreas produtoras de citros do estado de São Paulo, representando 96% das amostras analisadas pela Fundecitrus em 2009 (TEIXEIRA et al., 2010).

Somente a espécie Las foi detectada também na região do Triângulo Mineiro, sul de Minas Gerais e regiões central (IAPAR, 2009) e Noroeste do Paraná (CASTRO et al., 2010; NUNES et al., 2010).

O estado da Bahia (Figura 1), segundo maior produtor de citros do Brasil, ainda é reconhecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como área livre de HLB, tendo na região da Chapada Diamantina como importante pólo produtor de frutas de mesa, destacando-se a tangerina “Ponkan” e lima ácida “Tahiti”, além de ser considerado como área de médio risco a introdução do HLB (ALMEIDA, 2012). E o monitoramento do

psilídeo uma das estratégicas de maior eficiência para mitigar os riscos de introdução da doença.

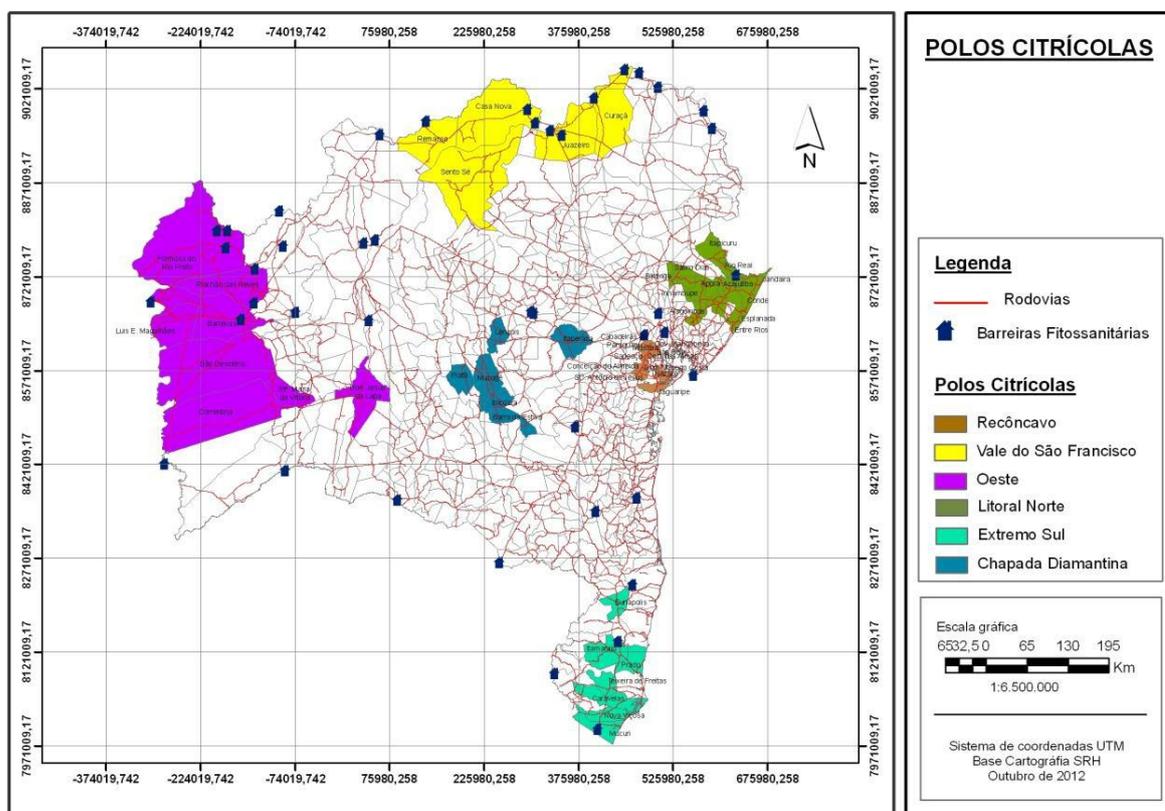


Figura 1 - Representação dos pólos produtores de citros no estado da Bahia, em azul escuro a região da Chapada Diamantina.  
Fonte: Uilian Costa de Almeida (2012).

Um aspecto importante relativo ao HLB refere-se à velocidade de disseminação das bactérias. A aquisição da bactéria pelo *D. citri* se dá a partir do terceiro instar ninfal até a fase adulta no momento da sua alimentação nos vasos de floema de plantas infectadas (HUNG et al, 2004), geralmente em brotações novas de murta e de citros. Sua disseminação para plantas saudáveis ocorre com o inseto adulto ao se alimentar destas (CAPOOR et al., 1974; ZHAO, 1981; XU et al., 1987; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BONANI et al., 2010).

Por meio da técnica de EPG (*Electrical Penetration Graph*) foi estabelecido por Bonani et al. (2010), um tempo médio de duas horas para o *D. citri* conseguir atingir os vasos do floema da planta, após o psilídeo-dos-citros

ter iniciado a picada de prova. Possivelmente, a aquisição e a inoculação ocorrem em momentos distintos da alimentação do inseto, pois quando o psílideo consegue penetrar seus estiletos no interior dos vasos floemáticos, tem início a atividade de salivação do vetor, sendo provavelmente o momento da inoculação da bactéria pelo adulto infectivo (BONANI et al., 2010). A aquisição ocorre depois da salivação, durante a ingestão da seiva por adultos e ninfas não infectados que passam a adquirir a bactéria causadora do HLB de plantas contaminadas (BONANI et al., 2010).

Os primeiros relatos sobre o HLB no mundo ocorreram na China (REINKING, 1919) por volta de 1870. Ainda hoje, a identificação da doença realizada pelos produtores é baseada no diagnóstico visual dos sintomas manifestados na planta doente por ser um método barato, prático e rápido, principalmente, para aplicação em campo. Contudo, essa prática apresenta um baixo grau de confiabilidade, pois depende da experiência do pragueiro e pode ser confundido com sintomas de outras doenças ou até deficiências nutricionais (COLETTA-FILHO; CARLOS, 2010).

Posteriormente houve a evolução para a utilização de indicadores biológicos em plantas, sendo este considerado o primeiro método de diagnóstico para HLB, no qual plantas indicadoras, por serem altamente suscetíveis a doença, são enxertadas com materiais propagativos de vegetais suspeitos para verificar se manifestam os sintomas característicos da enfermidade (FOLIMONOVA et al., 2009).

Em 1970, foi empregada pela primeira vez, a microscopia eletrônica para identificação da bactéria *Ca. Liberibacter* spp. nos vasos do floema de tecidos cítricos contaminados (LAFLÉCHE; BOVÉ, 1970). Entretanto, o fator limitante para a utilização desse método é que este é trabalhoso e necessita de grande dispêndio de tempo para o preparo das amostras e análise. Aliado a isto, a bactéria pode apresentar uma distribuição irregular no sistema vascular da planta e no vetor há baixas concentrações da bactéria nos tecidos do psílideo-citros gerando dados inconsistentes (LI et al, 2006; MANJUNATH et al., 2008; MACHADO, LOCALI-FABRIS, COLETTA-FILHO, 2010).

Em razão dos baixos custos e a facilidade de execução o método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay) tem sido empregado com sucesso para a identificação de vários patógenos e hospedeiros, tendo como fator

limitante para a delimitação da bactéria causadora do HLB a falta de bons anticorpos, pois eles reconhecem somente o isolado do qual foi originado, o que poderia resultar em falsos negativos. Todavia, com o recente sequenciamento da bactéria Las (DUAN et al., 2009) as chances de obtenção de regiões genômicas para a produção de peptídeos, a serem empregados na síntese de anticorpos, aumentaram consideravelmente.

Procurando alternativas para a detecção precoce do HLB, em 1990, um grupo de pesquisadores franceses desenvolveu um trabalho direcionado ao diagnóstico de HLB, em que se buscou sequências genômicas de *Liberibacter* com a utilização de sondas na identificação do patógeno (hibridação) e, concomitantemente, foram identificadas regiões genômicas adequadas para o desenho de iniciadores a serem empregados na “Reação em Cadeia da Polimerase” (PCR). Iniciou-se assim, uma nova etapa para a identificação e detecção de patógeno, em especial, aqueles não cultiváveis em meio de cultura, como a bactéria *Ca. Liberibacter* spp. (BOVÉ; GARNIER, 1990).

