

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**PARAMETRIZAÇÃO E MODELAGEM *EX-ANTE* DA DISSEMINAÇÃO
DO HLB DOS CITROS NO RECÔNCAVO DA BAHIA**

TÂMARA TRINDADE DE CARVALHO SANTOS

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA
NOVEMBRO-2012**

**PARAMETRIZAÇÃO E MODELAGEM *EX-ANTE* DA DISSEMINAÇÃO
DO HLB DOS CITROS NO RECÔNCAVO DA BAHIA**

TÂMARA TRINDADE DE CARVALHO SANTOS

Bióloga

Universidade de Pernambuco-UPE, 2009

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Francisco Ferraz Laranjeira

Coorientador: Antônio Nascimento

CRUZ DAS ALMAS-BAHIA

NOVEMBRO-2012

FICHA CATALOGRÁFICA

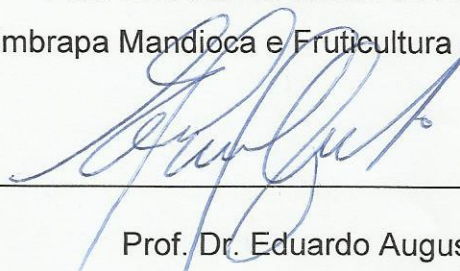
S237	<p>Santos, Tâmara Trindade de Carvalho.</p> <p>Parametrização e modelagem ex-ante da disseminação do HLB dos citros no Recôncavo da Bahia: obtenção de parâmetros relativos ao vetor e hospedeiros para modelagem ex-ante da disseminação do <i>huanglongbing</i> dos citros em pomares de regiões indenes / Tâmara Trindade de Carvalho Santos._ Cruz das Almas, BA, 2012. 103f.; il.</p> <p>Orientador: Francisco Ferraz Laranjeira. Coorientador: Antônio Souza Nascimento.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Cítricos – Doenças e pragas. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.</p> <p>CDD: 634.39</p>
------	---

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

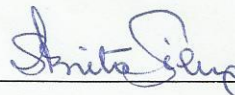
**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
TÂMARA TRINDADE DE CARVALHO SANTOS**



Prof. Dr. Antônio Souza do Nascimento
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF



Prof. Dr. Eduardo Augusto Girardi
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF



Prof. Dra. Suely Xavier de Brito Silva
Agência de Defesa Agropecuária da Bahia – ADAB

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
NOVEMBRO, 2012**

Às pessoas que compartilharam comigo um momento muito difícil, de fragilidade e reflexão, contribuindo para meu amadurecimento mas que não continuaram nesse plano espiritual, e aos amigos Rosberg Lima, Rodrigo Maia, Milla Laís, por silenciosamente terem me ensinado novos conceitos, mostrando a finitude da vida material e a grandeza da espiritualidade, e em especial à Kleudson Alves Alencar, pelo amor, carinho, boas risadas e conversas...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, o grande autor de tudo, pelas conquistas e livramentos.

À minha família que sempre torceu por mim e esteve ao meu lado em todos os momentos, pelo exemplo de amor e fraternidade.

Aos meus amigos, a maioria desde a infância, em especial as “Snakes” e a Jacqueline Borges, pelas palavras de encorajamento e felizes momentos juntos.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e à Embrapa Mandioca e Fruticultura pela oportunidade de realização deste curso.

Ao meu orientador Dr. Francisco Laranjeira, pelo profissionalismo, orientação e incentivo.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Microbiologia Agrícola, e aos professores pelos valiosos conselhos e ensinamentos.

À Dra. Suely Brito (ADAB), Dr. Antônio Nascimento e Dr. Eduardo Chumbinho de Andrade (Embrapa) pela disponibilidade e sugestões.

A todos os membros do projeto, que contribuíram para o desenvolvimento das pesquisas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida.

Aos proprietários dos pomares em zona rural e de murtas, pela contribuição nas pesquisas e receptividade amigável.

Aos meus colegas de mestrado, com os quais dividi horas de aulas, estudos, reuniões e preocupações.

Enfim, a todos que compartilharam comigo esse meu momento “mestranda”, que estiveram nos momentos de alegria, de descontração, de estresse, perdoando minhas faltas e falhas. As pessoas especiais que conheci durante essa fase, que tornaram-se grandes amigos, contribuindo fortemente para minha evolução pessoal e profissional.

ÍNDICE

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO..... 09

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 12

CAPÍTULO 01

OBTENÇÃO DE PARÂMETROS RELATIVOS AO VETOR E HOSPEDEIROS PARA MODELAGEM *EX-ANTE* DA DISSEMINAÇÃO DO HLB DOS CITROS NO RECÔNCAVO DA BAHIA.

Resumo..... 38

Abstract..... 39

Introdução..... 40

Materiais e Métodos..... 43

Resultados..... 46

Discussão..... 69

CAPÍTULO 02

MODELAGEM *EX-ANTE* DA DISSEMINAÇÃO DO HUANGLONGBING DOS CITROS (HLB) EM POMARES DE REGIÕES INDENES.

Resumo..... 75

Abstract..... 76

Introdução..... 77

Materiais e Métodos..... 80

Resultados..... 83

Discussão..... 90

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 94

REFERÊNCIAS..... 96

RESUMO

SANTOS, T.T.C. Parametrização e modelagem *ex-ante* da disseminação do HLB dos citros no Recôncavo da Bahia.

Huanglongbing (HLB, *ex-greening*), é a doença mais importante e destrutiva da citricultura mundial. No Brasil é causada por *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*, transmitidas pelo psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama. Além de citros, a murta (*Murraya paniculata* (L.) Jack) é hospedeira alternativa da bactéria e do vetor. O objetivo do trabalho foi, por meio de modelagem e simulações, antecipar informações sobre o patossistema em apoio a estratégias de erradicação precoce do HLB caso introduzido no Recôncavo da Bahia, área indene. Como primeiro foco, foi feita a parametrização de populações de psíldeos em citros de zona rural e em hospedeiros alternativos de zona urbana por meio de monitoramento quinzenal, contando-se o número de brotações novas e o número de insetos adultos, ninfas e ovos em 20 ramos de cada planta. Nas condições do Recôncavo baiano, as médias em murta foram superiores as dos pomares, porém a menor densidade de *Murraya* associada ao fato dessas plantas não serem tão eficientes quanto citros como hospedeiros das bactérias causadoras do HLB sugerem pouco significado epidemiológico de murtas para disseminação da doença. A segunda vertente do trabalho focou na simulação de cenários de disseminação do HLB como suporte para decisões relativas ao sistema de produção para mitigação dos danos causados pela doença. Através de um modelo que considera um pomar alvo e quatro pomares vizinhos, ajuste de número de linhas, plantas e intensidade do inóculo. Períodos de latência e de incubação, além da taxa de erradicação. As simulações foram feitas com uma ampla combinação dos parâmetros taxa de infecção, período de incubação e taxa de remoção de plantas sintomáticas. As simulações indicam que o progresso do HLB tende a ser muito limitado em pomares com baixa densidade de plantio. Ou seja a doença progride mais rápido em plantios adensados.

Palavras-chave: *Citrus spp.*, *Diaphorina citri*, *Huanglongbing*, *Murraya paniculata*, parâmetros, simulações.

ABSTRACT

SANTOS, T.T.C. *Ex-ante* parameterization and modeling of HLB spread in the Recôncavo of Bahia.

Huanglongbing (HLB, *ex- greening*), is the most important and destructive citrus disease in the world. In Brazil it is caused by *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Candidatus Liberibacter americanus*, both bacteria transmitted by *Diaphorina citri*. In addition to citrus, orange jasmine (*Murraya paniculata*) is an alternative host of bacteria and vector. The objective was provide information to supporting early eradication strategies should HLB is introduced in the Recôncavo of Bahia, an yet unaffected area. That was accomplished by: (i) collecting data about vector and host populations to be used in models, and (ii) to simulating HLB spread under a range of infection, roguing and plant densities. The data for (i) were obtained through biweekly monitoring of plants in four cohorts in rural and urban areas of Cruz das Almas city, in the Recôncavo of Bahia region. In each cohort, we selected 20 plants, counting the number of new shoots and the number of adult insects, nymphs and eggs in 20 branches. The average number of *D. citri* adults in orange jasmine was about 17 times higher than that recorded in citrus groves. Nevertheless, the average proportion infested orange jasmine plants was only 5 times greater than the average in the orchards. However, the lower density of orange jasmine in the region associated with the fact that plants are not considered efficient hosts of *Candidatus Liberibacter* spp. suggest little epidemiological significance of orange jasmine to the eventual spread of the disease in the target region. The second part of the work focused on the HLB spread under simulated scenarios to support decisions regarding the production system to mitigate the damage caused by the disease, should it be introduced in Bahia, an unaffected area. Simulations were performed using a wide combination of rate of infection, incubation time and rate of symptomatic plants removal. The simulations indicate that the progress of HLB would tend to be very limited in low planting density orchards, progressing faster in dense plantings.

Keywords: *Citrus* spp., *Diaphorina citri*, *Huanglongbing*, *Murraya paniculata*, parameters, simulations

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a cultura de citros possui elevada importância econômica. O país é o maior produtor mundial de laranja doce e de suco de laranja (Neves et al., 2007). Cultivada em todas as regiões do país, tem como destaque o estado de São Paulo com produção de 15.330.326 toneladas, e a Bahia, com produção de 1.018.416 toneladas (IBGE, 2011). Apesar da produção baiana de citros ocorrer em quase todas as regiões fisiográficas do estado, mais de 90% da produção de laranja concentra-se no Litoral Norte e Recôncavo. O Litoral Norte possui área colhida de 48.439 hectares e produção de 769.184 toneladas, com destaque para o município de Rio Real. O Recôncavo possui área colhida de 9.003 hectares e produção de 164.045 toneladas, com destaque para o município de Cruz das Almas, com área colhida de 2.154 hectares e produção de 45.234 toneladas (SEAGRI, 2010).

Contudo, a sustentabilidade do agronegócio citrícola brasileiro encontra-se em risco desde a detecção da doença conhecida como *huanglongbing* (HLB). Ela foi relatada pela primeira vez no país em 2004, no estado de São Paulo (Coletta-Filho et al., 2004a; Teixeira et al., 2005a), em seguida em 2005 em Minas Gerais (Castro et al., 2010) e em 2006 no estado do Paraná (Nunes et al., 2010). O HLB possui grande capacidade de disseminação, é considerada atualmente a doença mais importante da citricultura mundial (Bové, 2006a). A doença torna as plantas debilitadas e improdutivas, os frutos são reduzidos, assimétricos e apresentam queda precoce (Yamamoto et al., 2005). Nas folhas são observadas manchas amareladas ou verde-claras contrastando-se com o verde normal foliar dando aspecto de “mosqueado assimétrico” (Coletta Filho et al., 2004a).

No Brasil o HLB é associado a duas espécies de bactérias gram-negativas: *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* (Bové et al., 2008). São bactérias intracelulares, restritas ao floema (Jagoueix et al., 1994). Além de veiculados pelo material propagativo infectado (Bové, 2006b), os agentes causais podem ser transmitidos através do inseto vetor, o psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama conhecido como psilídio (Martinez &

Wallace, 1967). A aquisição da bactéria em plantas infectadas pode ocorrer tanto por meio de suas ninfas, como pelo inseto adulto (Xu et al., 1988). Após adquirir a bactéria o inseto necessita de um tempo para que possa inocular em planta sadia (Parra et al., 2010). Após esse período de latência, o inseto permanece infectivo por até 12 semanas: a transmissão é considerada persistente (Hung et al., 2004). Dentre os principais hospedeiros, tanto da bactéria como do inseto vetor, têm-se varias espécies de citros, além do principal hospedeiro alternativo, a planta ornamental *Murraya paniculata* conhecida como murta (Halbert & Manjunath, 2004).

Para o HLB não existem cultivares resistentes nem controle curativo. O que se tem feito é a produção de mudas sadias, controle do inseto vetor e erradicação de plantas sintomáticas (Belasque Jr. et al., 2010), com os objetivos de diminuir a população do inseto vetor e reduzir as fontes de inóculo, evitando novas infecções. De acordo com a Instrução Normativa nº 53 (IN 53) do Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA), produtores de citros devem realizar ao menos quatro inspeções por ano, e pomares com incidências superiores a 28% de plantas sintomáticas devem ser inteiramente eliminados. Em São Paulo, foi estimado que pomares jovens que ficam próximos a pomares infectados e que não adotam medidas de controle da doença, podem atingir 50% de plantas sintomáticas em apenas três anos (Bassanezi et al., 2010). Como epidemias de HLB são relativamente rápidas e destrutivas, o risco de sua introdução e disseminação em áreas indenidas pode ser considerado alto. Assim, ações de prevenção e erradicação precoce da doença são fundamentais (Bassanezi et al., 2010).

O desenvolvimento de estratégias de prevenção e erradicação precoce em áreas indenidas está fundamentado em diversos pontos. Dois dos mais importantes são o conhecimento do comportamento dos elos do patossistema (hospedeiros e vetor) e a análise de cenários de disseminação.

A doença está restrita a alguns estados brasileiros, porém o vetor é encontrado em muitas regiões citrícolas desde a década de 40 (Costa Lima, 1942). No entanto, pouco se sabe sobre a frequência, densidade e flutuação de sua população em outros locais fora de São Paulo. Além disso, não se conhece o impacto de populações urbanas de *M. paniculata* nas populações de *D. citri*. Nos EUA sabe-se que as constantes brotações em murta mantém as populações do

vetor quando não há brotações em citros (Tsai & Liu, 2000; Tsai et al., 2002). Essas informações são cruciais para a geração de estratégias relativas à erradicação precoce do HLB em caso de introdução em áreas indenes como a Bahia. Em função das dificuldades inerentes ao teste de hipóteses referentes ao controle do HLB em campo, tais estratégias devem ser avaliadas por meio de modelos matemáticos. No entanto, tais modelos só serão úteis se forem subsidiados por parâmetros confiáveis, obtidos em estudos de campo.

É necessário o desenvolvimento de técnicas que permitam melhor manejo do pomar frente ao HLB (Stuchi & Girardi, 2010). Dentre essas técnicas, destaca-se o adensamento de plantio. O princípio de sua adoção no manejo do HLB é de que evitaria a necessidade de replantes, em função da erradicação de plantas sintomáticas. Com isso, reduziria-se a presença de plantas jovens, que são mais suscetíveis a doença, em pomares já estabelecidos. Pomares com menores espaçamentos atingem maior produtividade inicial, e assim compensariam perdas econômicas futuras ocasionadas pela doença (Stuchi & Girardi, 2010). Por outro lado, pomares com espaçamentos mais largos, reduzem a probabilidade de disseminação da doença, pois diminuem as chances de um planta infectada ser fonte de inóculo para outra, além de permitirem a adoção de policultivos.

Para o presente trabalho, houve dois objetivos. Como primeiro foco, foi feita a parametrização de populações de psílídeos em citros de zona rural e em hospedeiros alternativos de zona urbana. Essa primeira parte visou subsidiar a elaboração de estratégias relativas a contigência e erradicação do HLB. A segunda vertente do trabalho focou na simulação de cenários de disseminação do HLB como suporte para decisões relativas ao sistema de produção para mitigação dos danos causados pela doença, caso seja introduzida na Bahia, área indene.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja, com 19.655.469 toneladas produzidas em 2011, em uma área plantada de 882.604 hectares e 770.843 hectares de área colhida (IBGE, 2011). Sua produção é comercializada tanto de forma *in natura* como em suco concentrado, nos mercados interno e externo, sendo o maior exportador de suco concentrado do mundo (IBGE, 2010). A região sudeste destaca-se com participação de 82,6% da produção brasileira, com área colhida de 564.519 hectares, segue-se a região nordeste que responde por 9,8% da produção, com área colhida de 127.029 hectares (IBGE, 2011).

Apesar do agronegócio cítrico brasileiro mostrar-se bastante promissor, vem enfrentando sérios problemas fitopatológicos. Além de doenças como a clorose variegada dos citros (CVC), o cancro cítrico, a leprose, a tristeza, a pinta preta e a morte súbita. No ano de 2004 houve a primeira detecção do *Huanglongbing* (HLB, ex-greening) na região de Araraquara, estado de São Paulo (Coletta-Filho et al., 2004b; Teixeira et al., 2005a).

O HLB possui grande capacidade de disseminação, sendo considerada atualmente a doença mais importante da citricultura mundial. É de difícil controle e altamente destrutiva para os pomares (Bové, 2006a). No continente americano foi detectada pela primeira vez no Brasil, onde está presente em vários municípios do estado de São Paulo, algumas cidades do noroeste do Paraná e no triângulo mineiro (Castro et al., 2010; Nunes et al., 2010). Nas Américas foi relatada também nos Estados Unidos, México, em alguns países da América Central e do Caribe. O Brasil e os Estados Unidos, dominam a produção mundial de suco concentrado de laranja, tratando-se de uma *commodity* agrícola. Porém, com a redução da produtividade da laranjeira, e o aumento dos custos de produção por causa do HLB, essa *commodity* encontra-se em risco (Belasque Jr. et al., 2010).

A doença foi relatada pela primeira vez por Reinking em 1919 na China (Reinking, 1919; Lin, 1956). Daí seu nome, *Huanglongbing*, palavra de origem chinesa que significa doença do ramo amarelo ("yellow shoot"). O nome está relacionado a um sintoma característico, que é a ocorrência de um ou mais ramos com folhas amareladas, que se destacam dos demais. Na África, uma

doença com sintomas similares foi descrita em 1937 e nomeada como *greening*, pois quando afetada, a planta desenvolve maturação desuniforme dos frutos (Van De Merwe & Anderson, 1937). O termo “*Huanglongbing*” foi oficializado em 1995 durante a décima terceira International Organization of Citrus Virologists (IOCV), porém a doença continua sendo conhecida também como “greening”. Até o século XX a doença disseminou-se por alguns países dos continentes asiático, africano e na Oceania. Recentemente, no início do século XXI, chegou ao continente americano (Bové, 2006b).