Em 1996 foi desenvolvido um método rápido e eficiente para detecção da presença da bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. causadora do HLB tendo como base a “reação em cadeia de polimerase” (PCR) que utilizava apenas um par de iniciadores. Posteriormente, houve uma evolução do método para o Nested-PCR, em que se passou a utilizar dois pares de iniciadores, esta última técnica possui maior sensibilidade e especificidade, ampliando consideravelmente a quantidade de cópias do DNA da bactéria (JAGOUÉIX et al., 1996; HOCQUELLET et al., 1999; HUNG et al., 1999).

Buscando o aprimoramento das técnicas anteriores, no intuito de ampliar a sensibilidade e de obter maior precisão e acurácia, além da redução do risco de contaminação da amostra (MACKAY et al., 2002), foram realizados pelo “National Plant Germplasm and Biotechnology Laboratory” (LI et al., 2006) os primeiros ensaios de PCR quantitativo (qPCR) visando à detecção e identificação das bactérias *Ca. Liberibacter* spp. , sendo atualmente, o principal método adotado para o diagnóstico e a detecção da bactéria causadora do HLB, tanto em tecidos vegetais como em insetos vetores.

O presente trabalho teve como objetivo a detecção precoce da bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* por meio de análises de qPCR em insetos vetores nos estádios de adulto e ninfa na região da Chapada Diamantina,

possibilitando que medidas de controle possam ser adotadas com maior eficiência, caso a bactéria venha a ser transmitida para plantas de citros.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

### 2.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Foram realizadas vinte e uma coletas de *D. citri* no período de novembro de 2011 a março de 2014, na região da Chapada Diamantina no estado da Bahia, nos municípios de Bonito, Itaberaba, Lençóis e em Seabra (Figura 2), tendo sido coletados um total de 343 psílídeos adultos e 20 ninfas de *D. citri* (Tabela 1).

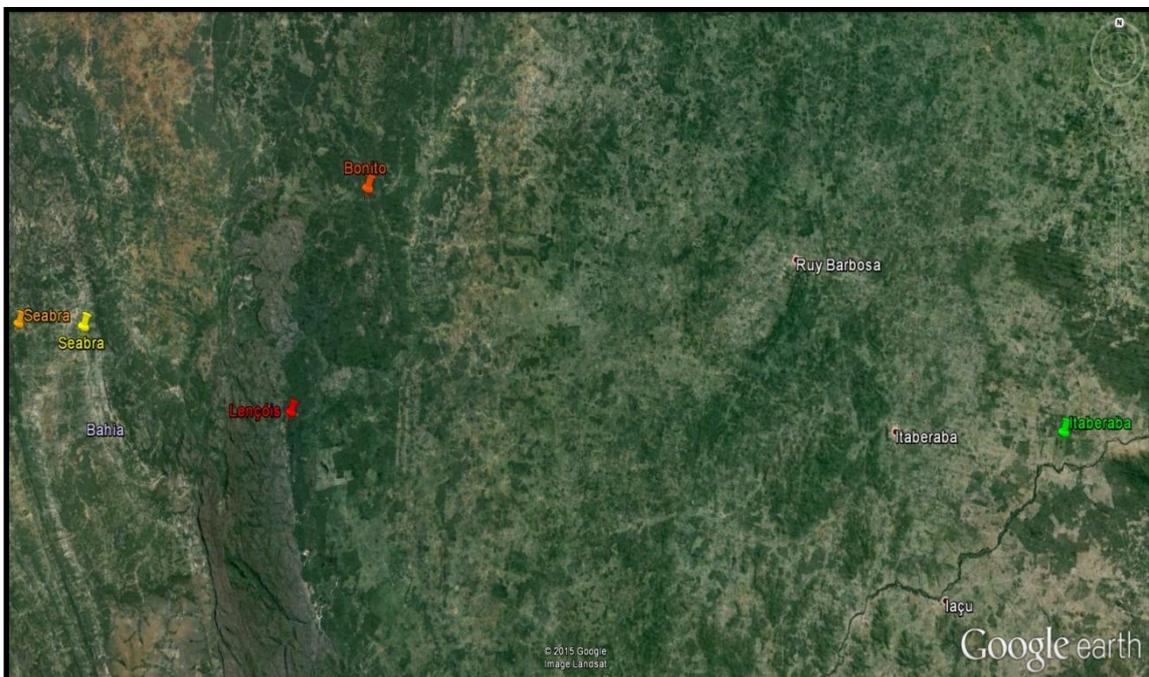


Figura 2 - Representação da localização geográfica dos pontos de coletas dos psílídeos adultos nos municípios de Bonito (latitude S 12° 13' 32,6" e longitude W 41° 15' 27,6") representado pelo pino laranja escuro, Itaberaba (latitude S 12° 31' 39,9" e longitude W 40° 00' 40,4") representado pelo pino verde, Lençóis (latitude S 12° 33' 19,4" e longitude W 41° 22' 46,0") representado pelo pino vermelho, Seabra (latitude S 12° 26' 46,9" e longitude W 41° 45' 03,0") representado pelo pino amarelo e (latitude S 12° 26' 42,6" e longitude W 41° 51' 53,1") representado pelo pino laranja claro.

Fonte: Google Earth, 2015.

No município de Bonito foram realizadas três coletas em murta (*M. paniculata*) (latitude S 12°13'32,6" e longitude W 41°15'27,6"), totalizando 35 psílídeos, na estrada de acesso à fazenda São Paulo (latitude S 12°12'24,8" e longitude W 41°18'26,0") produtora de tangerina ponkan (Tabela 1).

Tabela 1 - Amostras de adultos de *D. citri* em função da latitude e longitude, data de coleta e número de insetos coletados. Bonito, BA, 2014.

Município	Nº Amostra	Coordenadas Geográficas		Data da coleta	Número de Psilídeos Adultos Coletados
		Latitude	Longitude		
Bonito	01	S 12°13'32,6"	W 41°15'27,6"	31/12/2014	9
	02	S 12°13'32,6"	W 41°15'27,6"	14/02/2014	16
	03	S 12°13'32,6"	W 41°15'27,6"	28/02/2014	10
Lençóis	01	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	24/12/2013	28
	02	S 12°33'19,4"	W 41°22'46,0"	18/02/2014	21
	03	S 12°33'19,4"	W 41°22'46,0"	10/07/2014	10
Seabra	01	S 12°26'42,6"	W 41°51'53,1"	31/12/2014	16
	02	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	14/02/2014	16
	03	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	28/02/2014	12
	04	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	14/06/2013	38
	05	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	25/06/2013	29
	06	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	19/07/2013	25
	07	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	20/08/2013	26
	08	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	27/08/2013	22
	09	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	10/12/2013	9
	10	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	24/12/2013	11
	11	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	07/01/2014	12
	12	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	04/02/2014	12
	13	S 12°26'46,9"	W 41°45'03,0"	18/02/2014	16
	14	S 12°26'42,6"	W 41°51'53,1"	18/02/2014	5
Total					343

Município de Lençóis (latitude S 12°33'19,4" e longitude W 41°22'46,0"), considerado como rota de risco para introdução do HLB, devido ao grande fluxo de pessoas, por se tratar de uma cidade turística e que utiliza a murta no paisagismo urbano e na maioria dos hotéis e pousadas existentes no município. Neste foram coletados três amostras, em murta, totalizando 59 insetos (tabela acima).

As demais amostras de psilídeos adultos foram obtidas, em murta, no município de Seabra no povoado de Laranjeiras (latitude S 12°26'42,6" e longitude W 41°51'53,1") e ao longo da rodovia BR 242, na proximidade do posto de gasolina

conhecido como Siga Bem (latitude S 12°26'46,9" e longitude W 41°45'03,0"), correspondendo a 14 amostras e 249 psilídeos adultos (tabela acima).

No município de Itaberaba foi realizada uma coleta, de 20 ninfas, em área de plantio comercial de lima ácida "tahiti" (latitude S 12°31'39,9" e longitude W 40°00'40,4"), na fazenda Santo Antônio (tabela 2).

Tabela 2 - Amostras de ninfas de *D. citri* em função da latitude e longitude, data de coleta e número de insetos coletados. Itaberaba, BA, 2014.

Município	Nº Amostra	Coordenadas Geográficas		Data da coleta	Número de Ninfas de Psilídeos Coletados
		Latitude	Longitude		
Itaberaba	01	S 12°31'39,9"	W 40°00'40,4"	23/11/2011	20
Total					20

## 2.2 COLETAS DOS PSILÍDEOS

As coletas do psilídeos adultos foram realizadas com auxílio de um sugador entomológico manual, em hospedeiros do tipo murta, enquanto a coleta de ninfas foi realizada em brotação recém emitidas de limeira ácida tahiti e a sua coleta foi realizada como o corte do broto com auxílio de um estilete.

As coletas dos insetos foram realizadas trimestralmente, durante inspeção de 1% do talhão, onde estavam instaladas as armadilhas adesivas amarelas da BioControle®, e em áreas próximas, constituindo amostra com no mínimo cinco psilídeos adultos ou 20 ninfas. Estes foram acondicionados em microtubos de 2 mL contendo álcool 70% e depois conservadas refrigeradas a – 20°C para conservação dos insetos coletados. A partir do segundo semestre de 2013, devido à baixa incidência de insetos coletados, determinou-se a redução do período de coleta, que passou a ser realizada quinzenalmente.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Virologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura sendo armazenada em freezer a temperatura de 20°C negativos até o momento de extração de DNA. O processamento das amostras seguiu a determinação do protocolo proposto por Deng et al. (2006) com modificações. A detecção da presença da bactéria foi realizada pelo método de PCR em tempo real (qPCR).

### 2.3 EXTRAÇÃO DE DNA DAS AMOSTRAS DE *D. citri*

Para a extração de DNA genômico da bactéria *Ca. Liberibacter* foram processadas vinte e uma amostras, sendo que cada amostra foi constituída por um mínimo de cinco psíldeos adultos ou 20 ninfas seguindo o protocolo proposto por Deng et al. (2006) com alterações. As amostras foram colocadas em eppendorf de 2 mL enumerando para que possa ser realizado a identificações posteriores. Para a extração, as amostras contendo de 5 a 10 insetos adultos e ou as 10 ninfas foram transferidas para um novo eppendorf de 1,5 mL, lavados três vezes com água destilada. Em seguida, adicionou-se 150 µL de tampão STE (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA; 25 mM NaCl) realizando a maceração do material com auxílio do equipamento Tissue Lyser® (Qiagen) em uma ciclagem de três minutos a 20 hertz, repetindo a ciclagem, com o objetivo de melhorar a eficiência de maceração da amostra. Em seguida, realizou-se a centrifugação do macerado durante um minuto a 10.000 rpm, e transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo, onde adicionou-se 30 µL de proteinase K (concentração de 200 mg / mL), e realizou-se a incubação por 30 minutos a uma temperatura de 56 °C em banho-maria. Após esta fase o extrato obtido foi centrifugado durante um minuto e, em seguida, procedeu-se a transferência da fase superior para um novo tubo eppendorf de 1,5 mL, adicionou-se 150 µL de Nucleic Lysis Solution (kit Wizard Promega) mantendo durante cinco minutos a uma temperatura de 80°C. No passo seguinte, foram adicionados 60 µL de Protein Precipitation Solution (kit Wizard Promega), seguido de incubação por cinco minutos no gelo, procedeu-se a centrifugação, logo depois durante três minutos a uma velocidade de 13.000 rpm. Transferiu-se a fase superior novamente para um novo tubo eppendorf de 1,5 mL e acrescentou-se 200 µL de álcool isopropílico e procedeu-se a homogeneização da mistura por meio de suaves inversões. Centrifugou-se por cinco minutos a 14.000 xg realizando o descarte do sobrenadante, em seguida o precipitado, contendo o DNA, foi lavado com 150 uL de etanol a 70%. Para finalizar o processo as amostras foram centrifugadas a 14.000 xg por cinco minutos e descartou-se o sobrenadante, secando o pellet em forno microondas por aproximadamente 15 minutos. O pellet foi dissolvido em 30 µL de tampão TE com RNase A na proporção de 2:8 procedendo-se a incubação por um período de 30 minutos a uma temperatura média de 37°C numa estufa.

## 2.4 DETECÇÃO DE *Candidatus Liberibacter asiaticus* EM PSILÍDEOS POR PCR QUANTITATIVO

Para monitorar a detecção do agente patogênico causador do HLB foi empregado no Laboratório de Virologia o método de qPCR para amplificar o fragmento genômico bacteriano e posterior análise. Para a reação, os primers usados foram LAS-I-R (5' CGA TTG GTG TTC TTG TAG CG 3') e o LAS-I-F (5' AAC AAT AGA AGG ATC AAG CAT CT3'). A sonda usada na detecção das sequências específica dos fragmentos de DNA foi o Probe TaqMan® LAS (6FAM AAT CAC CGA AGG AGAAGC CAGCAT TAC A MGBNFQ) da Applied Biosystems. As amplificações ocorreram em termociclador Applied Biosystems 7500 Fast programado para o primeiro ciclo a 50 °C durante dois minutos de desnaturação, um segundo ciclo de 95°C por dez minutos de desnaturação, depois ocorreram 40 ciclo de amplificação de 95 °C a cada quinze segundos e uma extensão final de 60 °C durante um minuto. O referido sistema que utiliza-se de *primers* e sondas é conhecido por TaqMan® em que o resultado final é expresso em valores de Ct (*cycle threshold*), que representa o número de ciclos da PCR onde a emissão do fluoróforo *reporter* atinge um valor arbitrário (*threshold*), acima do qual as amostras são consideradas positivas.

Em todos os testes de qPCR, foram utilizados, controles positivos de psilídeos infectados, obtidos do Centro de Citricultura Sylvio Moreira. Como controles negativos foram utilizadas amostras negativas de teste anteriormente e a água.

Tabela 3 - Componentes usados na técnica de qPCR.

<b><u>MIX / VOLUME POR AMOSTRA</u></b>	
<b>REAGENTE</b>	<b>VOLUME EM µL</b>
H <sub>2</sub> O	1,05
Primer LAS-I-F	1,08
Primer LAS-I-R	1,08
Probe LAS	0,54
TaqMan®	6,75
DNA	3,00
TOTAL	13.5

## 2.5 LEVANTAMENTOS DE DETECÇÃO

De acordo com o MAPA (2009) existem dois métodos de levantamentos a depender do objetivo que se pretende alcançar. O de detecção que é realizado quando se pretende estabelecer se a praga está ausente ou presente em uma determinada região e o de delimitação que é realizada com o intuito de estabelecer a área na qual uma praga já se encontra presente.

Após a detecção da bactéria no município Seabra em amostras com psilídeos adultos por meio da técnica de PCR quantitativa (qPCR), realizou-se um levantamento em um raio de quatro quilômetros do local de coletas das amostras positivas, com o objetivo de verificar a existência de plantas sintomáticas, visando a identificação de possíveis focos em estágio inicial e rápida erradicação (MAPA, 2008) (Figura 3).



Figura 3 - Locais de Coletados no município de dos psilídeos positivos (📌) e delimitação do raio de ação de 4 km.

Fonte: Google Eart.

Durante as inspeções realizadas, todas as plantas de citros e murta foram georeferenciadas e inspecionadas, quanto a presença de sintomas, como o amarelecimento de folhas jovens semelhantes à deficiência de B, Ca, Mn e Zn, ao longo das nervuras foliares, com ampliação da clorose e o surgimento de ramos com folhas amarelas ao longo da nervura principal, que se destacam em contraste com o verde natural das folhagens da copa (TATINENI et al., 2008) (Figura 4A).