Em 1956 Dr. Lin, pesquisador chinês, demonstrou que a causa do HLB era um agente infeccioso que poderia ser transmitido de uma planta para outra por enxertia (Bové, 2006b). O HLB é associado a três espécies de bactérias com origem geográfica bem definida: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, originária na Ásia, *Candidatus Liberibacter africanus*, originária na África e *Candidatus Liberibacter americanus*, detectada até recentemente somente no Brasil (Bové et al., 2008). Pela dificuldade de isolamento e por, até o momento, não ter sido confirmado seu cultivo em laboratório, é referida pelo termo *Candidatus* (Machado et al., 2010). Por ser endocelular restrita aos vasos liberianos (floema) é denominada *Liberibacter* (Jagoueix et al., 1994). Apresentam-se na forma de bastonetes, são gram-negativas (Garnier et al., 1984), possuem membrana e parede celular. Por meio de comparações de seqüências da região 16S do DNA ribossomal, concluiu-se que pertencem a subdivisão α das *Proteobactérias* da ordem Rhizobiales e família *Rhizobiaceae* (Jagoueix et al., 1994). Os tipos asiático e americano são transmitidos pelo psilídio asiático dos citros, *Diaphorina citri* Kuwayama, e o tipo africano é transmitido pelo psilídio africano dos citros, *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera: Psylloidea) (Yamamoto et al., 2006a).

No Brasil, é constatada a presença de duas bactérias do gênero *Liberibacter* associadas ao HLB: *Ca. Liberibacter asiaticus* (Coletta-Filho et al., 2004b), forma asiática encontrada também na Flórida e em Cuba (Martínez et al., 2009) e *Ca. Liberibacter americanus*. No ano de seu primeiro relato no Brasil, *Candidatus Liberibacter asiaticus* era detectado em menos de 2% das amostras de plantas sintomáticas, aproximadamente 98% dessas amostras mostraram resultados negativos nas análises de PCR (“Polymerase Chain Reaction”). Após a identificação, confirmou-se que as amostras anteriormente negativas continham uma nova espécie de *Liberibacter*, *Ca. Liberibacter americanus* (Coletta-Filho et

al., 2004b; Teixeira et al., 2005a; Teixeira et al., 2005b). Desde as primeiras detecções houve uma inversão na proporção das espécies das bactérias. No ano de 2009, de 11.000 amostras, 96% estavam associadas a *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Teixeira et al., 2010).

De acordo com Coletta-Filho et al. (2005), sequências de região conservada (16S do rDNA) das bactérias relacionadas ao HLB no Brasil, revelaram que em *Ca. Liberibacter americanus*, há ocorrência de duas regiões de deleções. Uma delas possui 13 e a outra possui 3 nucleotídeos, assim como outros eventos de mutações ao longo de 1124 nucleotídeos analisados. Com base nessas diferenças genômicas, foram desenhados *primers* específicos, que são utilizados em diagnósticos.

Através de enxertia de tecidos infectados *Ca. Liberibacter asiaticus* é transmitida com maior facilidade para citros do que *Ca. Liberibacter americanus*. As duas bactérias diferem também na capacidade de multiplicação nos tecidos das plantas, *Ca. Liberibacter asiaticus* pode atingir populações cerca de dez vezes maior que *Ca. Liberibacter americanus* (Lopes et al., 2009a). Além disso, *Ca. Liberibacter asiaticus* é menos sensível ao calor pois tolera temperaturas acima de 32°C enquanto que a população de *Ca. Liberibacter americanus* diminui, podendo até desaparecer nessas condições (Lopes et al., 2009b).

Diaphorina citri Kuwayama, conhecido como psilídio-asiático-dos-citrus, é observado no Brasil desde a década de 40 (Costa Lima, 1942), mas por muitos anos foi considerado praga secundária da cultura dos citros (Galo et al., 2002). Em altas populações pode causar deformações e alterações de crescimento em folhas, tanto pela retirada da seiva elaborada quanto pela injeção de toxinas das ninfas do inseto. Pode levar ainda à seca de brotações e à presença de fumagina resultante do excesso de *honeydew* (Halbert & Manjunath, 2004; Michaud, 2004). Apesar de causar danos diretos em citros, *Diaphorina citri* tornou-se principal praga da cultura pela sua capacidade de transmitir as bactérias associadas ao HLB. No Brasil, *D. citri* é o inseto vetor da *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*.

A transmissão do HLB por psilídeos foi demonstrada pela primeira vez através do vetor *Trioza erytreae* para a bactéria *Candidatus Liberibacter africanus* (McLean & Oberholzer, 1965). Em seguida, verificou-se a transmissão da *Candidatus Liberibacter asiaticus*, por outro psilídeo vetor nas Filipinas (Salibe

& Cortez, 1966), identificado como *D. citri* (Martinez & Wallace, 1967). *Diaphorina citri* pertence à subfamília Psylloidea, família Psyllidae, é um inseto sugador da seiva da planta (Gallo et al., 2002). Normalmente encontrado em ramos novos de plantas da família Rutaceae, são relatadas cerca de 21 espécies de hospedeiros. Afeta todas as variedades de citros, além de *Murraya paniculata* (L.) ou murta-de-cheiro, planta ornamental utilizada no paisagismo urbano. Existe relação positiva entre o crescimento populacional do inseto e a quantidade de brotações novas na planta, com o aumento do número de brotações, há também um aumento do número de insetos (Parra et al., 2010).

Diaphorina citri possui três fases em seu ciclo de vida: ovo, ninfa com cinco ínstaes e adulto. A oviposição ocorre em gemas recém brotadas, por isso a disponibilidade de ramos novos é o fator determinante para ocorrência e incremento populacional do inseto (Yamamoto et al., 2001; Tsai et al., 2002; Paiva, 2009). Os ovos são oblongos, de coloração inicial pálida, tornando-se amarelos e finalmente laranjas, chegando a medir em torno de 0,3 mm de altura por 0,14 mm de comprimento. O período de incubação do ovo a 28°C é em média de 3,5 dias (Liu & Tsai, 2000). As ninfas possuem cinco ínstaes, medindo desde 0,25 a 1,7 mm de comprimento. São pequenas e achatadas, de coloração amarelada, olhos vermelhos, pernas curtas, sendo essencialmente sedentárias. Permanecem grande parte do tempo agregadas alimentando-se na superfície das folhas, na parte terminal do pecíolo entre a gema axilar e os brotos novos (Liu & Tsai, 2000). Desenvolvem-se de forma sincronizada com o crescimento dos ramos e seus cinco ínstaes duram em média de 11 a 15 dias (Gallo et al., 2002).

Os adultos possuem o corpo mosqueado de marrom, cabeça marrom claro, asa dianteira alargada da metade até o ápice. Medem de 2 a 3 mm de comprimento, saltam e voam facilmente a pequenas distâncias (Aubert, 1987a; Gallo et al., 2002). Quando em repouso, flexionam o primeiro par de pernas formando um ângulo de 45° em relação à superfície na qual se encontram (Bonani, 2009), normalmente na face abaxial das folhas. O ciclo de vida de *D. citri* é bastante variável, sofrendo grande influência da temperatura. Já se demonstrou que a longevidade média de fêmeas adultas em diferentes hospedeiros situa-se entre 39 e 47 dias, em diferentes hospedeiros (Liu & Tsai, 2000). Nava et al. (2007), porém, relatam longevidade média um pouco inferior a 32 dias para fêmeas e de 23 dias para machos.

A transmissão de *Candidatus Liberibacter* spp. por psílídeos inicia-se com a aquisição do patógeno em planta infectada e termina com a inoculação em uma planta sadia. *Diaphorina citri* é capaz de adquirir a *Candidatus Liberibacter asiaticus* tanto como inseto adulto como por meio de suas ninfas (Xu et al., 1988), em todos seus ínstares (Nascimento, 2010). De acordo com Pelz-Stelinski et al. (2010) a eficiência de aquisição de *Ca. L. asiaticus* por ninfas varia de 60 a 100%. Já para adultos alcança somente 40% em cinco semanas de alimentação em plantas infectadas. Além de adquirirem o patógeno como maior eficiência (Vichin Neto et al., 2008), as ninfas mantêm-se infectivas após as ecdises resultando em adultos também infectivos (Inoue et al., 2009). Apesar do mecanismo de transmissão de *Ca. Liberibacter* por psílídeos ainda não estar totalmente esclarecido, essa informação indica que o patógeno deve ser circulativo no vetor (Parra et al., 2010).

A transmissão transovariana de *Ca. L. asiaticus* ocorre em baixas taxas, de 2 a 6% (Pelz-Stelinski et al., 2010). Depois de adquirir o patógeno em planta infectada, *D. citri* necessita de um tempo para que seja capaz de inocular a bactéria em planta sadia, período conhecido como latência. Porém, o período de latência parece variar conforme as condições experimentais, havendo relatos de 24 h (Buitendag & von Broembsen, 1993), 8-12 dias (Da Graça, 1991) ou até 21 dias (Capoor et al., 1974).

Adultos de *D. citri* permanecem infectivos por até 12 semanas após a aquisição em plantas infectadas (Hung et al., 2004), indicando que a transmissão da bactéria pelo vetor é do tipo persistente. Foi demonstrado por PCR quantitativo que, com o passar do tempo, há aumento da concentração de *Ca. L. asiaticus* em ninfas de *D. citri*, de até 130 vezes em 20 dias após a aquisição (Vichin Neto et al., 2008; Inoue et al., 2009). Isso sugere que a transmissão é do tipo propagativa. Quando a aquisição ocorre na fase adulta, há tendência de estabilidade ou redução da concentração de *Ca. L. asiaticus* no inseto após 2 a 3 semanas (Nascimento, 2010). O patógeno já foi observado na hemolinfa e glândula salivar do inseto (Moll & Martin 1973; Xu et al. 1988), porém ainda não há evidências diretas de sua inoculação via saliva (Parra et al., 2010). *D. citri* pode adquirir ou inocular a *Ca. L. asiaticus* em um tempo mínimo de 15 a 30 minutos (Capoor et al. 1974) ou 5 h (Xu et al. 1988).

Estudos em relação a eficiência de transmissão de *Ca. Liberibacter* spp. por *D. citri* são bastante variáveis. Bonani (2009) observou que adultos de *D. citri* adquirem *Ca. L. asiaticus* com maior eficiência em folhas novas (assintomáticas) do que em folhas maduras (sintomáticas) de plantas infectadas. A maioria dos insetos que se alimentaram de folhas novas permaneceram mais tempo nesse tecido. Foi observado que *D. citri* realiza uma média de 20 provas em planta cítrica e, ao atingir o floema, a alimentação nos vasos crivados dura cerca de 206 minutos (para um período de 8 horas de avaliação). Estudos realizados a respeito da taxa de transmissão da bactéria pelo vetor são divergentes. Há relatos de 1 a 100% para insetos adultos (Capoor et al., 1974; Huang et al., 1984; Xu et al., 1988) e 67% para ninfas que se alimentaram por 24 horas em plantas infectadas (Inoue et al., 2009). Essa discrepância pode ser explicada por diferenças em biótipos do psíldeo (Su, 2001), estirpe da bactéria, e estágio de desenvolvimento do inseto (Inoue et al., 2009).

De acordo com Nascimento (2010), *D. citri* não é capaz de adquirir *Ca. L. asiaticus* e *Ca. Liberibacter americanus* simultaneamente, mesmo com períodos longos de aquisição (96h), tanto de plantas infectadas com *Ca. L. asiaticus* como por *Ca. Liberibacter americanus*. Adultos de *D. citri* que adquirem a *Ca. L. asiaticus* nos quarto e quinto ínstares ninfais, apresentam maior concentração bacteriana em relação àqueles que adquiriram a bactéria em outros estágios de desenvolvimento. Porém, de forma geral, psíldeos que adquirem a bactéria quando adultos são menos eficientes do que aqueles que adquiriram o patógeno na fase ninfal (Pelz-Stelinski et al., 2010).

O desenvolvimento e a ocorrência de *D. citri* são influenciados pela altitude, temperaturas máximas e mínimas, umidade relativa do ar e precipitações pluviais (Aubert, 1987b). Porém, a temperatura juntamente com ocorrência de fluxos vegetativos são os dois principais fatores que influenciam o desenvolvimento do inseto (Rogers & Stansly, 2007). Temperaturas mínimas mais elevadas, bem como as precipitações pluviais favorecem o surgimento de fluxos vegetativos e indiretamente a densidade de *D. citri* nessas condições (Tsai et al., 2002). As maiores densidades de adultos do *D. citri* no Brasil foram observadas no final da primavera e início do verão, devido a abundância de ramos novos em pomares de laranja (Yamamoto et al., 2001).

Paiva (2009) observou que as plantas cítricas no estado de São Paulo produzem novos ramos em determinadas ocasiões e em outras não, o que justifica a ocorrência alternada com ausência de *D. citri* em algumas áreas, sugerindo que há movimento de insetos adultos para plantas com disponibilidade de ramos em crescimento, para sua alimentação e oviposição. Sendo assim, a dispersão do psíldeo estaria em boa parte condicionada à presença e ausência desses ramos. Assim, não haveria um padrão de flutuação temporal da população do inseto, sendo variável de acordo com disponibilidade e abundância de ramos novos.

Na China, ocorrem três picos populacionais de *D. citri* por ano, um na primavera, um no verão e o terceiro no outono, coincidindo com a emissão de ramos novos. Naquele país foi observado que altas temperaturas e altas umidades relativas tiveram efeito negativo sobre as populações do inseto (Yang et al., 2006).

Plantas da família Rutaceae são hospedeiras tanto do patógeno como do vetor, sendo relatadas cerca de 21 espécies de hospedeiros. Em algumas dessas espécies não ocorre desenvolvimento completo dos insetos, em outras, o inseto coloca apenas ovos, sem sequência de crescimento na planta (Parra et al., 2010).

Não existe variedade comercial de copa ou de porta-enxerto imune à doença, existindo pequenas diferenças de resistência e tolerância entre elas (Manicon et al., 1990). Além de espécies importantes do gênero *Citrus* como todas as variedades comerciais de laranja doce, a espécie *Murraya paniculata* também é hospedeira tanto do psíldeo como da bactéria. Essa planta ornamental, conhecida popularmente como murta, é utilizada como cerca viva ou isoladamente em jardins (Nava et al., 2007; Bassanezi et al., 2010; Parra et al., 2010).

No Brasil, tanto *Candidatus Liberibacter asiaticus* como *Candidatus Liberibacter americanus* foram detectadas em plantas de murta (*Murraya paniculata*), em áreas cítricas infectadas com HLB (Manjunath, 2008).

Em um estudo conduzido por Walter & Hall (2012) foram encontradas baixas taxas de infecção em murtas urbanas na Califórnia. Isso sugere que murtas podem não servir como fonte de inóculo em potencial para disseminação de *Ca. L. asiaticus*.

Candidatus Liberibacter spp. induz sintomas bem evidentes, porém a população bacteriana encontra-se distribuída de forma irregular no interior do floema das plantas hospedeiras (Hung et al., 1999). Os sintomas do HLB iniciam-se com o amarelecimento de um ramo ou galho, que se destaca dos demais pela coloração amarelada, em contraste com o verde natural da copa. Nas folhas desses ramos, observa-se clorose ao longo da nervura principal, com manchas assimétricas e difusas. Essas manchas de diferentes tonalidade verde-amareladas contrastam com o verde natural das folhas, e compõe o sintoma conhecido como “mosqueado assimétrico” (Coletta Filho et al., 2004). Esse sintoma é observado em todos os locais nos quais a doença está presente, independentemente do agente causal, do hospedeiro e da condição ambiental (Bové, 2006b).

As folhas sintomáticas podem apresentar queda prematura, com desfolha em vários ramos, e posteriormente seca e morte dos ponteiros. Os frutos possuem tamanho reduzido, são assimétricos, ácidos e com baixa quantidade de açúcar (Yamamoto et. al., 2005). Apresentam manchas circulares amarelas e verde-claras e internamente pode ocorrer maturação irregular. É comum também a presença de sementes escuras e abortadas (Bové, 2006b; Coletta Filho & Carlos, 2010).

A redução na produtividade é diretamente proporcional à área da planta com sintomas de HLB, tendo sido observada redução de 70% na produção de frutos em plantas de 4 a 6 anos de idade com mais de 60% da copa sintomática (Bassanezi et al., 2006a). O HLB causa a morte econômica da planta em curto espaço de tempo e morte biológica com ataque severo da bactéria (Bové, 2006b).

O diagnóstico de HLB pode ser feito com foco nos hospedeiros, através de observações visuais, porém somente a observação de seus sintomas restringe a confiabilidade do diagnóstico. Testes de detecção do seu agente causal, tais como os moleculares, serológicos e observações microscópicas, são mais aceitos e confiáveis. Os métodos baseados na PCR “Polymerase Chain reaction” (Reação em cadeia da Polimerase), têm sido utilizados com sucesso no diagnóstico de *Liberibacter* (Coletta Filho et al., 2010).

A doença possui variado período de incubação e sazonalidade na expressão dos sintomas. O período de incubação refere-se ao intervalo de tempo

entre a transmissão da bactéria e o aparecimento dos primeiros sintomas visuais. Esse tempo pode ser de meses a mais de um ano, dependendo da época de infecção, combinação de copa e porta-enxerto e da idade da planta (McClellan & Oberholzer, 1965; Catling, 1970; Zhao, 1981; Aubert, 1987b; Gottwald et al., 1989; Yamamoto et al., 2006b).

A máxima incidência de plantas com sintomas visuais em São Paulo ocorre no outono e inverno. A causa pode estar relacionada com menores temperaturas nessas épocas, favorecendo maiores taxas de multiplicação da bactéria nos tecidos da planta (Lopes et al., 2009a). Plantas infectadas em diferentes períodos são propensas a apresentar sintomas na mesma época. Isso dificulta o monitoramento das plantas infectadas baseado na incidência de plantas com sintomas visuais (Bassanezi et al., 2010).

Por existirem períodos favoráveis à expressão de sintomas e por causa do período de incubação longo, é comum que uma planta assintomática, ou seja, sem sintomas visuais, possa estar infectada, agindo como fonte de inóculo para novas infecções. Quando isso ocorre, essas infecções são referidas como infecções crípticas.

A concentração de bactérias em plantas sem sintomas visuais pode ser tão alta quanto a concentração nas mesmas plantas já com sintomas evidentes (Lopes et al., 2009a). Mesmo em plantas infectadas, existe variação na concentração da bactéria em diferentes partes da árvore. Amostras coletadas de uma parte da planta com baixa quantidade da bactéria, podem gerar resultados negativos para o teste de PCR (Gottwald et al., 2008, Tatineni et al., 2008; Teixeira et al., 2008).

Epidemias de HLB são consideradas poliéticas, ou seja, necessitam de alguns anos para mostrar significativo aumento na intensidade da doença, e a quantidade de inóculo que inicia a epidemia em um ano é praticamente igual à quantidade de inóculo final do ano anterior. Porém são consideradas devastadoras, pois a evolução dos sintomas na planta pode ser rápida, com queda acentuada de frutos, causando morte econômica dos citros. É importante levar-se em consideração o retorno esperado do capital investido após sete anos, e expectativa de vida da planta maior que quinze anos (Gottwald et al., 1989; Bassanezi et al., 2006b; Gottwald et al., 2007a).