Também foi observada a presença de folhas “mosqueada”, isto é, a folha com tonalidades cloróticas de maneira difusa e assimétrica, sendo este o sintoma característico das plantas doentes e que foi verificado em praticamente todos os locais onde a enfermidade foi relatada, independentemente do agente causal, hospedeiro e condição ambiental (BOVÉ, 2006) (Figura 4B).



Figura 4 - Planta com sintomas de HLB, com ramos amarelos destacado na copa, sintoma típico do “dragão amarelo”, em uma planta jovem (A). Folha com sintoma de mosqueamento assimétrico (B).

Fonte: E. F. Carlos, 2008.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras foram analisadas pelo método de PCR quantitativo, em razão de sua maior precisão e acurácia, além do menor risco de contaminação das amostras (MACKAY et al., 2002), das vinte e uma amostras analisadas para a presença da bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, cinco detectaram valores de Cts, mas apenas duas foram considerados positivos para a presença da bactéria Las, ambas originárias do município de Seabra, sendo uma proveniente da coordenada geográfica Lat. S 12° 26'04,3" e Long. W 41° 50' 33,2" e a outra proveniente da coordenada geográfica Lat. S 12° 26'04,3" e Long. W 41° 50' 33,2" (Tabela 4).

Tabela 4 - Locais de coletas de psilídeos adultos cujas análises de qPCR detectaram valores de Ct.

N° Amostra	Coordenadas Geográficas		Número de Psilídeos Coletados	Município de Coleta dos Psilídeos	Ct
	Latitude	Longitude			
01	S 12°26'04,3"	W 41°50'33,2"	16	Seabra	23
02	S 12°29'21,4"	W 41°43'30,5"	26	Seabra	29
03	S 12°29'21,4"	W 41°43'30,5"	22	Seabra	36
04	S 12°29'21,4"	W 41°43'30,5"	12	Seabra	37
05	S 12°26'04,3"	W 41°50'33,2"	5	Seabra	37

Após os diagnósticos positivos de duas amostras coletadas em murtas no município de Seabra, coordenada geográfica de Lat. S 12° 26'04,3" e Long. W 41° 50' 33,2" e na coordenada geográfica de Lat. S 12° 26'04,3" e Long. W 41° 50' 33,2", com Ct de 23 e 29 respectivamente, novas amostras foram realizadas, sendo seis amostras em murtas na primeira área e duas amostras em murtas na segunda área.

Embora tenha sido detectados valores de Ct de 36 e 37 em três das novas amostras realizadas optou-se por considerar apenas as amostras com valor de Ct  $\leq$  35 como confiáveis para detecção da presença da bactéria Las, conforme pesquisa desenvolvida por Li et al. (2006) que indicam esse limite como o limiar máximo de Ct para que uma amostra possa ser considerada positiva através da técnica de PCR quantitativo (qPCR). As inferências obtidas no referido trabalho foram confirmadas

em trabalhos desenvolvidos pela Fundecitrus com plantas doentes e insetos infectados (MARENGO, 2009; SANTOS, 2011; SALA, 2013).

Após a detecção da bactéria no inseto vetor coletados no município Seabra, realizou-se levantamentos semestrais nas plantas hospedeiras localizadas no raio de quatro quilômetros do local de coletas, para identificar a existência de plantas sintomáticas, visando a identificação de possíveis focos em estágio inicial e rápida erradicação (MAPA, 2008).

Não foram identificadas plantas com sintomas do *huanglongbing*, apesar de ter sido identificada a presença da bactéria *Las* no vetor, portanto sobre o prisma da Legislação Federal o estado da Bahia continua como área livre da doença. Segundo Bové (2006) a enfermidade pode levar de seis meses a um ano, entretanto para MILORI et al. (2012) este período de incubação pode ser de até três anos após a inoculação da bactéria pelo psíldeo infectado a depender de fatores como período de infecção, teor da bactéria, idade da planta infectada, variedade da copa e do porta-enxerto, além das influências ambientais, como a temperatura (BASSANEZI et al., 2010).

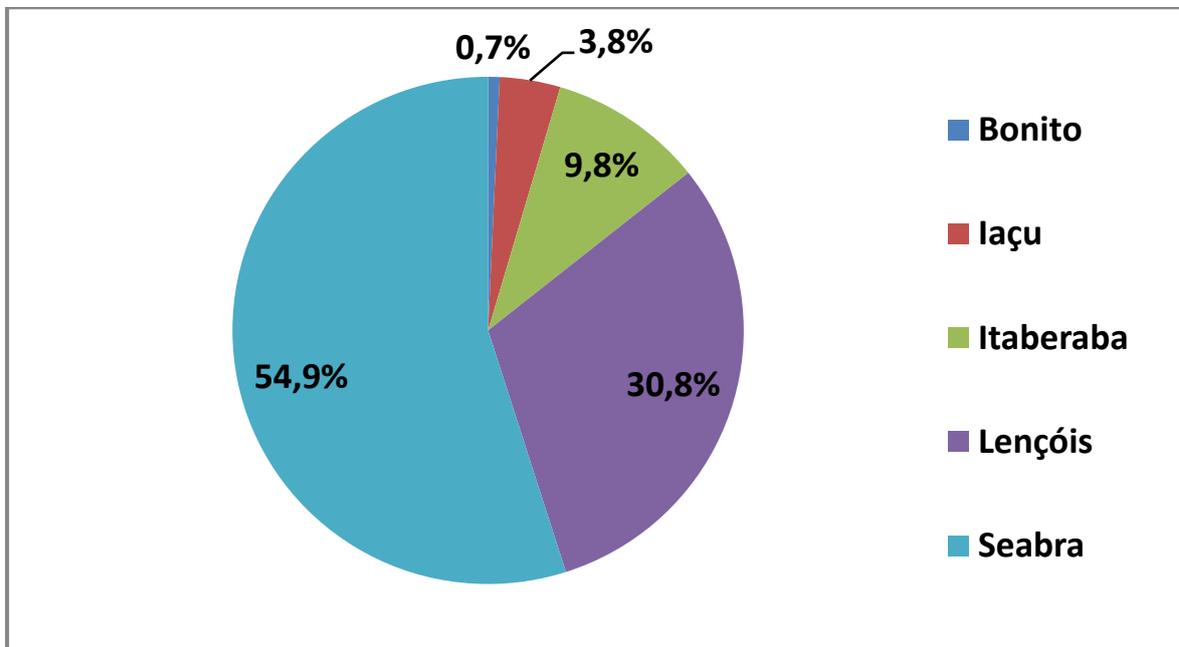


Figura 5 - Percentual de psíldeos capturados em armadilhas adesivas amarelas por município estudado. Itaberaba, no período de março de 2011 a fevereiro de 2014.

O índice populacional de *Diaphorina citri* adulto obtidos nos municípios de Bonito, Iaçú e Itaberaba foi considerado baixo quando comparado com os dados

populacionais da região do Recôncavo Baiano (NASCIMENTO et al., 2014), devendo constituir num fator positivo para a não disseminação do agente causal nestes municípios.

No município de Bonito o índice baixo pode ser justificado pela proximidade da área de plantio, onde estavam instaladas as armadilhas, vizinha a áreas de plantio comercial de goiaba, que é uma cultura atacada por um grande número de insetos, considerados pragas-pragas e, conseqüentemente são realizadas aplicações frequentes de inseticidas para controle de uma espécie de psilídeo, que é uma praga importante das goiabeiras, segundo o gerente da fazenda referida, Thiago Souza de Oliveira. A sistemática de aplicação de inseticidas pode estar relacionada com a baixa densidade populacional, que por deriva poderia contribuir para o controle da população do *D. citri*.

Nos municípios de Iaçú e Itaberaba a baixa densidade populacional estar relacionada pelo isolamento de outras áreas com produção de citros e a não existência de outras espécies hospedeiras na região, como a murta.

Na Figura 6 verifica que a detecção de valores de Ct nas amostras coletadas no município de Lençóis e Seabra pode estar relacionado com a quantidade de insetos coletados, dos 343 psilídeos adultos coletados 89,8% foram realizados nestes municípios, regiões turísticas com presença acentuada do hospedeiro preferencial (AUBERT, 1987; IKEDA; ASHIHARA, 2008) denominado de murta, *Murray paniculata*, em razão das emissões frequentes de novas brotações (LIU; TSAI, 2000) oferecendo condições propicias para a alimentação, desenvolvimento e reprodução do psilídeo (NAVA et al., 2007; PAIVA, 2009).

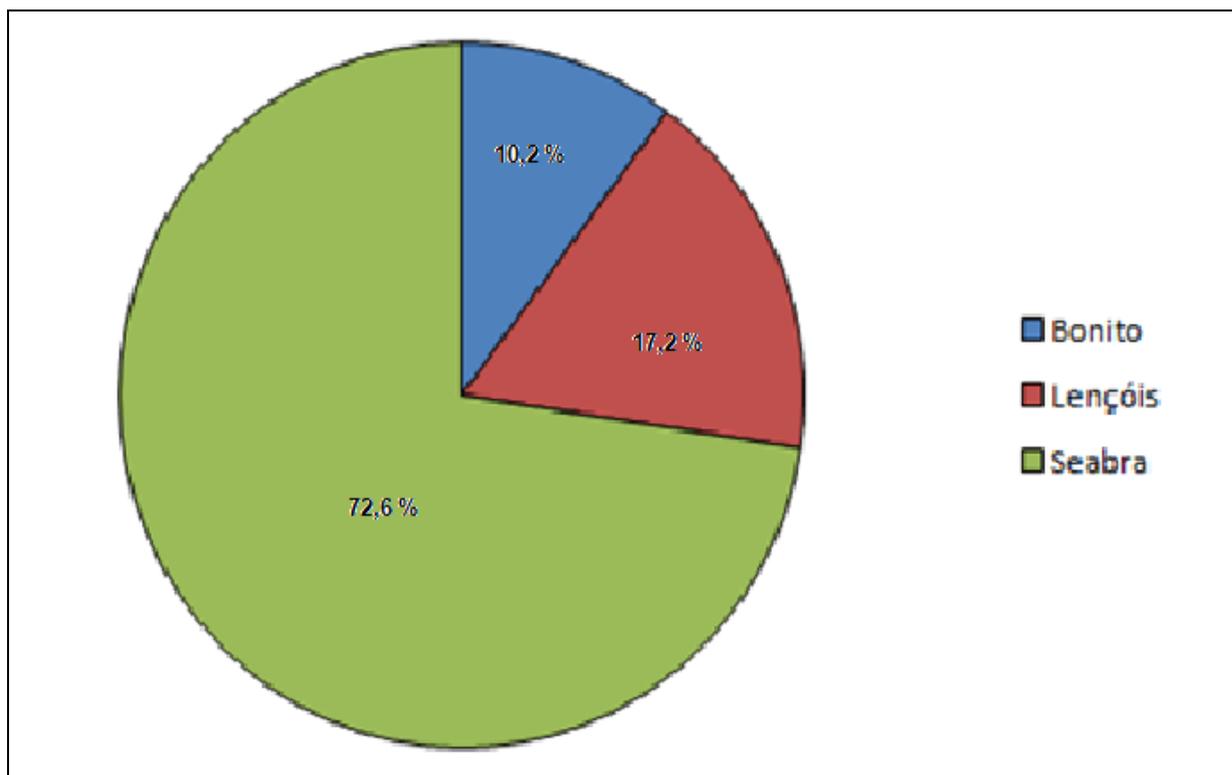


Figura 6 - Percentual de psilídeos adultos coletados na região da Chapada Diamantina. Itaberaba, BA 2014.

Em relação à defesa agropecuária quando analisando como área de risco de para a introdução da bactéria causadora do HLB, o município de Seabra é o que apresenta maior risco devido a existência de hortos comerciais de mudas cítricas e murta, além da grande vulnerabilidade desse município à entrada do HLB, por apresentar forte presença da planta ornamental denominada de murta no paisagismo urbano e nos povoados vizinhos à sede do município, além de ser um município caracterizado como tipicamente de agricultura familiar com áreas de citros inferiores a um hectare, com baixo nível tecnológico e, conseqüentemente, ausência de um manejo adequado de pragas e doenças

Estudos desenvolvidos por Manjunath et al. (2008) que indicam que a dispersão da bactéria do HLB podem ocorrer através do transporte e comercialização de plantas ornamentais que atuam como agentes de disseminação do psilídeo infectado

Para Belasque et al. (2010) o controle em áreas de agricultura familiar é um fator que poderia dificultar o controle da doença, em razão de falta de manejo, como eliminação das plantas sintomáticas e controle do inseto transmissor nas áreas afetadas (BELASQUE JR et al., (2010).

Após a detecção da presença de bactéria em psilídeos nos municípios de Seabra a Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB) foi acionada para tomar medidas de contingenciamento nos referidos municípios, como a destruição das plantas hospedeiras e a proibição de sua comercialização por tempo indeterminado nos hortos existentes no município de Seabra, além de uma inspeção e georeferenciamento das plantas hospedeiras num raio de ação de 4 km do local onde foram coletados os vetores, cuja amostras deram positivas.

Pesquisas desenvolvidas por Gottwald e outros (2007) indicam que a distância máxima de dispersão para o inseto vetor, como sendo de 3,5 km, e que normalmente o vetor se dispersa a uma distância que varia entre 880 a 1.610 m, optou-se por precaução a realização de um raio de varredura de 4 km do local onde as amostras continham psilídeos infectados. Essa medida teve a finalidade de identificar e georeferenciar todas às plantas hospedeiras favorecendo a identificação de possíveis focos em estágio inicial, de modo a possibilitar a sua rápida erradicação. Entretanto, até o momento não foi identificada nenhuma planta com os sintomas do HLB.

A determinação de adotar um programa de erradicação da praga esta condicionada à rapidez de sua detecção, bem como do estabelecimento de sua área de ação e o nível de infestação para que possam ser utilizadas técnicas de controle com menor custo no período mais favorável. Portanto, devido à importância da ameaça da invasão da bactéria *C. Liberibacter asiaticus* considerada praga quarentenária A2 para o país, pois já está presente, embora se encontre restrita apenas aos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná e está sob controle oficial (MAPA, 2008).

É de fundamental importância manter a vigilância sanitária vegetal em alerta e realizar constante monitoramento na região, com uma frequência de pelo menos três meses para evitar que a bactéria *C. Liberibacter asiaticus* venha se estabelecer.

Visando uma maior agilidade na detecção e identificação da presença da bactéria é importante o credenciamento de um laboratório no estado da Bahia, junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, pois atualmente só existe laboratório credenciado no estado de São Paulo.

Apesar de relativamente caro, um programa como o de coleta e análise laboratorial por meio de qPCR aqui descrito é capaz de auxiliar na detecção precoce da bactéria, ampliando as possibilidades da erradicação ser bem sucedida.

#### 4 CONCLUSÕES

A bactéria *Candidatus Liberibacter* está presente no Estado da Bahia, especificamente nos municípios de Lençóis e Seabra, mas os hospedeiros estudados ainda não apresentam sintomas típicos do Huanglongbing.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

5.1 Embora não tenham sido identificadas plantas de citros com sintomas de HLB no município de Seabra é bastante provável que a doença já esteja presente neste município, pois as plantas podem ficar assintomáticas por até três anos.

5.2 Apesar da detecção da bactéria do HLB no vetor, sob o prisma da Legislação Federal em sua Instrução Normativa (IN) 53/2008, ainda não se pode considerar que a praga esteja presente no estado da Bahia;

5.3 Esse método diagnóstico é importante para os Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal (OEDSV), tendo em vista a tomada de decisão e adoção de medidas mitigatórias de forma precoce à manifestação de sintomas nos hospedeiros.

## **6. PROPOSIÇÃO DE MEDIDA REGULATÓRIA**

Propõem-se ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a atualização da Instrução Normativa nº 53 de 16/10/2008 no que tange a ampliação de métodos diagnósticos e gradação das medidas de controle. .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, U. C. **Bahia: Pólos citrícolas, trânsito vegetal e riscos da introdução do Huanglongbing dos citros**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo Baiano Campinas, Cruz das Almas.