Se medidas de controle não são adotadas, pomares inteiros podem tornar-se inviáveis economicamente entre sete e dez anos após o aparecimento da primeira planta sintomática. Esse tempo pode ser menor para pomares mais jovens, com em média quatro anos, os quais se tornam economicamente inviáveis em cerca de cinco anos (Gottwald et al., 2007a). Na África do Sul, perdas ocasionadas pela presença do HLB podem variar de 30 a 100% (Le Roux et al., 2006). Na Indonésia no período de 1960 a 1970, foram erradicadas três milhões de plantas cítricas com sintomas da doença, enquanto que nas Filipinas a erradicação chegou a 7 milhões de plantas (Da Graça, 1991).

Todas as variedades cítricas plantadas comercialmente no Brasil são suscetíveis ao HLB. Como não existem métodos curativos para o controle da doença, prevenir a infecção é fundamental. A injeção de antibióticos (tetraciclina) na planta foi testada, porém quando interrompido o tratamento, os sintomas reapareceram (Bové, 2006a). A poda de ramos sintomáticos e assintomáticos também mostrou-se ineficaz (Lopes et al., 2007). Atualmente o controle da doença envolve o plantio de mudas sadias, a eliminação de plantas sintomáticas e o controle do inseto vetor, *D. citri*.

No Estado de São Paulo, é adotada a produção de mudas cítricas em viveiros telados e regularizados pelo estado. Não é permitido material propagativo de citros (borbulheiras, plantas matrizes e sementes), porta-enxertos e mudas cítricas produzidos a céu aberto. Além disso, a comercialização é feita com controle de origem e sanidade do material vegetal. Tais medidas auxiliam no controle das principais pragas e doenças dos citros naquele Estado, inclusive o HLB (Belasque Jr. et al., 2010).

A erradicação de plantas doentes mostra-se como um dos melhores métodos para redução de inóculo em uma área. No entanto, é necessário que se realizem inspeções periódicas, com intervalos de no máximo três meses, com o objetivo de detecção e eliminação imediata de todas as plantas identificadas com sintomas. As inspeções devem ser feitas em todas as plantas cítricas presentes na propriedade, e em plantas de citros em áreas não comerciais, pois se infectadas, servem como fonte de inóculo (Belasque Jr. et al., 2010). De acordo com a Instrução Normativa nº 53 (IN 53), produtores de citros devem realizar ao menos quatro inspeções por ano para detecção e eliminação das plantas com

sintomas de HLB e pomares com incidências superiores a 28% de plantas sintomáticas devem ser inteiramente eliminados.

O controle químico do inseto vetor é muito importante para a redução da taxa de progresso da doença. Para que seja efetivo, deve haver a alternância de inseticidas, objetivando reduzir o risco do surgimento de populações resistentes (Belasque Jr. et al., 2010). O monitoramento do inseto deve ser feito semanalmente determinando a presença do vetor em diferentes locais da propriedade (Paiva, 2009). Todas as estratégias de manejo devem ser realizadas de forma integrada, aumentando as chances de controle efetivo da doença (Belasque Jr. et al., 2010).

Como epidemias causadas pelo HLB são relativamente rápidas e destrutivas, o risco de sua introdução em áreas indenens é alto, através do inseto vetor *D. citri*, que é capaz de se movimentar ativamente por vôos curtos e ser carregado a longas distâncias por massas de ar (Bassanezi et al., 2010). Nos Estados Unidos, o início da epidemia foi marcado pelo fato de psílideos infectivos terem sido transportados por massas de ar durante furacões e tempestades por cerca de 88 quilômetros até pomares comerciais de citros (Gottwald et al., 2007b). A doença pode ser disseminada também através do transporte de mudas de murta ou citros infectadas, ou de carregamentos de frutos (Bassanezi et al., 2010). Na Flórida, acredita-se que o comércio de murtas tenha transportado o psílideo vetor infectado com *Ca. L. asiaticus* e facilitado a disseminação da doença (Manjunath et al., 2008). Halbert et al. (2010) encontraram psílideos em todos os carregamentos de frutos examinados, com número variando de 23 a 268 indivíduos por carga.

Desde a sua primeira detecção no estado de São Paulo, as localidades com presença de HLB têm aumentado constantemente. A doença já está presente em mais de 200 municípios paulistas, além de ter chegado a Minas Gerais e Paraná (Belasque Junior et al., 2010; Castro et al., 2010; Nunes et al., 2010; Ruiz et al., 2010). Caso a trajetória de disseminação da doença observada até o momento continue, há risco do surgimento do HLB em áreas ainda não afetadas. Ações de prevenção são fundamentais, assim como estratégias de exclusão e erradicação precoce. A eficácia das medidas de controle do HLB é muito maior quando aplicadas no estágio inicial da epidemia (Bassanezi et al., 2010). Como alternativa de mitigação de danos causados e erradicação precoce

do HLB em áreas indenens, têm-se o uso da parametrização e modelagem da disseminação da doença.

Em alguns locais citrícolas que possuem o HLB, algumas estratégias estão sendo desenvolvidas para minimizar as perdas econômicas causadas pela doença. O espaçamento de plantio usado tradicionalmente tem sido diminuído. A maior densidade em pomares aumenta a produtividade inicial e, em teoria reduz o impacto causado em decorrência da erradicação de plantas infectadas com HLB (Stuchi & Girardi, 2010). A antecipação do retorno econômico foi demonstrada em experimentos em diferentes regiões do mundo, como na China (Aubert, 1990) e na África do Sul (Muraro et al., 1995; Rabe et al., 1996; Mademba-Sy et al., 1999). Em São Paulo, notou-se um aumento da produtividade que permitiu safras cerca de 50% superiores em relação aos espaçamentos tradicionais (Donadio et al., 2002; Teófilo Sobrinho et al. 2000). O uso de maiores densidades de plantio pode compensar a redução do número de plantas com HLB, como a densidade de plantio é maior, a necessidade de replantas, em função da erradicação, torna-se dispensável, reduzindo assim custos (Stuchi & Girardi, 2010). Outra alternativa de manejo da doença, seria o aumento no espaçamento entre as plantas cítricas. A hipótese seria a de que espaçamentos mais largos reduziriam a probabilidade de uma planta infectada ser fonte de inóculo para outra. Além disso, permitiriam a adoção de sistema de produção alternativo como policultivos ou sistemas agroflorestais.

REFERÊNCIAS

AUBERT, B. High density planting (HDP) of Jiaogan mandarine in the lowland area of Shantou (Guangdong China) and implications for greening control. In: INTERNATIONAL ASIA PACIFIC CONFERENCE ON CITRUS REHABILITATION, 4., 1990, Chiang Mai, Thailand. **Proceedings...** Rome: FAO-UNDP. p. 149-157. Editado por B. Aubert, S. Tontyaporn, D. Buangsuwon.

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, 1987a.

AUBERT, B. Trioza erytrae Del Guercio and Diaphorina citri Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v.42, n. 3, p. 149-162, 1987b.

BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L. H.; BUSATO, L. A.; STUCHI, E. S. Damages caused by *Huanglongbing* on sweet orange yield and quality in São Paulo. In: PROCEEDINGS OF THE HUANGLONGBING GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, **Resumo S17...** Araraquara, São Paulo: Fundecitrus. 2006a.

BASSANEZI, R. B.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; GOTTWALD, T. R. Epidemiology of *huanglongbing* in São Paulo. In: **PROCEEDINGS OF THE HUANGLONGBING GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP**, Ribeirão Preto. 2006b, p.37.

BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A.; BELASQUE JUNIOR, J.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A. Epidemiologia do *huanglongbing* e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 11-24, 2010.

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**, v. 31, n. 1, p. 54-64, 2010.

BONANI, J. P. **Caracterização do aparelho bucal e comportamento alimentar *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae em *Citrus sinenses* (L.) Osbeck**. Piracicaba, 2009. 83 p. Tese (Doutorado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

BOVÉ, J.M. *Huanglongbing*: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal Plant Pathology**, Bari, v.88, n.1, p. 7-37, 2006a.

BOVÉ, J. M. História, Etiologia, Identificação no Campo, Transmissão e Distribuição Mundial do *Huanglongbing*: uma Destrutiva, Recém-Emergida, Doença Secular de Citros. In: HUNGLONGBING – GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, **Resumos...** v.1, Ribeirão Preto, 2006b.

BOVÉ, J. M.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BASSANEZI, R. B.; LOPES, S.A.; YAMAMOTO, P. T.; AYRES, A. J. Several Liberibacter and Phytoplasma species are individually associated with HLB. In: **PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL RESEARCH CONFERENCE ON HUANGLONGBING**, Orlando, 2008, p. 152-155.

BUITENDAG, C. H.; VON BROEMBSSEN, L. A. Living with citrus greening in South Africa. In: MORENO, P.; GRAÇA, J.V.; TIMMES, L. W. (Eds.). **Proceedings of the Twelfth Conference of the International Organization of Citrus Virologists**. University of California, Department of Plant Pathology, Riverside, CA, 1993, p. 269-273.

CAPOOR, S. P.; RAO, D. G.; VISWANATH, S. M. Greening disease of citrus in the Deccan Trap Contry and its relationship with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. In: WEATHERS, L. G.; COHEN, M. (Eds.). **Proceedings of the 6th Conference of the International Organization of Citrus Virologists**, University of California, Division of Agricultural Sciences, 1974, p.43-49.

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.

CATLING, H. D. The bionomics of the South African *Citrus psylla*, *Trioza erytrae* Del Guercio (Homoptera: Psyllidae). 4. Influence of predators. **Journal of Entomological Society of South Africa**, v.33, p. 341-348, 1970.

COLETTA-FILHO, H.D.; TAKITA, M.A.; TARGON, M.L.P.N.; CARLOS, F.E.; MACHADO, M.A. A bactéria *Candidatus Liberibacter* em plantas com *Huanglongbing* (ex-grenning) no estado de São Paulo. **Laranja**, v.25, n.2, p.367-374, 2004a.

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

COLETTA-FILHO, H.D., TAKITA, M. A., TARGON, M. L. P. N.; MACHADO M. A. Analysis of the 16S rDNA sequences from citrus-*huanglongbing* bacteria reveal a different "Ca. *Liberibacter*" strain associated to the citrus disease in Sao Paulo, Brazil. **Plant Disease**, v. 89, p. 848-852, 2005.

COLETTA FILHO, H. D.; CARLOS, E. F. Ferramentas para diagnóstico do *huanglongbing* e detecção de agentes associados: dos sintomas aos ensaios de laboratório. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.2, p.129-144, 2010.

COSTA LIMA, A. M. **Insetos do Brasil**, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. 101 p. (Série didática, 3: Homoptera).

DA GRAÇA, V. J. Citrus greening disease. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 29, p. 129-136, 1991.

DONADIO, L. C.; STUCHI, E. S.; SEMPIONATO, O. R. Variação de produtividade em laranja 'Pêra' sobre 'Cleópatra' em diversos espaçamentos, sem irrigação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002, Belém, PA. **Resumos...** Belém, PA: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002. 1 CD-ROM.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D. **Entomologia Agrícola**, Piracicaba: Ceres, 2002, 920 p.

GARNIER, M.; DANIEL, N.; BOVÉ, J.M. 1984. The greening organism is a Gram negative bacterium. In: **PROCEEDINGS OF 9th CONFERENCE OF INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS**, Riverside, 1984, p. 115-124.

GOTTWALD, T. R.; AUBERT, B.; ZHAO, X. Y. Preliminary analysis of citrus greening (*Huanglongbing*) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. **Phytopathology**, v. 79, p. 687-693, 1989.

GOTTWALD, T. R.; IREY, M.; GAST, T.; PARNELL, S.; TAYLOR, E.; HILF, M. E. Spatio-temporal analysis of an HLB epidemic in Florida and implications for future spread. In: **PROCEEDINGS OF THE 17th CONFERENCE OF INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS**, Univ. California, Riverside (in press), 2007a.

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

GOTTWALD, T. R.; PARNELL, S.; TAYLOR, E.; POOLE, K.; HODGE, J.; FORD, A.; THERRIEN, L.; MAYO, S.; IREY, M. Within-tree distribution of *Candidatus Liberibacter asiaticus* In: **PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL RESEARCH CONFERENCE ON HUANGLONGBING**, Orlando, 2008, p.310-313.

HALBERT, S. 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.

HALBERT, S.; MANJUNATH, K. L.; RAMADUGU, C.; BRODIE, M. W.; WEBB, S. E.; LEE, R. F. Trailers transporting oranges to processing plants move Asian citrus psyllids. **Florida Entomologist**, v. 93, n.1, p. 33-38, 2010.

HUANG, C. H.; TSAI, M. Y.; WANG, C. L. Transmission of citrus likubin by a psyllid, *Diaphorina citri*. **Journal of Agricultural Research of China**, v. 33, p. 15-72, 1984.

HUNG, T. H.; WU, M.L.; SU, H. J. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the Polymerase Chain Reaction. **Journal of Phytopathology**, v. 147, p. 599-604, 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, p. 96-102, 2004.

INOUE, H.; OHNISHI, J.; ITO, T.; TOMIMURA, K.; MIYATA, S.; IWANAMI, T.; ASHIHARA, W.; Enhanced proliferation and efficient transmission of Candidatus Liberibacter asiaticus by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. **Annals of applied Biology**, v. 155, p. 29-36, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Confronto das Safras de 2009 e 2010 – Brasil – Junho 2010. **Levantamento sistemático de produção agrícola**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_2010_06_5.shtm> Acesso em: 24 Fev. 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores do IBGE-Estatística da produção agrícola** - Brasil-Dezembro 2011. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201112.pdf > Acesso em: 23 Fev. 2012.

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.

LE ROUX, H. F.; VAN VUUREN, S. P.; MANICON, B. Q. *Huanglongbing*. In: South Africa. **Resumo**. In: *HUANGLONGBING–GREENING INTERNATIONAL SYMPOSIUM*, Ribeirão Preto, 2006, p. 5-9.

LIN, K. H. Observation on yellow shoot of citrus. Etiological study of yellow shoot of citrus. **Acta Phytopathologica Sinica**, v.2, p. 1-42, 1956.

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, p. 201-206, 2000.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; MARTINS, E. C. Plantas Hospedeiras de *Liberibacter* no Brasil. In: *HUANGLONGBING – GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP*, 1, 2006, Ribeirão Preto. **Resumos...** [S11] Araraquara: Fapesp Project 2005/00718-2.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; YAMAMOTO, P. T.; AYRES, A. J.; BARBOSA, J. C. Ineffectiveness of purging to control citrus *huanglongbing* caused by *Candidatus Liberibacter americanus*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, p. 463-468, 2007.

LOPES, S. A.; BERTOLINI, E.; FRARE, G. F.; MARTINS, E. C.; WULFF, N. A.; TEIXEIRA, D. C.; FERNANDES, N. G.; CAMBRA, M. Graft transmission efficiencies and multiplication of '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in citrus plants. **Phytopathology**, v. 99, p. 301-306, 2009a.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; BERTOLINI, E.; CAMBRA, M.; FERNANDES, N. G.; AYRES, A. J.; MARIN, D. R.; BOVÉ, J. M. Liberibacters associated with citrus *huanglongbing* in Brazil: 'Candidatus Liberibacter asiaticus' is heat tolerant, 'Candidatus Liberibacter americanus' is heat sensitive. **Plant disease**, v. 93, p. 257-262, 2009b.

MADEMBA-SY, F.; LEBEGIN, S.; LEMERRE-DESPREZ, Z. Use of the *Poncirus trifoliata* Flying Dragon as dwarfing rootstock for citrus under tropical climatic conditions. **Fruits**, Paris, v. 54, n. 5, p. 299-310, 1999.

MAJUNATH, 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, p. 387-396, 2008.

MANICON, B. Q.; VAN VUUREN, S. P. Symptoms of greening disease with special emphasis on Africa Greening. In: INTERNATIONAL ASIA-PACIFIC CONFERENCE OF CITRUS REHABILITY, 1990. **Proceedings...** Singapore, p.127-131.

MARTINEZ, A. L.; WALLACE, J. M. Citrus leaf mottle-yellows disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid, *Diaphorina citri*. **Plant Disease Reporter**, v. 51, p. 692-695, 1967.

MARTÍNEZ, Y.; LLAUGER, R.; BATISTA, L.; LUIS, M.; IGLESIA, A.; COLLAZO, C.; PEÑA, I.; CASÍN, J. C.; CUETO, J.; TABLADA, L. M. First report of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' associated with *Huanglongbing* in Cuba. **Plant Pathology**, v. 58, p. 389-389, 2009.

MCLEAN, A. D. P.; OBERHOIZER, P. C. T. Citrus psylla, a vector of the greening disease of sweet orange. **South African Journal of Science**, v. 8, p. 297-298, 1965.

MICHAUD, J. P. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. **Biological Control**, v. 29, p. 260-269, 2004.

MOLL, J. N.; MARTIN, M. N. Electron microscope evidence that citrus psylla (*Trioza erytreae*) is a vector of greening disease in South Africa. **Phytophylactica**, v. 5, p. 41-44, 1973.

MURARO, R. P.; CASTLE, W. S.; WHEATON, T. A.; WHITNEY, J. D.; TUCKER, D. P. H. An analysis of how planting density and rootstock vigor affect the economic performance of 'Valencia' trees. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Gainesville, v.108, p. 160-164, 1995.

NASCIMENTO, F. E. **Estudos sobre aquisição e concentração de por "Candidatus Liberibacter asiaticus" e "Candidatus Liberibacter americanus" em *Diaphorina citri* kuwayama**. Piracicaba, 2010. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo.

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 at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, p. 709-715, 2007.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F.; TROMBIM, V. G.; AMARO, A. A.; NEVES, E. M.; JANK, M. S. **Caminhos para a Citricultura: uma agenda para manter a liderança mundial**. São Paulo-SP. Editora Atlas SA. 2007, 114 p.

NUNES, W. M. C., SOUZA, E. B.; LEITE JUNIOR, R. P.; SALVADOR, C. A.; RINALDI, D. A.; CROCE FILHO, J.; PAIVA, P. G. Plano de ação para o controle do *huanglongbing* no estado do Paraná, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 2, p. 169-178, 2010.

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. Piracicaba, 2009, 65 p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

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**, v. 31, n. 1, p. 37-51, 2010.

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.

RABE, E.; WARRINGTON, J.; TOUA, J. Spacing densities: an economic perspective. In: **INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS**, Sun City, South Africa, 1996. Proceedings... Sun City: International Society of Citriculture, 1996, v. 2, p. 825-831.