AUBERT, B. Le psylle asiatique dês agrumes (*Diaphorina citri* Kuwayama) au Brésil. Situation actuelle et perspectives de lutte. **Fruits**, Paris, v. 42, n.4, p. 225-229, 1987.

BELASQUE JUNIOR, J.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P., BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. Controle do *Huanglongbing* no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, vol.31, n.1, p.53-64, 2009.

BONANI, J.P., FERERES, A., GARZO, E., MIRANDA, M.P., APPEZZATO-DAGLORIA, B., LOPES, J.R.S. Characterization of electrical penetration graphs of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* in sweet orange seedlings. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 134, n. 1, p. 35-49, 2010.

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

BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. Phloem and xylem restricted plant pathogenic bacteria. **Plant Science**, v.163, n. 6, p. 1083-1098, 2002.

CAPOOR, S.P.; RAO, D.G; VISWANATH, S.M. *Greening* disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationships with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. In: WEATHERS, L.G.; COHEM, M (Ed). In: **6 CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION CITRUS VIROLOGYST**, University of California, Division of Agricultural Sciences, p.43-49, 1974.

CASTRO, M. E. A.; BEZERRA, A. R.; LEITE, W. A.; MUNDIN FILHO, W.; NOGUEIRA, N. D. Situação e ações do estado de Minas Gerais frente ao *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.2, p.163-168, 2010.

COLLETA-FILHO, H.D.; TARGON, M.L.P.N.; TAKITA, M.A.; DE NEGRI, J.D.; POMPEU JR, J.; MACHADO, M.A.; DO AMARAL, A.M.; MULLER, G.W. First Report of the Causal Agent of *Huanglongbing* (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) in Brazil. **Plant Disease**, v.88, n.12, p.1382, 2004.

COLETTA-FILHO, H.D.; CARLOS, E.F. Ferramentas para diagnóstico de *huanglongbing* e detecção de agentes associados: dos sintomas aos ensaios de laboratório. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v.31, n.2, p. 129-143, 2010.

DA GRAÇA, V.J. Citrus *greening* disease. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 29, p. 109-136, 1991.

DENG, X.; GAO, F.; FLAGG, T.; ANDERSON, J.; MAY, W.S. Bcl2's flexible loop domain regulates p53 binding and survival. **Molecular and cellular biology**, v.26, n.12, p.4421-4434, 2006.

DUAN, Y.; ZHOU, L.; HALL, D.G.; LI, W.; DODDAPANENI, H.; LIN, H.; LIU, LI; VAHLING, C.M.; GABRIEL, D.W.; WILLIAMS, K.P.; DICKERMAN, A.; SUN, Y.; GOTTWALD, T. Complete genome sequence of citrus *huanglongbing* bacterium, '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' obtained through metagenomics. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.22, n.8, p.1011-1020, 2009.

FOLIMONOVA, S.Y.; ROBERTSON, C.J.; GARMSEY, 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, n.12, p.1346-1354, 2009.

GARNIER, M.; JAGOUEIX-EVEILLARDS, S.; CRONJE, C.P.R.; BOVÉ, J.M.; SANDERS, G.M.; KORSTEN, L.; LE ROUX, H.F. Genomic characterization of a liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, *Calodendrum capense*, in the Western Cape Province of South Africa. Proposal of '*Candidatus Liberibacter africanus* subsp. *capensis*'. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, n. 6, p. 2119-2125, 2000.

GOTTWALD, T.R.; DA GRAÇA, J.V.; BASSANEZI, R.B.. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. **Plant Health Progress** 6: September 2007. Online (doi: 10.1094/PHP-2007-0906-01-RV).

HALBERT S.E e MANJUNATH K.L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and *greening* disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, v.87, p.330-353, 2004.

HEID, C.A.; STEVENS, J; LIVAK, K.J.; WILLIAMS, P.M. Real time quantitative PCR. **Genome Research**, v.6, n. 10, p.986-994, 1996.

HOCQUELLET, A.; TOORAWA, P.; BOVÉ, J.M.; GARNIER, M. 1999. Detection and identification of the two '*Candidatus*' Liberibacter species associated with citrus *huanglongbing* by PCR amplification of ribosomal protein genes of the beta operon. **Molecular and Cellular Probes**, v.13, n. 5, p.373-379, 1999.

HUNG, T.H.; WU, M.L.; SU, H.J. Detection of fastidious bacteria causing citrus greening disease by non-radioactive DNA probes. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**. v.65, p.140-146, 1999.

HUNG, Ting-Hsuan; WU, Meng-Ling; SU, Hong-Jî. Detection of fastidious bacteria causing citrus greening disease by nonradioactive DNA probes. **ANNALS-PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN**, v. 65, p. 140-146, 1999.

HUNG, T.H.; HUNG, S.C.; CHEN, C.N.; HSU, M.H.; SU, H.J. Detection by PCR of *Candidatus* Liberibacter asiaticus, the bacterium causing citrus *huanglongbing* in vector psyllids: application to the study of vector-pathogen relationships. **Plant Pathology**, v. 53, n. 1, p. 96-102, 2004.

IAPAR. IAPAR discute a doença HLB dos citros. Disponível em: <http://www.iapar.br>. Acesso em 17 de janeiro de 2009.

IKEDA, K.; ASHIHARA, W. Preference of adult asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) for *Murraya paniculata* and Citrus unshiu. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology (Japan)**, v 52, p.27-30, 2008.

JAGOUEIX, S.; BOVÉ, J.M.; GARNIER, M. The phloem-limited bacterium of *greening* disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the proteobacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 44, p. 379 –386, 1994.

JAGOUEIX, S.; BOVÉ, J.M.; GARNIER, M. PCR detection of the two ‘*Candidatus*’ Liberibacter species associated with *greening* disease of citrus. **Molecular and Cellular Probes**, v. 10, n. 1, p. 43-50, 1996.

LAFLECHE, D.; BOVE, J. M. Mycoplasme dans les agrum es atteints de “*greening*”, de “stubborn” ou de maladies similaires. **Fruits**, v. 25 p. 455-465, 1970.

LI, W.; HARTUNG, J.S.; LEVY, L. 2006. Quantitative Real time PCR for detection and identification of *Candidatus* Liberibacter species associated with citrus *huanglongbing*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 66, p. 104-115, 2006.

LIU, Y.H.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera:Psyllidae). **Annals Applied Biology**, London, v. 137, p. 201-206, 2000.

MACHADO, M.A.; LOCALI-FABRIS, E.C.; COLLETA-FILHO, H.D. *Candidatus* Liberibacter spp., agentes do *huanglongbing* dos citros. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p.25-35, 2010.

MACKAY, I.M.; ARDEN, K.E.; NITSCHKE, A. Real-time PCR in virology. **Nucleic acids research**, v. 30, n. 6, p. 1292-1305, 2002.

MANJUNATH, K.L., HALBERT, S.E., RAMADUGU, C., WEBB, S., LEE, R.F. Detection of ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’ in *Diaphorina citri* and its importance in the management of Citrus *huanglongbing* in Florida. **Phytopathology**, v.98, n. 4, p. 387–396, 2008.

MARENGO, S. **Mapeamento genético de tangerina Sunki e Poncirus trifoliata para resistência ao huanglongbing (greening) dos citros**. 2009. Dissertação de Mestrado. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas.

MILORI, D.M.; BOAS, P.V.; VERNÂNCIO, A.L.; CARDENALI, M.C.; FERREIRA, E.J.; MARTINS, P.K.; FREITAS-ASTÚA, J.; BRESOLIN, J. Diagnóstico de Citrus *Greening* (HLB) utilizando espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS). **EDITORES**, v. 13560, p. 78-81, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (**MAPA**). **Instrução Normativa nº 53, de 16 de outubro de 2008**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarlegislacao>. Acesso em 07 de janeiro de 2015

NAVA, D.E.; TORRES, M.L.G.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hemimpetra, Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9-10, p. 709-715, 2007.

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

OLIVEIRA, J.M.C; DO NASCIMENTO, A.S.; DE MIRANDA, S.H.G.; BARBOSA, C.D.J.; LARANJEIRA, F.F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do *huanglongbing* (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, 2013.

PAIVA, P.E.B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**. 2009. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.65.

REINKING, O.A. Diseases of economic plants in South China. **Philippine Agriculturist**, v.8, p.109-135, 1919.

TATINENI, S.; SAGARAM, U. S.; GOWDA, S.; ROBERTSON, C. J.; DAWSON, W. O., IWANAMI, T.; WANG, N. In planta distribution of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR. *Phytopathology*, V.98, n. 5, p. 592-599, 2008.

TEIXEIRA, D.C; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANET, J.L; DA COSTA, P.I.; AYRES, A.J.; BOVE, J. "Candidatus Liberibacter americanus", associated with citrus *Huanglongbing* (greening disease) in São Paulo state, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1857-1862, 2005.

TEIXEIRA, D.C.; DANET, J.L.; EVEILLARDS, S.; MARTINS, E.C.; JESUS JUNIOR, W.C.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, A.S.; BASSANEZI, R.B.; AYRES, A.J.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J.M. Citrus *huanglongbing* in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus' Liberibacter species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes**, v.19, n. 3, p.173-179, 2005.

XU, C.F.; XIA, Y.H.; LI, K.B.; KE, C. Further study of the transmission of citrus *huanglongbing* by a psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama. In: **PROCEEDINGS 10th CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS**. Riverside, CA, p. 243-248, 1988.

YAMAMOTO, P.T.; FELIPPE, M.R.; GARBIM, L.F.; COELHO, J.H.C.; XIMENES, N.L.; MARTINS, E.C.; LEITE, A.P.R.; SOUSA, M.C.; ABRAHÃO, D.P.; BRAZ, J.D. *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. In: **PROCEEDINGS OF THE HUANGLONGBING - GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP**, Ribeirão Preto, Brazil, p. 96, 2006.

ZHAO, X.Y. Citrus yellow shoot disease (*huanglongbing*) in China - a review. In: **PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF CITRICULTURE**, Tokyo, Japão, p.466-469, 1981.

## ANEXOS

## Anexo 1

Instrução Normativa nº 53 de 16/10/2008 / MAPA - Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento (D.O.U. 17/10/2008)

### **Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEDSVs.**

Aprovar os critérios e procedimentos para a realização, por parte dos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEDSVs das Instâncias Intermediárias integrantes do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, dos levantamentos de ocorrência da praga denominada *Huanglongbing* (HLB) – *Greening*, que tem como agente etiológico a bactéria *Candidatus Liberibacter* sp., em plantas hospedeiras constantes da lista oficial de pragas quarentenárias presentes, visando à delimitação da extensão das áreas afetadas e à adoção de medidas de prevenção e erradicação.

INSTRUÇÃO NORMATIVA No- 53, DE 16 DE OUTUBRO DE 2008

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁ- RIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no Decreto nº 5.741, de 30 de março de 2006, no Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934, e o que consta dos Processos nº 21000.011498/2005-29 e nº 21028.006791/2005-66, resolve:

Art. 1º Aprovar os critérios e procedimentos para a realização, por parte dos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEDSVs das Instâncias Intermediárias integrantes do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, dos levantamentos de ocorrência da praga denominada *Huanglongbing* (HLB) – *Greening*, que tem como agente etiológico a bactéria *Candidatus Liberibacter* sp., em plantas hospedeiras constantes da lista oficial de pragas quarentenárias presentes, visando à delimitação da extensão das áreas afetadas e à adoção de medidas de prevenção e erradicação.

Art. 2º O OEDSV delimitará e oficializará, no âmbito de sua competência, as áreas citadas no art. 1º, com base em informações técnicas da ocorrência da praga.

§ 1º O OEDSV deverá comunicar, semestralmente, ao Serviço de Sanidade Agropecuária na Superintendência Federal de Agricultura - SFA a delimitação da área com ocorrência da praga.

§ 2º Nas Unidades da Federação - UFs sem ocorrência da praga, o OEDSV deverá realizar levantamentos semestrais de detecção, encaminhando relatório, por via impressa, ao Serviço de Sanidade Agropecuária na SFA, que encaminhará cópia do relatório à Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA.

Art. 3º A produção de material propagativo de citros, nas áreas onde for constatada a ocorrência do HLB, obedecerá às normas estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal e aos seguintes critérios:

I - a manutenção de plantas básicas, plantas matrizes e borbulheiras, bem como a produção de mudas, somente será permitida em ambiente protegido por tela de malha com abertura de, no máximo, 0,87 x 0,30mm (zero vírgula oitenta e sete por zero vírgula trinta milímetros), considerando que a praga é disseminada pelo inseto vetor *Diaphorina citri*;

II - as plantas básicas e plantas matrizes deverão ser anualmente indexadas para comprovação da ausência da bactéria causadora do HLB.

Art. 4º O OEDSV fiscalizará os viveiros e borbulheiras, no máximo, a cada seis meses, enviando amostras de material suspeito para análise em laboratório da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, que emitirá laudo conclusivo.

§ 1º Quando comprovada a presença da bactéria, todas as plantas básicas, matrizes ou de borbulheiras deverão ser eliminadas.

§ 2º Em viveiro, será eliminado o lote de produção no qual for confirmada, por laudo laboratorial oficial, a presença da bactéria, sendo os demais lotes liberados somente após quatro meses, se nesse período não for constatada, em inspeções mensais, a ocorrência de material com sintoma, o qual deverá ser submetido à análise laboratorial oficial para confirmação da presença da bactéria.

Art. 5º O trânsito de material propagativo de plantas hospedeiras oriundo de UF onde for constatada a praga obedecerá à legislação de certificação fitossanitária de origem e permissão de trânsito de vegetais.

Parágrafo único. O material propagativo apreendido pela fiscalização de defesa sanitária vegetal, em desacordo com o previsto nesta Instrução Normativa, será sumariamente destruído, não cabendo ao infrator qualquer tipo de indenização, sem prejuízo das demais sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 6º A Instância Intermediária do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária poderá, em caráter de emergência e no âmbito de sua jurisdição, proibir a produção, o comércio e o trânsito de material propagativo e de plantas de murta (*Murraya paniculata*) nos municípios de ocorrência da praga.

Art. 7º Nas áreas delimitadas com ocorrência da praga, em todas as propriedades onde existam plantas hospedeiras, o proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título promoverá obrigatoriamente, no mínimo, vistorias trimestrais, objetivando identificar e eliminar as plantas com sintomas de HLB.

§ 1º O proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento deverá apresentar dois relatórios anuais, comunicando ao OEDSV os resultados das vistorias referentes ao semestre imediatamente anterior, sendo o primeiro até 15 de julho e o segundo até 15 de janeiro.

§ 2º Caberá ao OEDSV padronizar o formato e o controle do recebimento do relatório apresentado pelo proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento.

Art. 8º Caberá ao proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento eliminar, às suas expensas, as plantas hospedeiras contaminadas, mediante arranquio ou corte rente ao solo, com manejo para evitar brotações, não lhe cabendo qualquer tipo de indenização.

Parágrafo único. O não cumprimento do disposto no caput deste artigo acarretará ao infrator as sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 9º O OEDSV fiscalizará as propriedades produtoras de citros objetivando identificar a existência de plantas contaminadas com HLB.

§ 1º Na inspeção, por meio de exame visual oficial, sendo detectadas plantas com sintomas de HLB, as mesmas serão identificadas e será coletada amostra composta do material suspeito, referente a 10% do total de plantas identificadas em cada Unidade de Produção - UP, para exame laboratorial oficial, observando-se o seguinte:

I - se o resultado laboratorial da amostra composta for positivo e o percentual de plantas com sintomas de HLB for inferior ou igual a 28%, o OEDSV providenciará a eliminação das plantas sintomáticas identificadas; ou

II - se o resultado laboratorial da amostra composta for positivo e o percentual de plantas com sintomas de HLB for superior a 28%, o OEDSV providenciará a eliminação de todas as plantas da UP.