RABE, E. Citrus canopy management: effect of nursery tree quality, trellising and spacing on growth and initial yields. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 515, p. 273-279, 2000.

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

ROGERS, M. E.; STANSLY, P. A. Psyllid management update. **Citrus Industry**, Ocala, v.88, n. 4, p. 19-21, 2007.

RUIZ, G.J.P.; TOZZER, JUNIOR, H. J.; SGUAREZI, C. N.; USBERTI, R.; MARTELLO, V. P.; TOMAZELA, M. S. Ações de defesa sanitária vegetal no estado de São Paulo contra o *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 155-162, 2010.

SALIBE, A. A.; CORTEZ, R. E. Studies on the leaf mottling disease of citrus in the Philippines. **FAO Plant Prot. Bull**, v. 14, p. 141-144, 1966.

SEAGRI, Secretaria de agricultura, irrigação e reforma agrária-Superintendência de política do agronegócio. **Produção, área colhida e crescimento (Laranja 2009/2010)**. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/PDF_SUAF/prod_laranja.pdf> Acesso em: 10 de abril 2012.

STUCHI, E. S.; GIRARDI, E. A. Utilização de Práticas Culturais na Citricultura Frente ao *Huanglongbing*, documentos 191, Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-4996, 2010. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos/documentos_191.pdf>. Acesso em: 30 de abril de 2012.

SU H. J. Citrus greening disease. Food and Fertilizer Technology Center Technical notes. **Plant Protection**, v. 2, 2001.

TATINENI, S.; SAGARAM, U. S.; GOWDA, S.; ROBERTSON, C. J.; DAWSON, W. O.; IWANAMI, T.; WANG, N. Planta distribution of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and Real-Time PCR. **Phytopathology**, v. 98, p. 592-599, 2008.

TEIXEIRA D. C.; AYRES, A. J.; KITAJIMA, E. W.; TANAKA, F. A. O.; DANET, J. L.; JAGUEIX-EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J. M. First report of a *huanglongbing*-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil, and association of a new liberibacter species, '*Candidatus Liberibacter americanus*', with the disease. **Plant Disease**, v. 89, p. 107, 2005a.

TEIXEIRA, D. C.; DANET, J.L.; EVEILLARD, S.; MARTINS, E.C.; JESUS JUNIOR. W.C.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; 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, p. 173-179, 2005b.

TEIXEIRA D. C.; SAILLARD, C.; COUTURE, C; MARTINS, E. C.; WULFF, N. A.; JAGUEIX-EVEILLARD, S.; YAMAMOTO, P. T.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M.

Distribution and quantification of *Candidatus Liberibacter americanus*, agent of *huanglongbing* disease of citrus in São Paulo State, Brasil, in leaves of an affected sweet orange tree as determined by PCR. **Molecular and Cellular Probes**, v. 22, p. 139-150, 2008.

TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; LOPES, S.A.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P. DE; SPÓSIO, M. B.; BELASQUE JÚNIOR, J.; BASSANEZI, R. B. Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 2, p. 115-128, 2010.

TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J. O.; LARANJEIRA, F. F.; SALIBE, A. A. Produção e qualidade de frutos de laranja 'Valência' sobre trifoliateiro 'Limeira' em cinco densidades de plantio. **Revista Laranja**, Cordeiropolis, v. 21, n. 2, p. 345-358, 2000.

TSAI, J.H. & LIU, Y.H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on Four Host Plants. **J. Econ. Entomology**, v. 93, p. 1721-1725, 2000.

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

VAN De MERWE, A. J.; ANDERSON, F. G. Chromium and manganese toxicity. Is it importante in transvaal citrus greening? **Farming in South Africa**, v. 12, p. 439-440, 1937.

VAN VUUREN, S. P.; GRAÇA, J. V. The effects of exposure time and monocrotophos on citrus greening transmission by psylla (*Trioza erytreae*). **Citrus Subtropical Fruit Journal**, v. 536, p. 13-14, 1977.

VICHIN NETO, R.; NASCIMENTO, F. E.; BALBONOTTR, J.; COLETTA-FILHO, H.; LOPES, J. R. S. Comparação da capacidade de aquisição de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em citros por ninfas e adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama

(hemiptera:Psyllidae). **Resumos...** In: 16º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-USP, São Paulo, 2008.

WALTER, A. J.; HALL, D. G. Low Incidence of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' in *Murraya paniculata*, **Plant Disease**, v. 96, p. 827-832, 2012.

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: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 10., 1988.

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, p. 165-170, 2001.

YAMAMOTO, P. T.; LOPES, S.A.; BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J. Citrus *huanglongbing* in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the Candidatus Liberibacter species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, p. 173-179, 2005.

YAMAMOTO, P. T.; TEIXEIRA, D. C.; MARTINS, E. C. Detecção de Candidatus Liberibacter americanus e asiaticus em *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemíptera:Psyllidae). In: *HUANGLONGBING-GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP*, 1., 2006, Ribeirão Preto. **Poster...**[P10] Araraquara: Fundecitrus, Departamento Científico, 2006a.

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* (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. In: *PROCEEDINGS OF HUANGLONGBING GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP*, Ribeirão Preto, 2006b, p. 96.

YANG, Y.; MINGDU, H.; ANDREW, G.; BEATTIE, C.; XIA, Y.; OUYANNG, G.; XIONG, J. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri*

Kuwayama, major pest of citrus. A status report for China. **International journal of Pest Manegement**, v. 52, n. 4, p. 343-352, 2006.

ZHAO, X. Y. Citrus yellow shoot (*Huanglongbing*) in China: a review. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, v. 1, p. 466-469, 1981.

CAPÍTULO 1

**OBTENÇÃO DE PARÂMETROS RELATIVOS AO VETOR
E HOSPEDEIROS PARA MODELAGEM *EX-ANTE* DA
DISSEMINAÇÃO DO HLB DOS CITROS NO RECÔNCAVO DA
BAHIA.**

RESUMO

SANTOS, T.T.C. Obtenção de parâmetros relativos ao vetor e hospedeiros para modelagem *ex-ante* da disseminação do HLB dos citros no Recôncavo da Bahia.

No Brasil, a principal doença dos citros, *Huanglongbing* (HLB), é relatada nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. causada pelas bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* e transmitida pelo psílideo *Diaphorina citri*, encontrado em todo país. Dentre os principais hospedeiros tanto do vetor como das bactérias têm-se a maioria das variedades comerciais de citros, além de uma planta ornamental conhecida como murta (*Murraya paniculata*). A doença é de difícil controle, não existe método curativo, prevenir a infecção é fundamental. O objetivo deste trabalho foi estimar parâmetros relacionados a populações do vetor e do hospedeiro, para serem usados em modelos matemáticos de apoio a estratégias relativas à erradicação precoce do HLB caso introduzido nessa área indene. Os dados foram obtidos por meio monitoramento quinzenal de plantas em quatro coortes de avaliação em zona rural e urbana da cidade de Cruz das Almas, região do Recôncavo da Bahia. Em cada coorte, foram selecionadas 20 plantas, contando-se o número de brotações novas e o número de insetos adultos, ninfas e ovos em 20 ramos. Para cada variável foi calculada a média e o erro padrão. Nas condições do Recôncavo baiano, as médias em murta foram superiores que as dos pomares para todas as variáveis analisadas. A média de adultos de *D. citri* em murta foi cerca de 17 vezes maior que o registrado nas áreas de citros. Apesar disso, a média da proporção de plantas infestadas com o psílideo em plantas de murta foi apenas 5 vezes maior que a média dos pomares. Porém a menor densidade de murta na região associada ao fato dessa plantas não serem consideradas eficientes hospedeiras das *candidatus spp.*, sugerem pouco significado epidemiológico de murtas para a disseminação da doença no Recôncavo baiano.

Palavras-chave: *Diaphorina citri*, epidemiologia, *Huanglongbing*, *Murraya paniculata*, parametrização.

ABSTRACT

SANTOS, T.T.C. Obtaining vector and host related parameters for *ex-ante* modeling of HLB spread in the Recôncavo of Bahia.

In Brazil, Huanglongbing (HLB) is the most important citrus disease, reported in the states of São Paulo, Minas Gerais and Paraná. It is caused by the bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Candidatus Liberibacter americanus*, both transmitted by *Diaphorina citri*, a psyllid found throughout the country. The main hosts for both vector and bacteria are the commercial citrus varieties and the orange jasmine (*Murraya paniculata*), an ornamental plant. As the disease is difficult to control and there is no curative method, preventing infection is critical. The aim of this study was to estimate population parameters related to the vector and the hosts. Such parameters should be used in mathematical models to support strategies for HLB's early eradication should it is introduced in previously unaffected areas. The data were obtained through biweekly monitoring of plants in four cohorts in rural and urban areas of Cruz das Almas city, in the Recôncavo of Bahia region. In each cohort, we selected 20 plants, counting the number of new shoots and the number of adult insects, nymphs and eggs in 20 branches. All variables showed higher values in orange jasmine compared to citrus plants. The average number of *D. citri* adults in orange jasmine was about 17 times higher than that recorded in citrus groves. Nevertheless, the average proportion infested orange jasmine plants was only 5 times greater than the average in the orchards. However, the lower density of orange jasmine in the region associated with the fact that plants are not considered efficient hosts of *Candidatus Liberibacter* spp. suggest little epidemiological significance of orange jasmine to the eventual spread of the disease in the Recôncavo Baiano.

Keywords: *Diaphorina citri*, epidemiology, *Huanglongbing*, *Murraya paniculata*, parameterization.

INTRODUÇÃO

A região Nordeste produz 9,8% da laranja do Brasil. Destacam-se Bahia e Sergipe, com participação de 5,2% e 4,2%, respectivamente, na produção nacional (IBGE, 2011). A Bahia é o segundo produtor brasileiro de laranja, com uma produção de 1.018.416 toneladas (IBGE, 2011). Os citros são produzidos em quase todas as regiões fisiográficas baianas, porém a maior parte dos plantios concentra-se no Litoral Norte (78%) e Recôncavo (17%). O Litoral Norte possui área colhida de 48.439 hectares e produção de 769.184 toneladas, com destaque para o município de Rio Real. O Recôncavo possui área colhida de 9.003 hectares e produção de 164.045 toneladas, com destaque para o município de Cruz das Almas, com área colhida de 2.154 hectares e produção de 45.234 toneladas (SEAGRI, 2010).

Apesar da cultura do citros ser rentável, enfrenta vários problemas fitopatológicos. Recentemente foi detectada no Brasil a principal doença da citricultura mundial, o *huanglongbing* (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005), altamente destrutiva para os pomares e de difícil controle (Bové, 2006a). No Brasil, o *huanglongbing* (HLB) é associado a *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* (Bové et al., 2008), bactérias gram-negativas que vivem e se desenvolvem no floema das plantas hospedeiras (Garnier et al., 1984). A transmissão da doença pode ocorrer através de enxertia de material vegetal infectado (Bové, 2006a) ou pelo inseto vetor, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Martinez & Wallace, 1967). Todas as variedades cítricas comerciais são hospedeiras tanto do patógeno quanto do inseto, assim como a *Murraya paniculata* (L.), planta ornamental conhecida como murta-de-cheiro (Nava et al., 2007; Bassanezi et al., 2010; Parra et al., 2010).

Até a detecção do HLB, o psilídeo *Diaphorina citri* era considerado praga secundária dos citros. Por causa da capacidade de transmissão das bactérias causadoras da doença, atualmente é a principal praga da cultura. É um inseto sugador que mede de 2 a 3 mm de comprimento e, quando adulto, possui corpo mosqueado de marrom (Aubert, 1987; Gallo et al., 2002). Seus ovos são oblongos, com coloração alaranjada. Suas ninfas são pequenas e achatadas, de coloração amarelada, passando por cinco ínstares (Liu & Tsai, 2000). Elas podem

adquir *Candidatus Liberibacter asiaticus* em todos os seus ínstares (Nascimento, 2010).

Temperaturas mínimas mais elevadas e precipitações pluviais favorecem o surgimento de fluxos vegetativos, tais condições favorecem o aumento da população do inseto (Tsai et al., 2002), visto que a oviposição ocorre em gemas recém brotadas (Yamamoto et al., 2001; Tsai et al., 2002; Paiva, 2009). Em São Paulo, foi observada maior densidade de adultos no final da primavera e início do verão (Yamamoto et al., 2001). Porém, em levantamentos conduzidos por Paiva (2009), foram encontrados psílídeos mesmo no inverno. Tal fato sugere não existir um padrão de distribuição temporal do *Diaphorina citri* naquele estado.

Segundo Paiva (2009) a densidade de ninfas é maior que de adultos. Houve altas infestações de ninfas, com ausência de adultos em amostragens subsequentes, o que sugere alta mortalidade de ninfas. Outra hipótese é a de que os adultos emergidos se movimentaram para outras plantas hospedeiras, já que pode haver ausência temporária de ramos novos nas plantas de um pomar.

O HLB causa a morte econômica da planta em curto espaço de tempo (Bové, 2006b). Seus principais sintomas são: amarelecimento de um ou mais ramos, manchas difusas nas folhas com tonalidades verde-amareladas (mosqueado) (Coletta Filho et al., 2004), frutos com tamanho reduzido, assimétricos e sementes escuras, abortadas (Bové, 2006a). A doença está presente nos estados de São Paulo (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005a), Minas Gerais e Paraná (Castro et al., 2010; Nunes et al., 2010). Seu controle envolve práticas de caráter preventivo como o plantio de mudas saudáveis, a eliminação de plantas sintomáticas e controle do psílídeo, diminuindo as chances de aquisição e transmissão do patógeno (Belasque Jr. et al., 2010).

Como alternativa de controle da doença, a IN 53 (Instrução normativa Nº 53) proíbe a produção, o comércio e o trânsito de material propagativo de plantas de murta nos municípios de ocorrência da praga. A presença da murta em uma unidade de produção agropecuária aumenta em 2,5 vezes a probabilidade de haver plantas cítricas sintomáticas em um talhão (Atihe Junior et al., 2006). Nos EUA as constantes brotações em murta podem ser um

fator de manutenção de populações do vetor quando não há brotações em citros (Tsai & Liu, 2000; Tsai et al., 2002).

Apesar da doença estar restrita a alguns estados brasileiros o vetor encontra-se distribuído em outras regiões citrícolas do país (Costa Lima, 1942). No entanto, pouco se sabe sobre a frequência, densidade e flutuação de sua população em outros locais que não São Paulo. Além disso, não se conhece o impacto de populações urbanas de *M. paniculata* nas populações de *D. citri*. Essas informações são cruciais para a geração de estratégias relativas à erradicação precoce do HLB em caso de introdução em áreas indenes como a Bahia. Em função das dificuldades inerentes ao teste de hipóteses referentes ao controle do HLB em campo, tais estratégias devem ser avaliadas por meio de modelos matemáticos. No entanto, tais modelos só serão úteis se forem subsidiados por parâmetros confiáveis, obtidos em estudos de campo.

O objetivo deste trabalho foi estimar parâmetros relacionados a populações do inseto vetor do HLB em hospedeiros alternativos em áreas urbanas e em pomares comerciais de citros. Tais parâmetros serão usados futuramente na modelagem da disseminação e controle do HLB em nível regional.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados foram obtidos por meio de monitoramento de plantas em quatro coortes de avaliação em zona rural e urbana da cidade de Cruz das Almas, região do Recôncavo da Bahia. O termo coorte é um termo técnico utilizado em análise estatística para designar o acompanhamento de um grupo de indivíduos similares ao longo do tempo (Twisk, 2003). Na zona rural, foram selecionadas três coortes, cada uma delas sendo um pomar comercial de laranjeira Pêra enxertada em limoeiro Cravo, com idade entre três e seis anos. Duas das áreas (a 1 e a 2) localizavam-se na localidade de Ponto Certo, enquanto a terceira (3) estava situada na localidade de Boca da Mata (Figura 1). Em cada pomar, selecionaram-se 20 plantas ao acaso, adotando-se o critério de uniformidade visual entre elas. Para compor a coorte da zona urbana, foram selecionadas 20 plantas de murta, distribuídas em diferentes bairros (Figura 2), selecionadas de acordo com idade aproximada, similaridade de tamanho, e uniformidade da copa.

Em cada pomar e na zona urbana, as plantas (citros e murta) foram monitoradas em frequência quinzenal, registrando-se os dados relativos ao inseto em 20 ramos de cada planta, cinco por quadrante. Para tanto, foi considerado como quadrante cada uma das quatro partes da planta localizadas em um ponto geográfico distinto (norte, sul, leste, oeste). A seleção dos ramos amostrados foi feita considerando-se apenas as brotações novas, identificadas pela coloração verde-claro e haste em formato triangular (Figura 3). Em cada ramo amostrado foi feita a contagem do número de ovos, de ninfas (sem distinção de instares) e de insetos adultos. Em adição, contou-se o número total de brotações novas em cada planta. As variáveis de interesse foram calculadas a partir dos dados registrados para cada ramo em cada quadrante de cada planta. Para cada variável, foi calculada a média e o erro padrão em cada avaliação, assim como valores máximos e mínimos. Os gráficos para cada variável foram produzidos no software Sigmaplot 10. As variáveis analisadas e sua obtenção são descritas a seguir:

- i. Brotações novas por planta: média do número total de brotações novas em cada planta.

- ii. Número de ovos, ninfas ou adultos por ramo: média das contagens de cada fase em todos os ramos avaliados.
- iii. Proporção de ramos infestados com ovos, ninfas ou adultos: relação entre o número de ramos infestados por cada uma das fases, dividido pelo número total de ramos avaliados. Essa proporção foi obtida para cada planta e, a seguir, calculada a média entre as plantas de cada coorte.
- iv. Proporção de plantas infestadas: relação entre o número de plantas com presença de insetos em fase de ninfas, ovos e adultos e o número total de plantas avaliadas em cada coorte.
- v. Número de adultos por planta: média obtida pela soma do número total de insetos adultos observados em cada planta, dividida pelo número total de plantas avaliadas.



Figura 1. Localização das coortes avaliadas na zona rural de Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia, de fevereiro de 2011 a maio de 2012. As áreas 1 ($12^{\circ}42'03,3''S$ $39^{\circ}09'14,2''O$) e 2 ($12^{\circ}41'51,2''S$ $39^{\circ}09'16,6''O$) situavam-se na localidade de Ponto Certo, e a área 3 ($12^{\circ}40'13,2''S$ $39^{\circ}09'39,5''O$), na localidade de Boca da Mata.



Figura 2. Localização das 20 plantas de murta da coorte da zona urbana da cidade de Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia, distribuídas em diferentes bairros. O pino vermelho ($12^{\circ}40'26,36''S$ $39^{\circ}06'06,09''O$) indica a posição da praça principal da cidade.

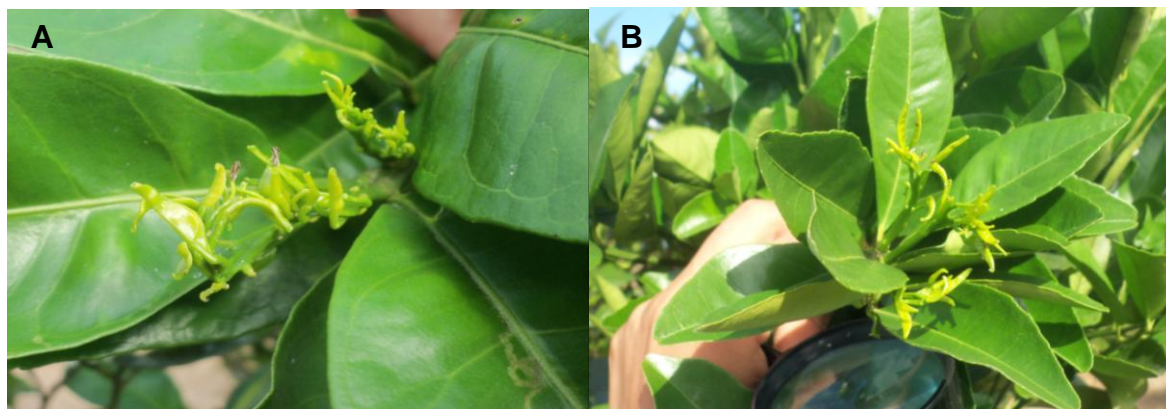


Figura 3. Brotações novas em citros, identificadas pela coloração verde-claro e haste em formato triangular: A. Gemas recém brotadas com insetos adultos; B. Brotações novas em contraste com folhas maduras.

RESULTADOS

Os valores observados para brotações novas por planta variaram de 0 a 92,5 nos pomares, com média 7,1 para área 1, 13,1 para a área 2 e 10,3 para a terceira coorte (Figura 4). Os valores máximos foram observados nos meses de abril e agosto de 2011 e maio de 2012, enquanto os menores diferentes de zero, foram registrados em junho de 2011, e fevereiro e março de 2012. O pomar 1 foi o que apresentou menor números de brotações durante o período avaliado, mas somente em março de 2012 não houve nenhuma brotação nova. Já o pomar 3 não apresentou nenhuma brotação nova entre janeiro e março de 2012. Em relação às murtas, a média de brotações novas foi de 54,4 (Figura 5), com máximo em agosto e outubro de 2011 (110,4), e mínimo (14,0) em março de 2012. Em média, o número de brotações novas da plantas de murta foi 5,5 vezes maior que o observado para os pomares.

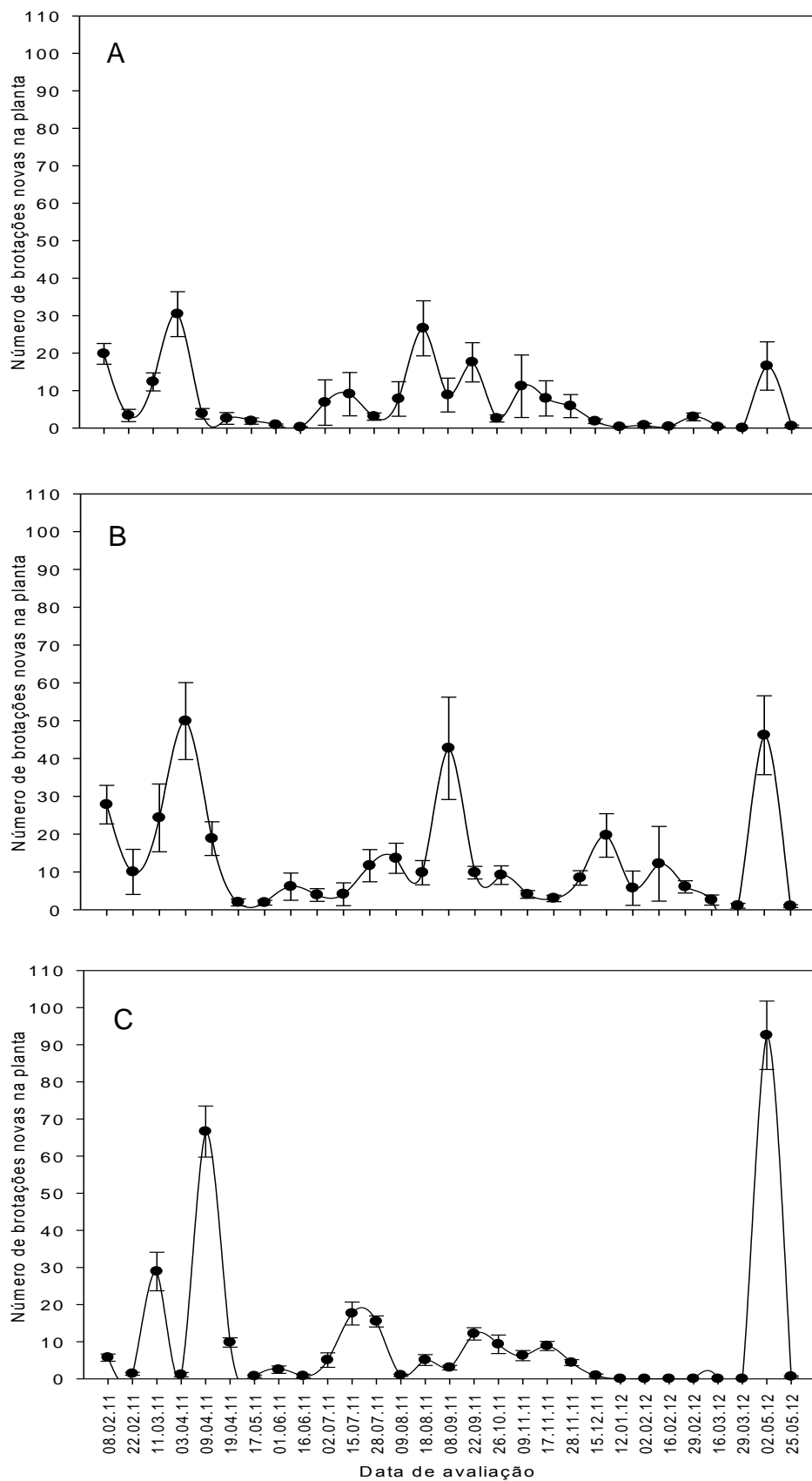


Figura 4. Média e erro padrão do número de brotações novas por planta em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

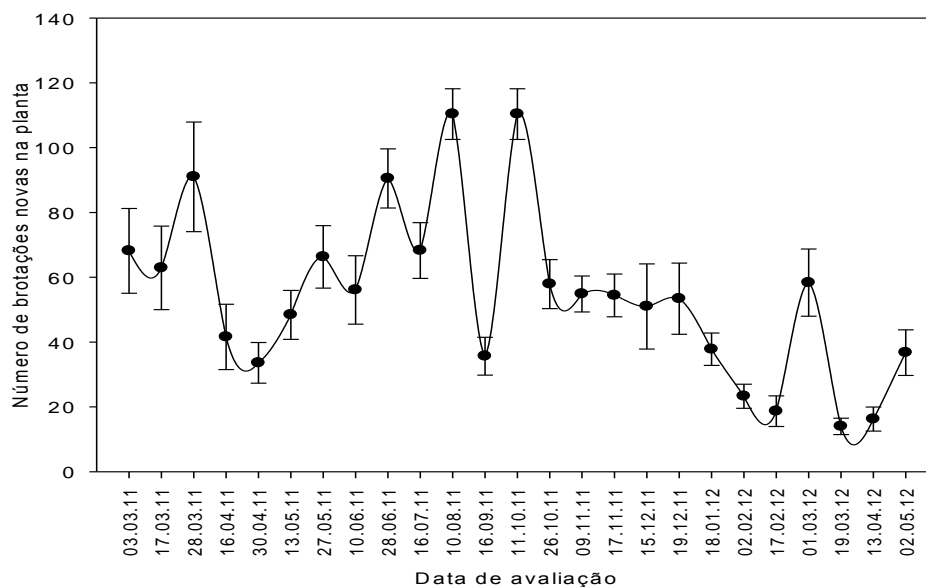


Figura 5. Média e erro padrão do número de brotações novas em plantas de murta da zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

O número de ovos por ramo variou de 0 a 0,2175 nos pomares, com média 0,0069 para a área 1; 0,0030 para a área 2 e 0,0196 para a terceira coorte (Figura 6). Valores tão baixos podem ser reflexo do fato de que nos três pomares houve vários meses em que os ovos não foram encontrados. Os valores máximos foram observados nos meses de novembro (2011) e fevereiro (2012), e vários meses apresentaram 0,0025 como menor valor, o que representa apenas um ovo por área avaliada. Nas murtas, o número de ovos por ramo variou de 0 a 1,4, com média de 0,39 (Figura 7). Os valores máximos foram observados nos meses de maio, junho e novembro (2011), enquanto que os menores foram registrados nos meses de fevereiro (2012) e março (2011 e 2012). Somente em março de 2011 não foram encontrados ovos nas plantas de murtas. Em média, o número de ovos por ramo nas plantas de murta foi quase 40 vezes maior que o observado nos pomares cítricos.

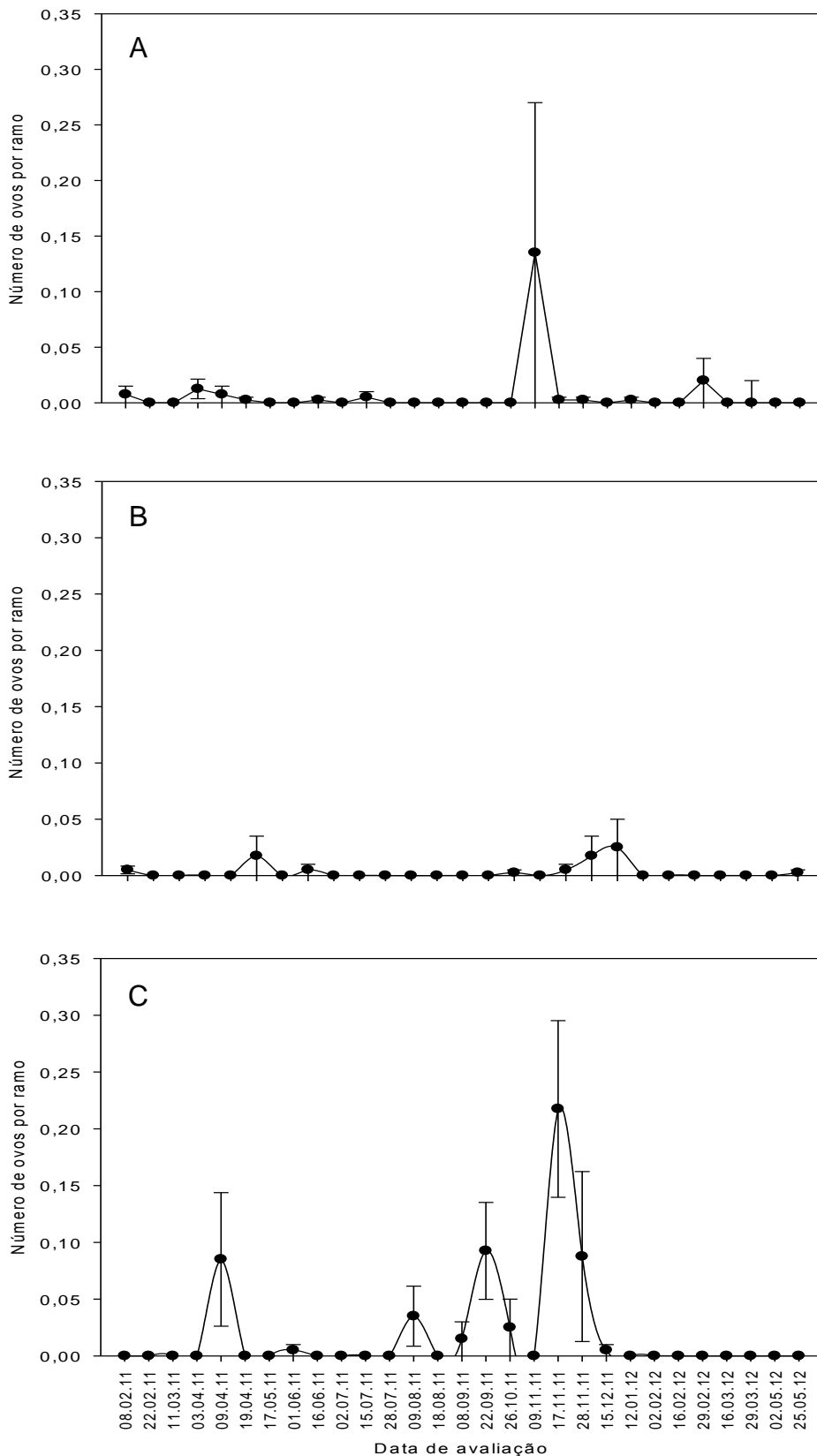


Figura 6. Média e erro padrão do número de ovos de *D. citri* por ramo em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

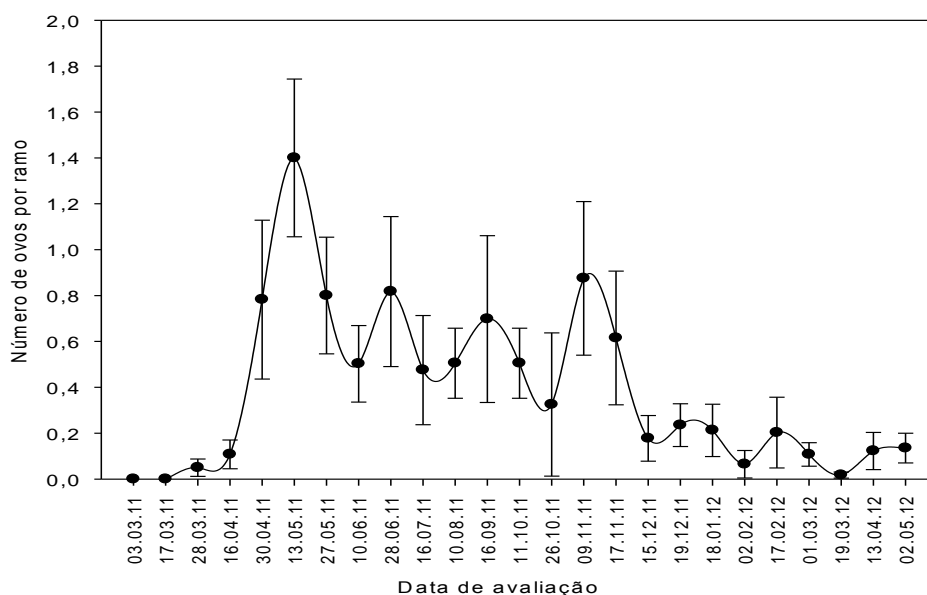


Figura 7. Média e erro padrão do número de ovos de *D. citri* por ramo em plantas de murta na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

O número de ninfas por ramo variou de 0 a 4,94 nos pomares, com média 0,10 para a área 1; 0,06 para área 2 e 0,29 para a terceira coorte (Figura 8). Os valores máximos foram observados entre fevereiro e abril de 2011, enquanto os menores foram registrados em setembro (2011) e novembro de 2011 e no primeiro semestre de 2012. Em alguns dos meses não foram observados estádios ninfais. Nas plantas de *Murraya*, os valores variaram de 0,15 a 2,12, com média de 0,59 (Figura 9). Os valores máximos foram observados nos meses de março (2011) e maio (2011 e 2012), enquanto que os menores foram registrados em março e outubro de 2011 e abril de 2012. Em nenhuma das avaliações deixou-se de se observar a presença de ninfas em murta. A média do número de ninfas de *D. citri* por ramo de murta foi cerca de quatro vezes maior que a média dos pomares.