§ 2º Entende-se por exame visual oficial a inspeção de plantas para determinar se existem sintomas da praga visando ao cumprimento das regulamentações fitossanitárias.

§ 3º Para efeito do disposto neste artigo, entende-se por Unidade de Produção uma área contínua, de tamanho variável e identificada por um ponto georreferenciado, plantada com a mesma espécie, estágio fisiológico, sob os mesmos tratamentos culturais e controle fitossanitário.

§ 4º O ônus desta operação será do proprietário, arrendatário ou ocupante, sem prejuízo das demais sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 10. Caso o OEDSV, em fiscalizações subseqüentes, constate a presença de plantas com sintomas do HLB, serão adotadas as medidas previstas no art. 9º, § 1º e incisos, ficando o infrator sujeito às penas descritas no [art. 61, da Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998](#).

Art. 11. Ao OEDSV caberá implementar os trabalhos de fiscalização e inspeção fitossanitária, objetivando dar cumprimento ao estabelecido nesta Instrução Normativa.

Art. 12. A Instância Intermediária do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária poderá estabelecer procedimentos complementares visando ao controle da praga.

Art. 13. O OEDSV encaminhará ao Serviço de Sanidade Agropecuária na SFA, a cada seis meses, relatório dos trabalhos realizados.

Parágrafo único. O Serviço de Sanidade Agropecuária na SFA deverá encaminhar à SDA cópia dos relatórios recebidos.

Art. 14. Os projetos de pesquisa envolvendo o HLB deverão ser encaminhados à SDA para autorização.

Art. 15. Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 16. Fica revogada a [Instrução Normativa nº 32, de 29 de setembro de 2006](#).

REINHOLD STEPHANES

## Anexo 2

PORTARIA No 243/2011

Dispõe sobre a produção em viveiro telado, a entrada, o comércio e o trânsito de mudas, porta-enxerto e borbulhas de plantas cítricas no Estado da Bahia e dá outras providências.

O DIRETOR GERAL DA AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DA BAHIA – ADAB, no uso de suas atribuições legais, que lhe conferem os arts. 1º da Lei nº 7.439, de 18/01/99, e 23, I, b do regimento, aprovado pelo Decreto nº 9.023, de 15/03/04, considerando, a importância sócio-econômica da citricultura para o Estado da Bahia; a necessidade de proteger as áreas de produção de citros, ainda sem a ocorrência da praga *Huanglongbing* (HLB), também conhecida como *Greening*, no Estado da Bahia; que a produção de material propagativo em ambiente protegido (telado) é de extrema importância para a manutenção de áreas livres de *Huanglongbing* / HLB, (*Candidatus Liberibacter* sp), Cancro cítrico (*Xanthomonas citri* subsp.citri) e Morte súbita (agente etiológico indefinido); que a produção de material propagativo em ambiente protegido (telado) é relevante estratégia para conter a disseminação de pragas presentes e extremamente danosas, a exemplo da CVC (*Xylella fastidiosa*); que é dever do Governo do Estado, por meio da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia, proteger e manter livre de pragas a agricultura praticada no território baiano; o que estabelece o Decreto Federal nº 24.114, de 12 de abril de 1934 e a Lei Estadual de Defesa Sanitária Vegetal nº 10.434 de 22 de dezembro de 2006,

RESOLVE:

Art. 1º Torna obrigatório o cadastramento na ADAB, de todas as unidades de produção (UP), a saber: os viveiros de produção de porta-enxertos, dos viveiros de produção de mudas, das borbulheiras e das plantas matrizes de citros.

Art. 2º Para o cadastramento das UP's, o produtor deverá encaminhar, anualmente à ADAB, solicitação contendo os seguintes documentos:

- I. Inscrição do produtor no registro nacional de sementes e mudas (RENASEM),
- II. Cadastramento da UP no RENASEM,
- III. Anotação de responsabilidade técnica (ART),
- IV. Croqui da área, quantidade e variedades utilizadas no período e a ficha de inscrição da UP.

Art. 3º A partir de janeiro de 2013, as sementeiras para a produção de porta-enxertos de citros, visando ao comércio de mudas, somente poderá ser feita em ambiente telado cuja malha tenha abertura máxima de 0,87mm x 0,30 mm e o teto seja coberto por plástico ou vidro;

Art. 4º A partir de 1º de janeiro de 2014 a produção de mudas cítricas e borbulhas somente poderão ser instaladas em ambiente telado cuja malha tenha abertura máxima de 0,87mm x 0,30 mm e o teto coberto por plástico ou vidro;

Parágrafo único. Os porta-enxertos e borbulhas utilizados nos ambientes telados a que se refere o caput deste artigo deverão obrigatoriamente, ser provenientes de instalações teladas descritas anteriormente.

Art. 5º. A partir de 01 de janeiro de 2014 fica proibido, em todo território baiano, o trânsito e o comércio de porta-enxertos, borbulhas e mudas cítricas produzidas em ambiente sem proteção de tela com abertura máxima de 0,87m x 0,30mm.

Art. 6º O trânsito e o comércio interno do material de propagação produzido no território baiano serão permitidos, desde que acompanhado de permissão de trânsito de vegetais (PTV), fundamentada em certificado fitossanitário de origem (CFO).

Art. 7º Fica proibido o ingresso, o trânsito e o comércio de material propagativo de citros e plantas de murta (*Murraya paniculata*) procedente dos Estados da Unidade da Federação (UF) com ocorrência de HLB.

Art. 8º O ingresso de material propagativo do gênero Citros no Estado da Bahia, procedentes de outras Unidades da Federação, até o ano de 2014, dependerá de autorização da ADAB, mediante Análise de Risco de Pragas (ARP). O transporte do referido material deverá ser em veículo de carroceria fechada, lacrada na origem.

Art. 9º O descumprimento do disposto nesta Portaria sujeita o infrator às sanções estabelecidas pelas legislações estadual e federal de defesa sanitária vegetal, sem prejuízo das sanções civis e penais cabíveis.

Art. 10º. Esta portaria entra em vigor na data de sua publicação.

Paulo Emilio Torres  
Diretor Geral



Mandioca e Fruticultura

Cruz das Almas (BA), 12 de fevereiro de 2015

Ilmo Sr. Dr. PAULO EMÍDIO TORRES

MD. Diretor da ADAB – Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia

Av. Adhemar de Barros, 967, Ondina, Salvador – BA.

CEP.40.170-110

Senhor Diretor,

Em 14 de abril de 2015, a Dissertação de Mestrado intitulada "Flutuação Populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e Monitoramento da Invasão de *Candidatus Liberibacter asiaticus* na Chapada Diamantina, Bahia" será submetida a uma banca examinadora do programa de Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária da UFRB – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Vimos informar a esta Diretoria que as análises laboratoriais do material coletado durante os estudos, **detectaram** a presença do agente causal do HLB – *Huanglongbing*, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, **no inseto vetor desta doença - *Diaphorina citri*.**

Os resultados em material vegetal foram negativos. Como essa situação (presença no vetor e ausência nos hospedeiros) não está prevista na Instrução Normativa N° 53/2008 (MAPA), passamos a questão para esta ADAB visando adotar as providências cabíveis.

Outrossim, informamos também que algumas amostras em psilídeos procedentes do Litoral Norte da Bahia também deram positivo para a bactéria (embora negativos em material vegetal). Caso julgue necessário, os detalhes dos testes estão disponíveis para consultas.

Atenciosamente,

Antonio Souza do Nascimento – Orientador da Dissertação.

Francisco Ferraz Laranjeira – Coordenador do projeto HLB BioMath.

Emanuel Felipe Medeiros de Abreu – Resp. pelas análises laboratoriais.

Cc. Dr. Domingo Haroldo Conrado Reinhardt – Chefe Geral da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**  
**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**  
Rua Embrapa, s/n - CP. 007 - 44380-000 - Cruz das Almas - BA  
Telefone: (75) 3312-8048 - Fax (75) 3312-8097  
[www.cnpmf.embrapa.br](http://www.cnpmf.embrapa.br)