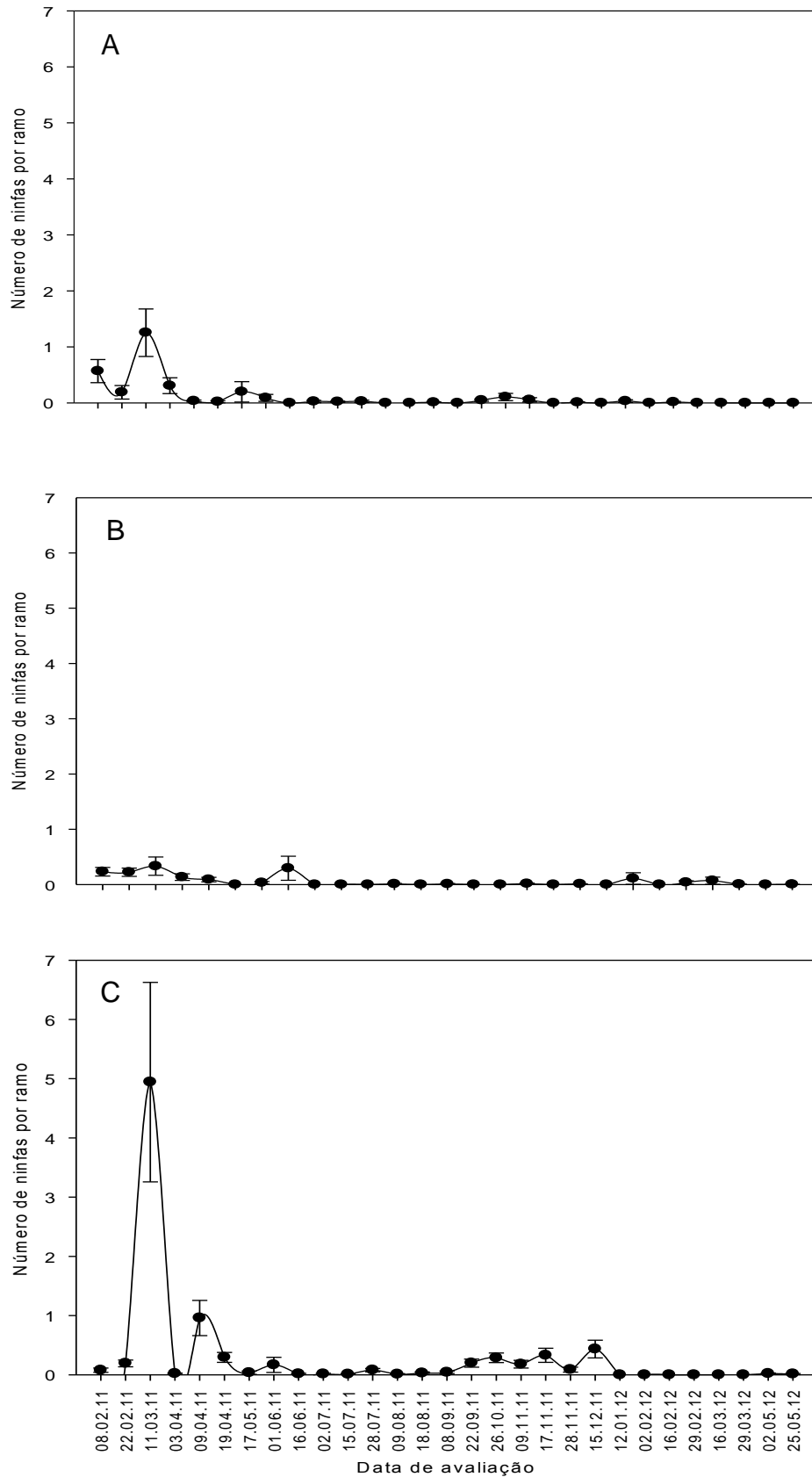


Figura 8. Média e erro padrão do número de ninfas de *D. citri* por ramo em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

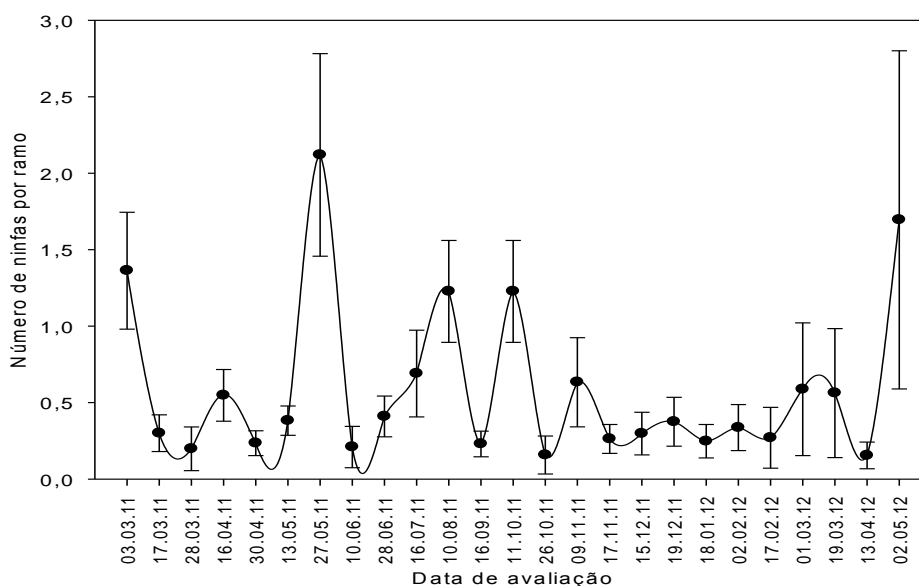


Figura 9. Média e erro padrão do número de ninfas de *D. citri* por ramo em plantas de murta na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

O número de adultos de *D. citri* por ramo variou de 0 a 0,153 nos pomares, com média 0,006 para a área 1; 0,009 para área 2 e 0,021 para a terceira coorte (Figura 10). Os valores máximos foram observados entre fevereiro e abril de 2011, enquanto os menores diferentes de zero foram registrados nos meses de março, junho, agosto, setembro, novembro (2011), janeiro, fevereiro e maio (2012). Nas plantas de *Murraya*, o número de adultos por ramo variou de 0,085 a 0,553, com média de 0,204 (Figura 11). Os valores máximos foram observados nos meses de março a maio de 2011 e em maio de 2012, enquanto os menores foram registrados nos meses de setembro (2011), janeiro e fevereiro (2012). Em todas as avaliações verificou-se a presença de inseto adulto nas murtas. A média nessas plantas foi cerca de 17 vezes maior que a média obtida nos pomares.

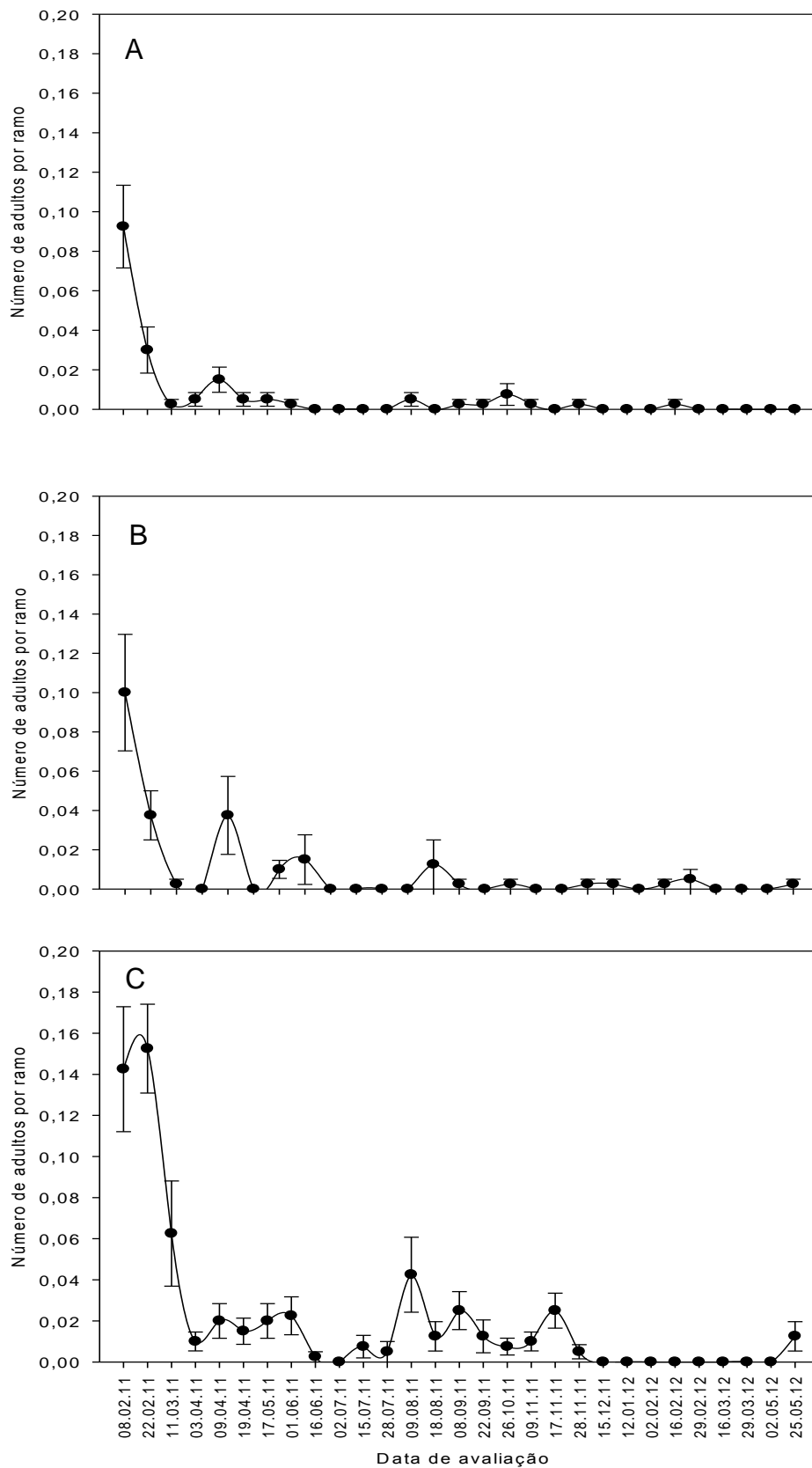


Figura 10. Média e erro padrão do número de adultos de *D. citri* por ramo em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

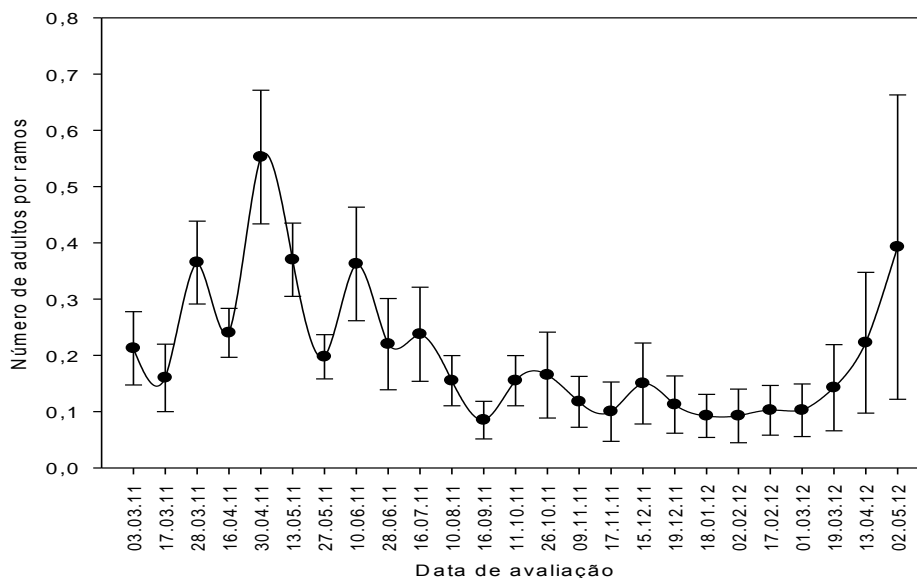


Figura 11. Média e erro padrão do número de adultos de *D. citri* por ramo em plantas de murta da zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

A proporção de plantas infestadas com ovos de *D. citri* variou de 0 a 0,4 nos pomares, com média 0,017 para a área 1; 0,013 para a área 2 e 0,057 para a terceira propriedade (Figura 12). Os valores máximos foram observados em abril, setembro e novembro de 2011. Na maioria dos meses essa variável foi muito baixa nos pomares, sendo praticamente zero. Nas plantas de murta, a variação foi de 0 a 0,8, com média de 0,32 (Figura 13). Os valores máximos foram observados nos meses de maio e junho (2011), enquanto que os menores foram registrados em outubro (2011), fevereiro, março e maio (2012). Em ambos, pomares e murta houve valores zero em alguns meses. Em média as plantas de murta foram 11 vezes mais propensas a apresentarem infestação por ovos que as dos pomares.

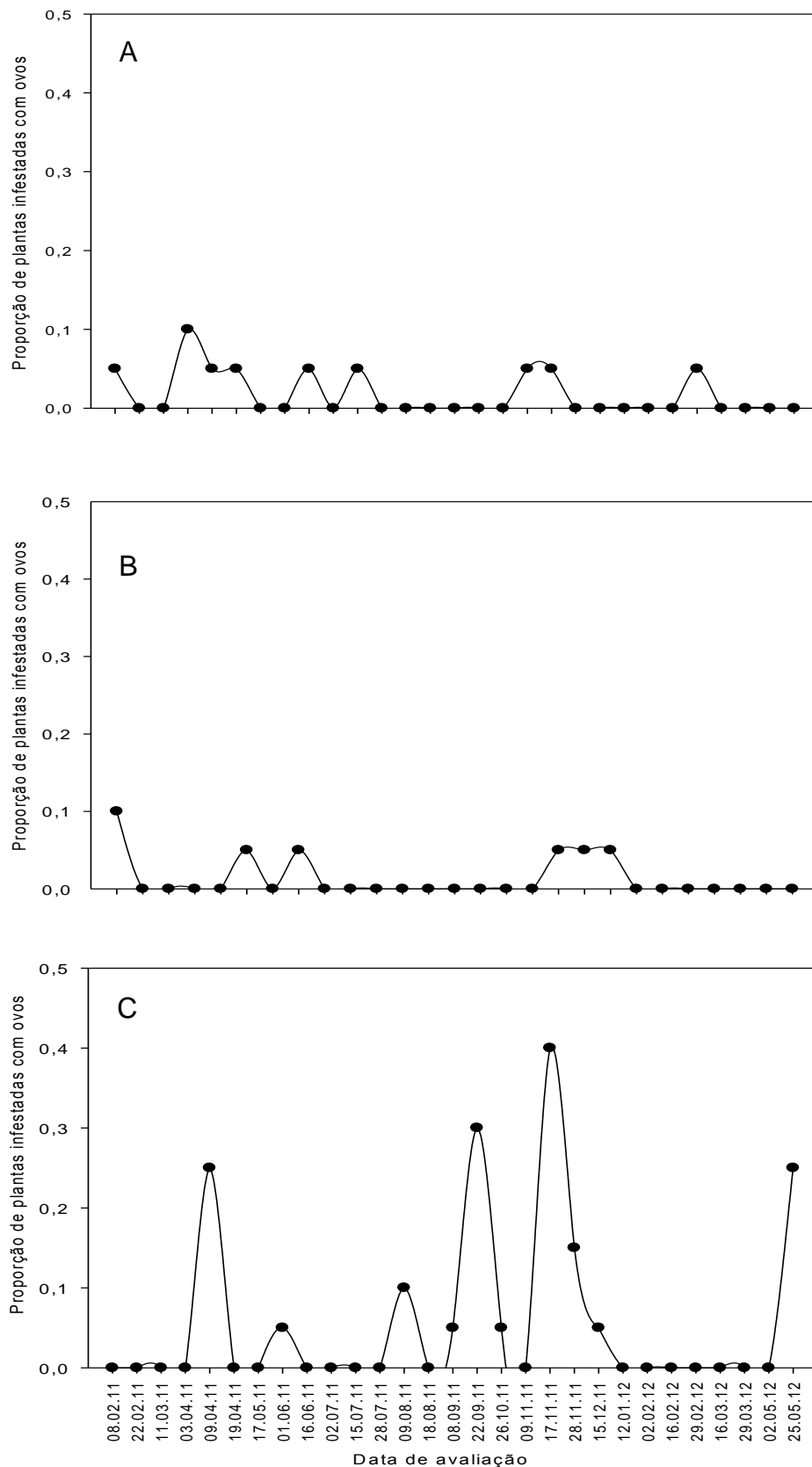


Figura 12. Proporção de plantas infestadas com ovos de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

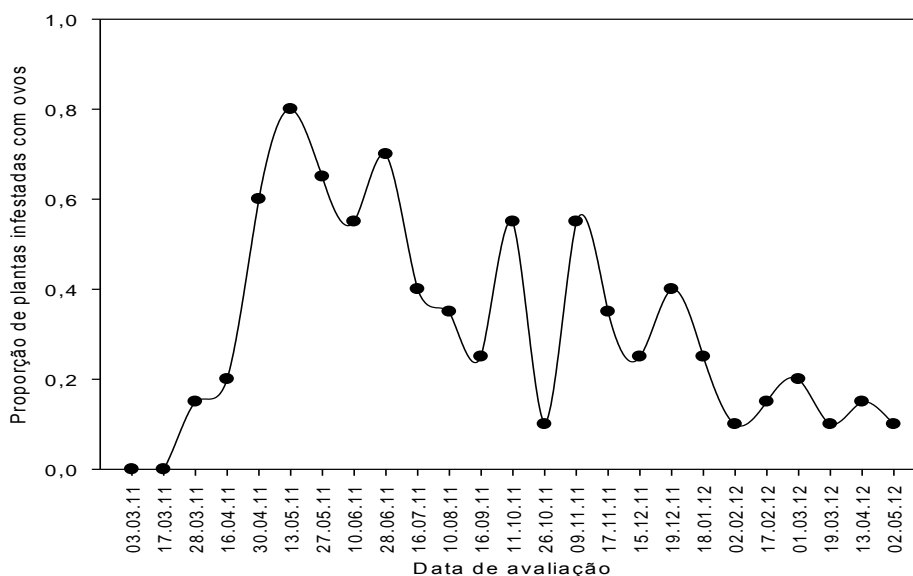


Figura 13. Proporção de plantas de murta infestadas com ovos de *D. citri* na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

Os valores observados para proporção de plantas infestadas com ninfas variaram de 0,05 a 0,95 nos pomares, com média 0,19 para a área 1; 0,17 para a área 2 e 0,33 para a terceira área (Figura 14). Os valores máximos foram observados entre fevereiro e abril (2011), enquanto que o menor valor (0,05) foi registrado em vários meses, mas sem definição de um período específico nas três áreas. Apesar de valores baixos se repetirem, em todos os meses foram encontradas ninfas nos pomares. Nas murtas, a variação foi de 0,2 a 0,95, com média 0,57 (Figura 15). Os valores máximos foram observados nos meses de março, maio e outubro (2011), enquanto que os menores foram registrados em outubro, novembro (2011) e abril (2012). A média de infestação por ninfas de *D. citri* foi cerca de 2,5 vezes maior nas plantas de *Murraya* que nas plantas cítricas.

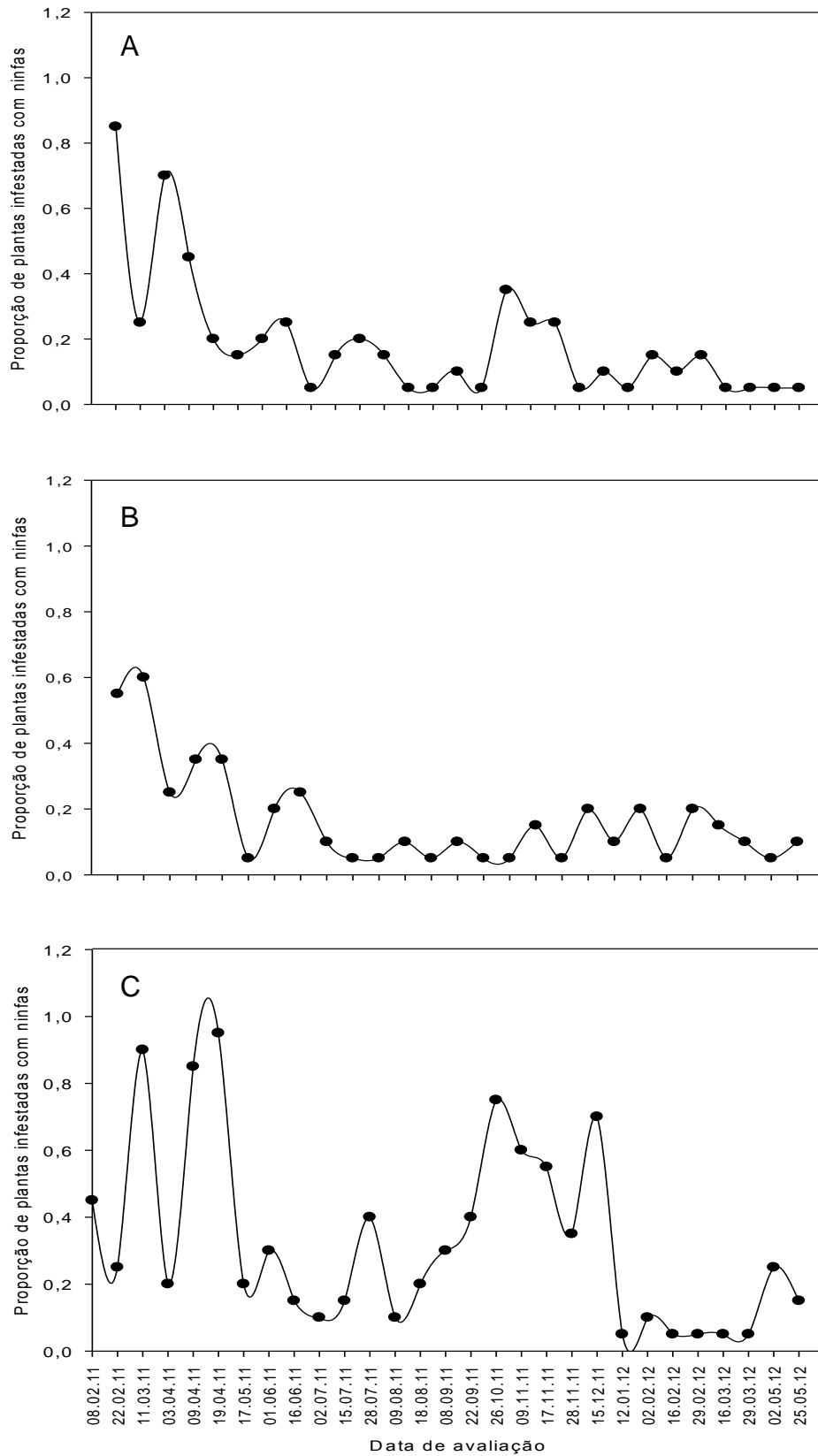


Figura 14. Proporção de plantas infestadas com ninfas de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

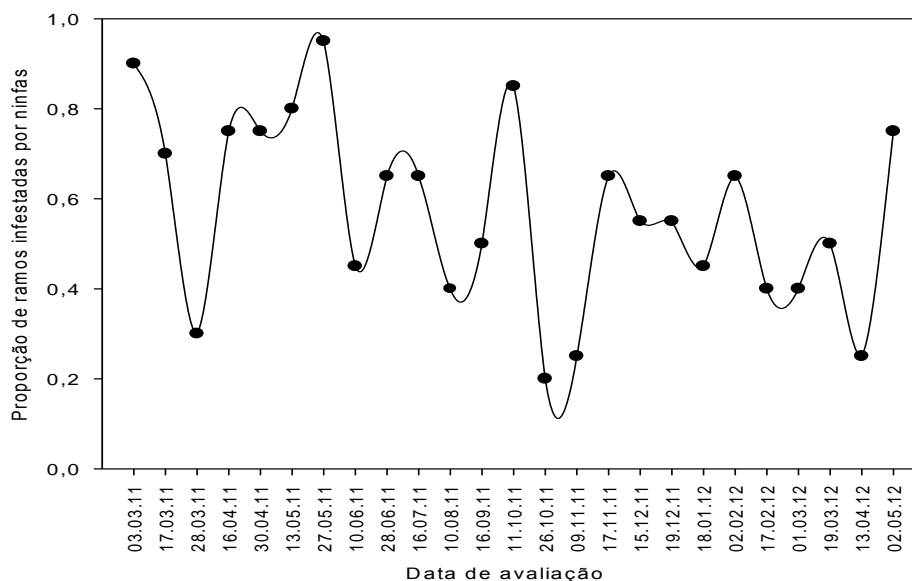


Figura 15. Proporção de plantas de murta infestadas com ninfas de *D. citri* na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

A proporção de plantas infestadas com adultos de *D. citri* variou de 0 a 0,9 nos pomares, com média 0,075 para a área 1; 0,079 para a área 2 e 0,208 para a terceira coorte (Figura 16). Os valores máximos foram observados nos meses de fevereiro e abril (2011), enquanto que valores muito baixos (0,05), foram registrados em vários meses. Nas murtas, os valores variaram de 0,2 a 1, com média de 0,646 (Figura 17). Os valores máximos foram observados dos meses de março a maio (2011), enquanto que os menores valores foram registrados nos meses de novembro, dezembro (2011) e fevereiro (2012). A média de plantas de murta infestadas com o adulto de *D. citri* foi cerca de 5,3 vezes maior que a média dos pomares.

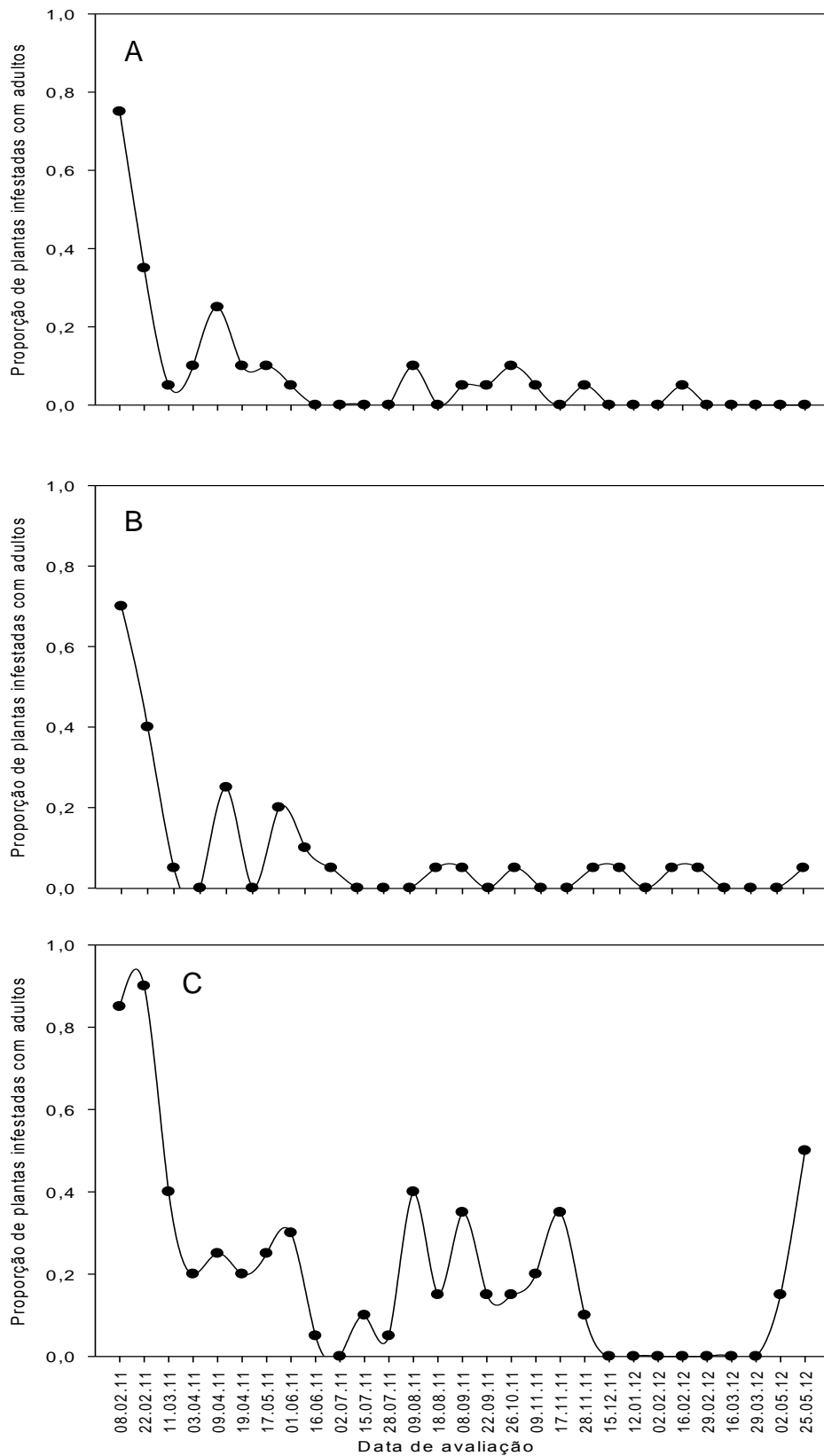


Figura 16. Proporção de plantas infestadas com adultos de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

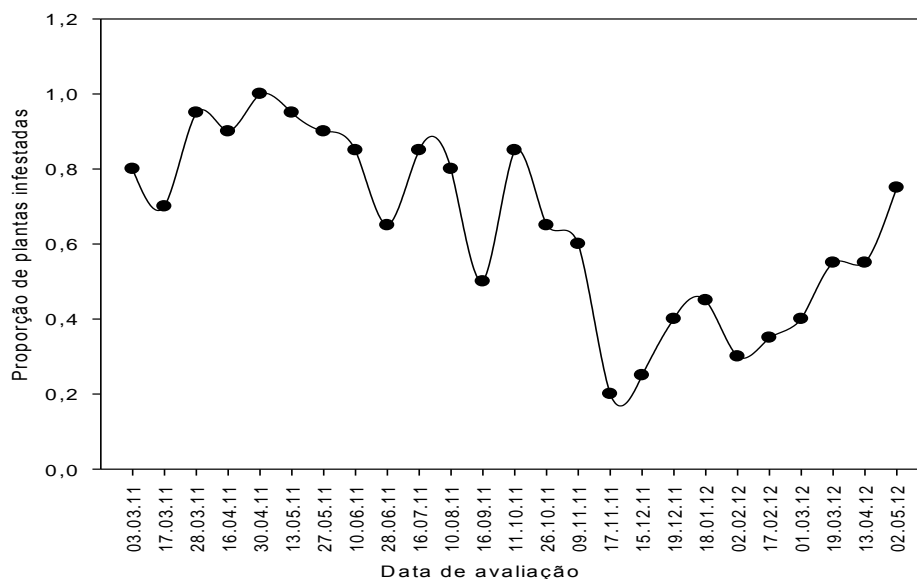


Figura 17. Proporção de plantas de murta infestadas com adultos de *D. citri* na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

Os valores observados para número de adultos por planta variaram de 0 a 3,05, com média 0,13 para a área 1; 0,17 para a área 2 e 0,42 para a área 03 (Figura 18). Os valores máximos foram observados nos meses de fevereiro, março e abril (2011). Em alguns meses não foram observados insetos adultos, e o menor valor diferente de zero (0,05) foi observado em vários meses. Em plantas de *Murraya* a variação foi de 1,7 a 11,05, com média de 4,12 (Figura 19). Os valores máximos foram observados nos meses de abril (2011) e maio (2011 e 2012), enquanto que os menores foram registrados nos meses de setembro (2011), janeiro e fevereiro (2012). Em todos os meses houve presença de insetos adultos nas murtas. Em média, a população de *D. citri* nas plantas de murta foi cerca de 17 vezes maior que o registrado nos pomares durante o período do estudo.

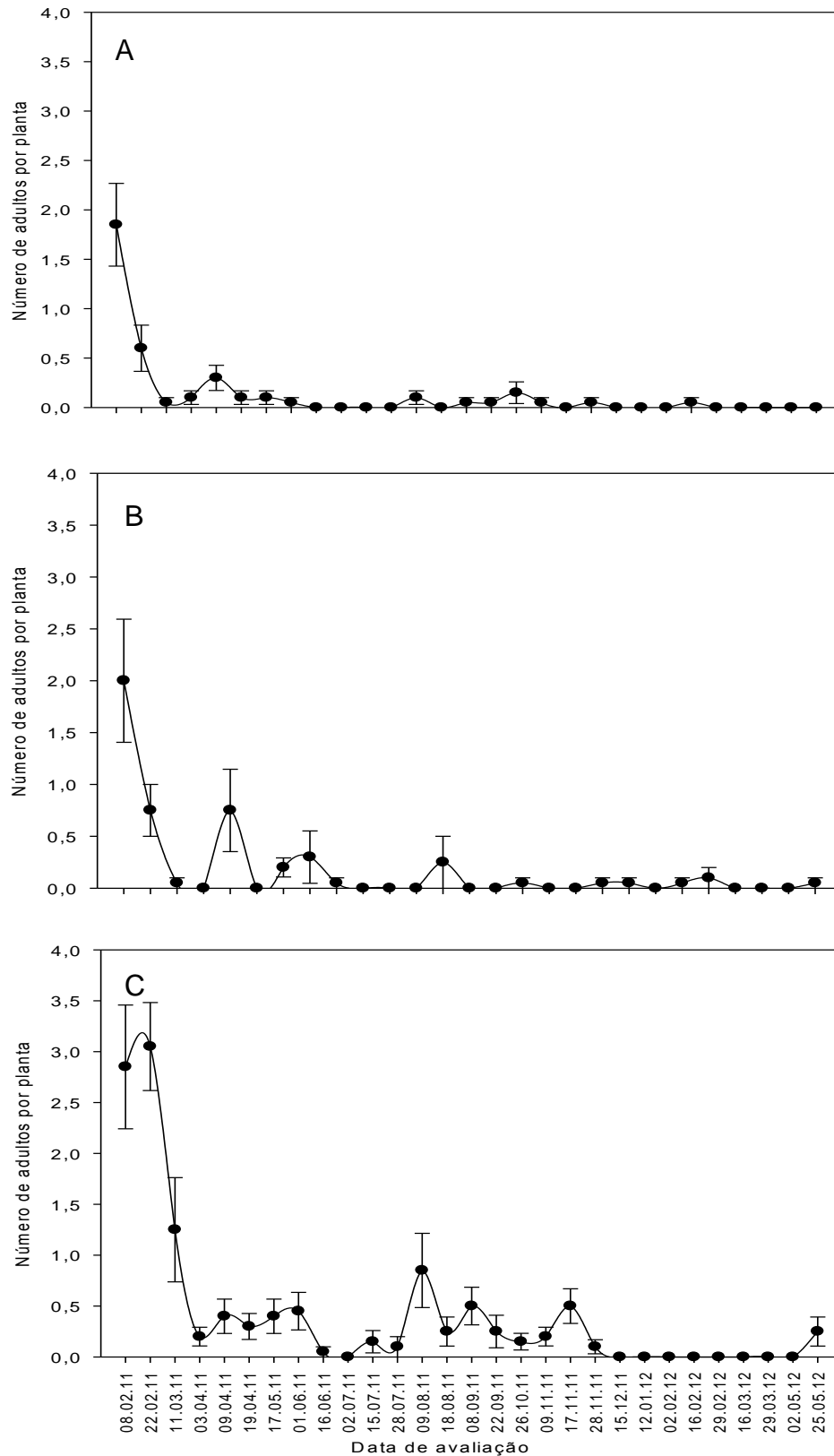


Figura 18. Número médio e erro padrão de adultos de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

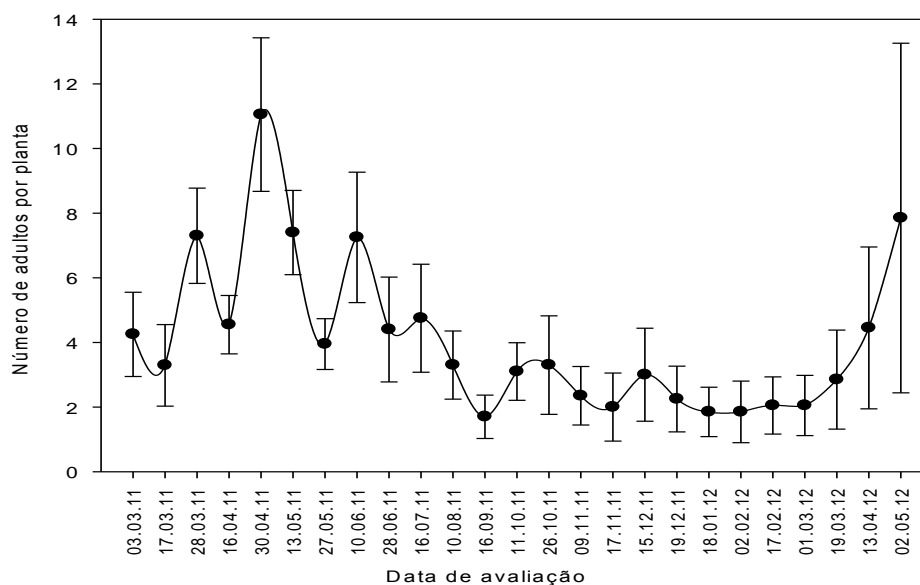


Figura 19. Número médio e erro padrão de adultos de *D. citri* em plantas de murta em zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

Os valores observados para proporção de ramos infestadas com ovos variaram de 0 a 0,04 nos pomares, com média 0,0016 para a área 1; 0,0007 para a área 2 e 0,0034 para a terceira área (Figura 20). Os valores máximos foram observados entre setembro e novembro de 2011, enquanto que o menor valor diferente de zero (0,01), foi registrado em vários meses, mas sem definição de um período específico nas três áreas. Nas murtas, a variação foi de 0 a 0,17, com média 0,04 (Figura 21). Os valores máximos foram observados nos meses de maio, junho e setembro (2011), enquanto que os menores diferentes de zero foram registrados em março de 2011, fevereiro e março de 2012. A média de infestação por ovos de *D. citri* foi cerca de 23 vezes maior nas plantas de *Murraya* que nas plantas cítricas.

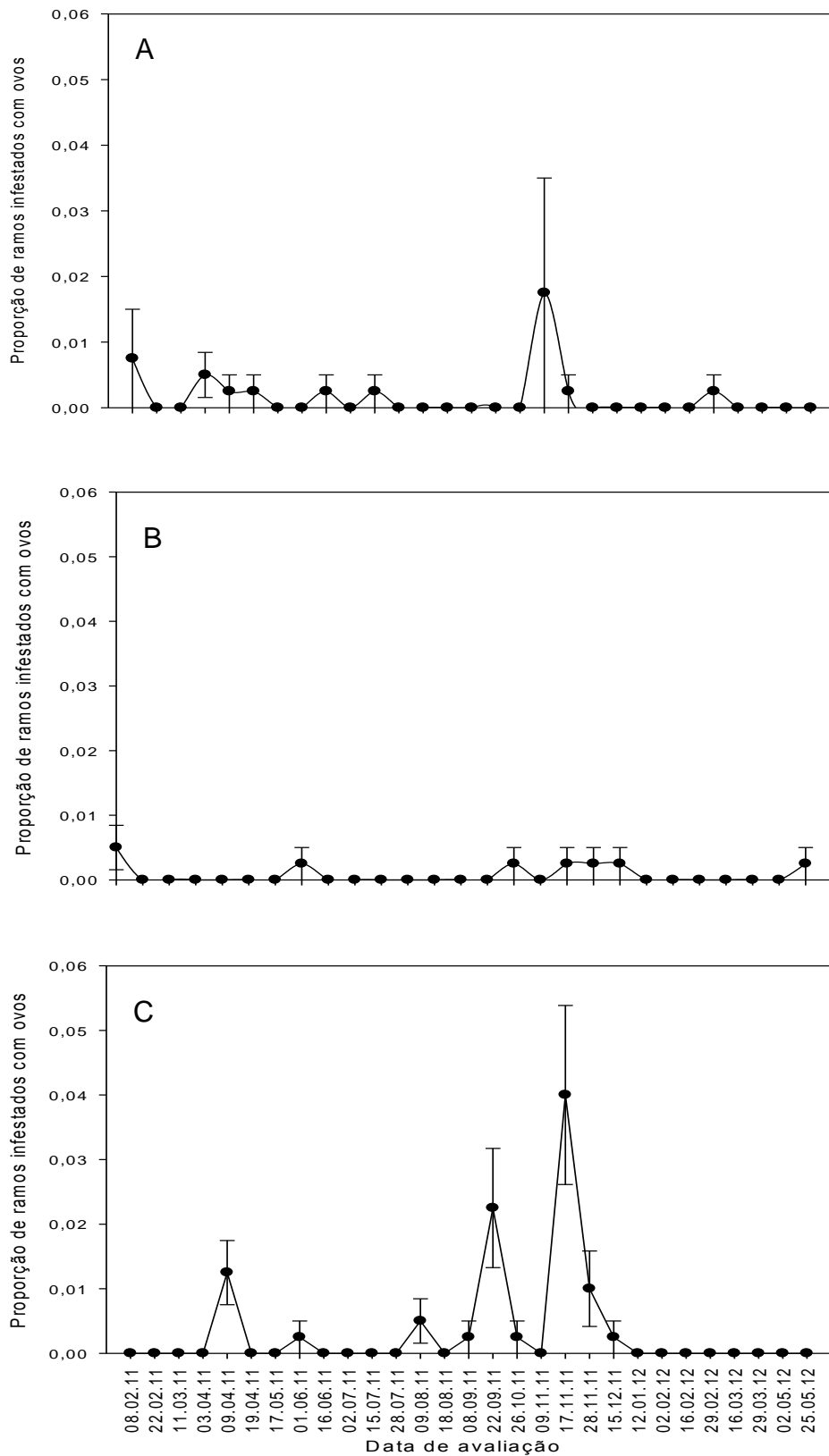


Figura 20. Proporção de ramos infestadas com ovos de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

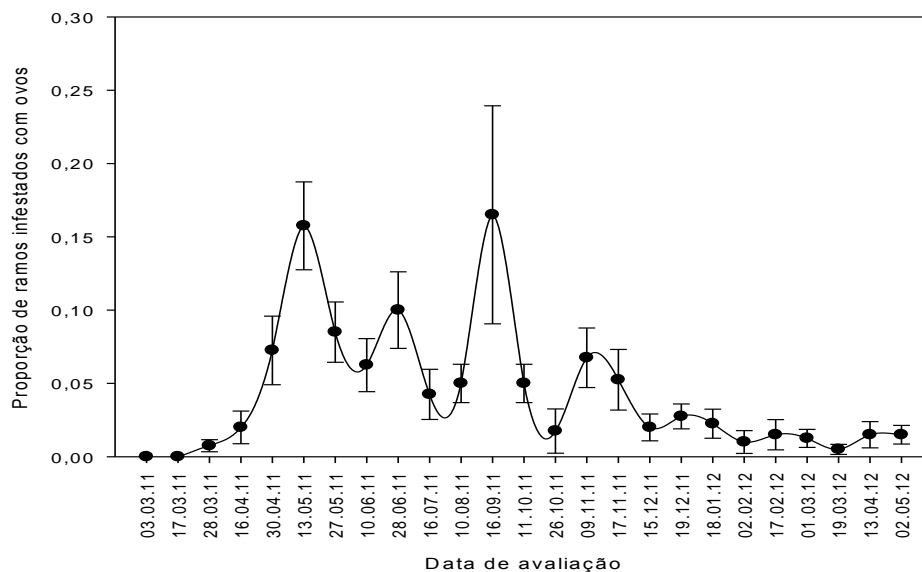


Figura 21. Proporção de ramos de murta infestadas com ovos de *D. citri* na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

Os valores observados para proporção de ramos infestadas com ninfas variaram de 0 a 0,26 nos pomares, com média 0,02 para a área 1; 0,01 para a área 2 e 0,04 para a terceira área (Figura 22). Os valores máximos foram observados de fevereiro a abril de 2011, enquanto que o menor valor diferente de zero (0,01), foi registrado em vários meses, mas sem definição de um período específico nas três áreas. Nas murtas, a variação foi de 0,02 a 0,26, com média 0,11 (Figura 23). Os valores máximos foram observados nos meses de março, maio, agosto e outubro (2011), enquanto que os menores foram registrados em março e junho de 2011, abril de 2012. A média de infestação por ninfas de *D. citri* foi cerca de 5 vezes maior nas plantas de *Murraya* que nas plantas cítricas.

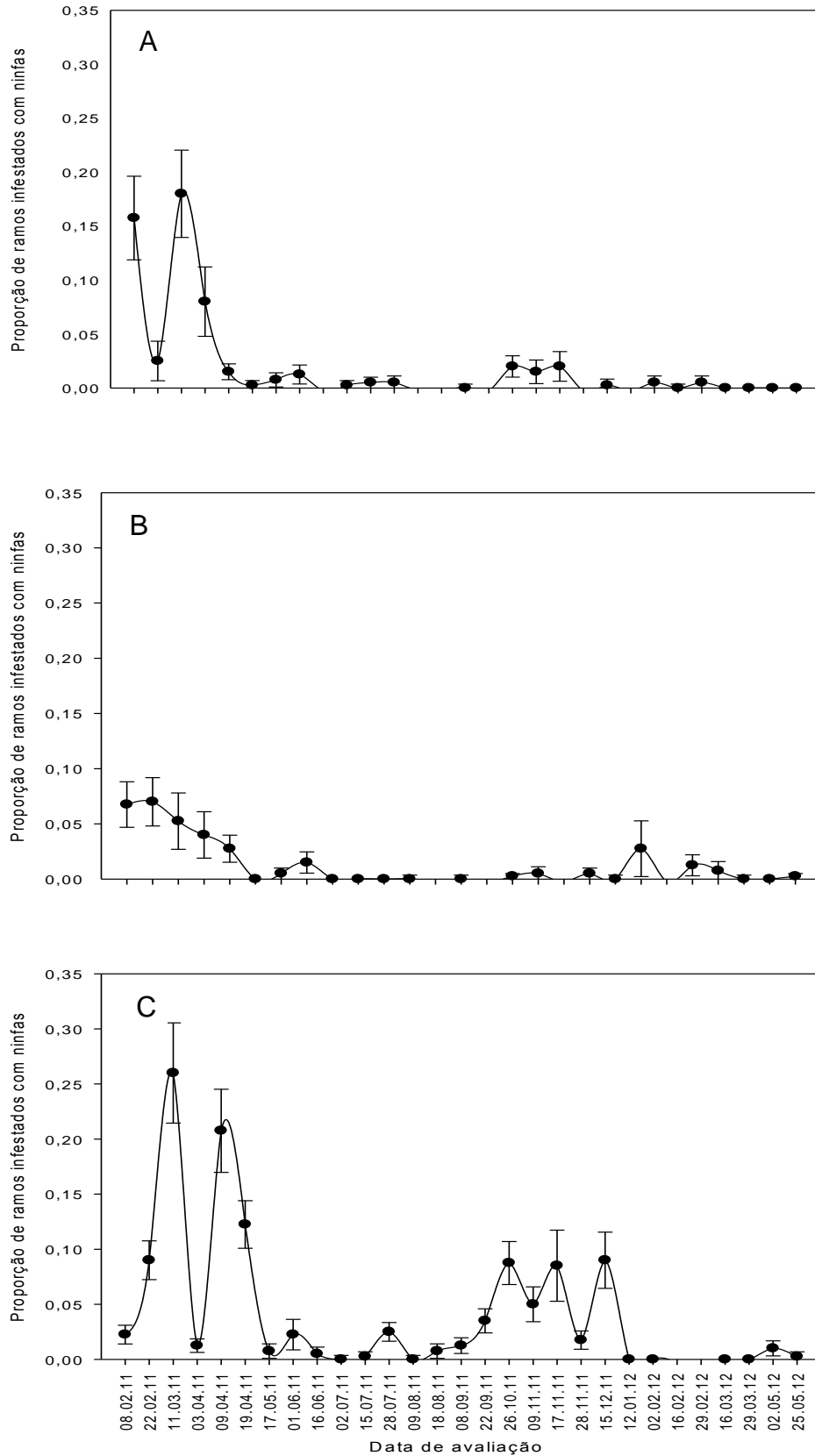


Figura 22. Proporção de ramos infestados com ninfas de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

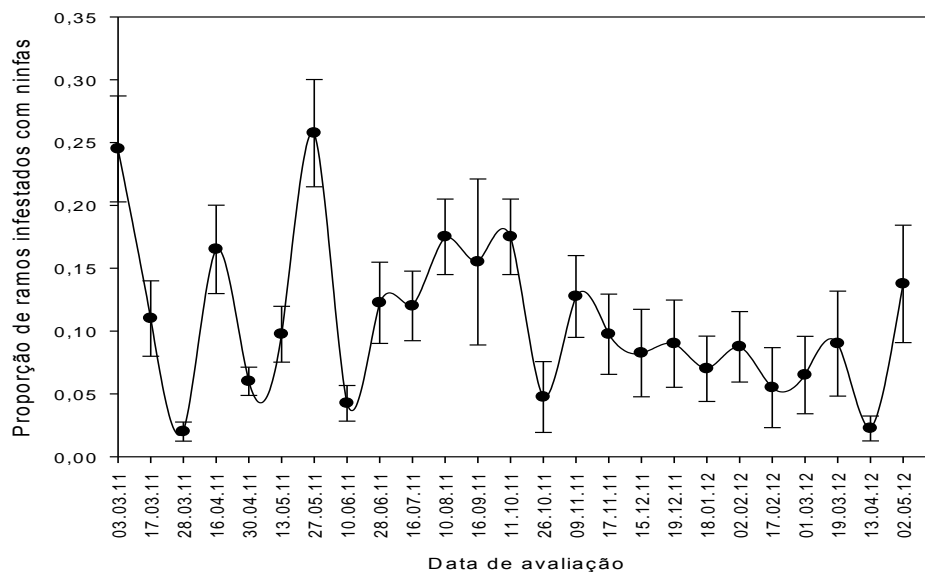


Figura 23. Proporção de ramos de murta infestadas com ninfas de *D. citri* na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

Os valores observados para proporção de ramos infestadas com adultos variaram de 0 a 0,09 nos pomares, com média 0,01 para a área 1; 0,01 para a área 2 e 0,02 para a terceira área (Figura 24). Os valores máximos foram observados em fevereiro e abril de 2011, enquanto que o menor valor diferente de zero (0,01), foi registrado em vários meses, mas sem definição de um período específico nas três áreas. Nas murtas, a variação foi de 0,05 a 0,40, com média 0,15 (Figura 25). Os valores máximos foram observados nos meses de março a junho (2011), enquanto que os menores foram registrados de janeiro a março de 2012. A média de infestação por ninfas de *D. citri* foi cerca de 15 vezes maior nas plantas de *Murraya* que nas plantas cítricas.

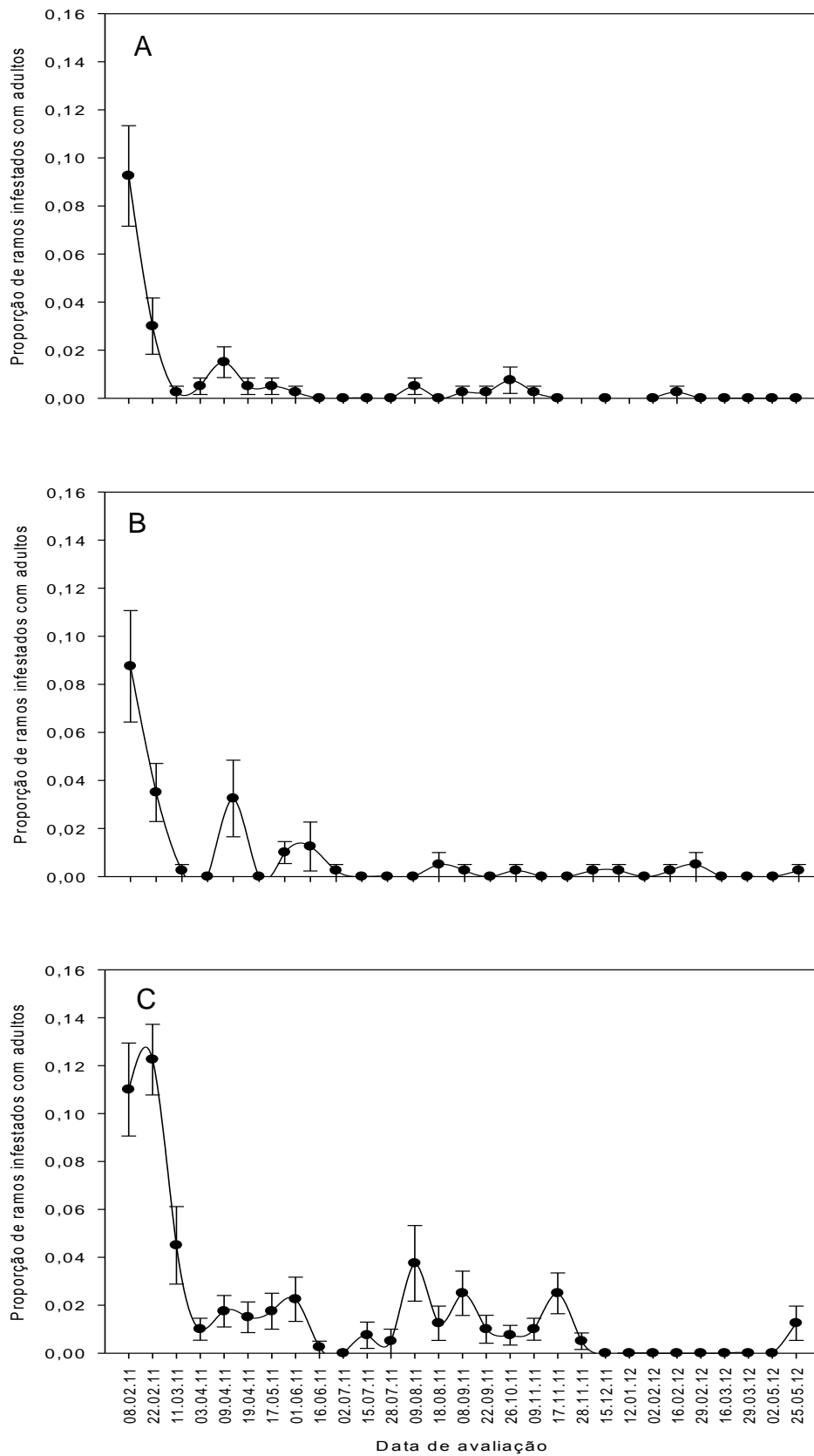


Figura 24. Proporção de ramos infestados com adultos de *D. citri* em três pomares de citros do município de Cruz das Almas (A: pomar 1, B: pomar 2 e C: pomar 3), Recôncavo Baiano, de fevereiro de 2011 a maio de 2012.

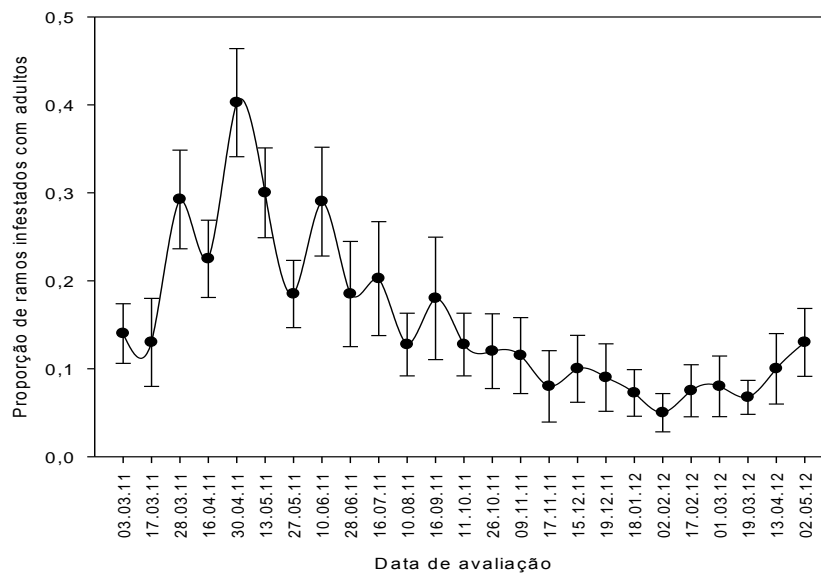


Figura 25. Proporção de ramos de murta infestadas com adultos de *D. citri* na zona urbana de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, de março de 2011 a maio de 2012.

DISCUSSÃO

No Estado de São Paulo, a presença das bactérias causadoras do HLB foi constatada primeiramente em citros e mais tarde em murta (*Murraya paniculata*). Assim, tanto a murta como os citros podem ser hospedeiros da *Candidatus Liberibacter asiaticus* ou de *Candidatus Liberibacter americanus* (Lopes et al., 2005; Lopes et al., 2006). Além disso, tais plantas são também os principais hospedeiros de *Diaphorina citri* psíldeo vetor da doença (Halbert & Manjunath, 2004). Nas condições do Recôncavo da Bahia, constatou-se que a murta também hospeda o psíldeo. Levando-se em conta que a presença do vetor e da murta aumentam a probabilidade de ocorrência da doença e de seus sintomas (Aithe Jr. et al., 2006), a quantificação de parâmetros relacionados ao vetor é de grande importância para o desenvolvimento de estratégias de manejo precoce do HLB caso introduzido em áreas indenes, tais como o Recôncavo da Bahia.

Nas condições do Recôncavo baiano, as médias em murta foram superiores as dos pomares para todas as variáveis analisadas. Como destaque, pode-se apontar o número de ovos por ramo, cuja média em murta foi 40 vezes maior que a das áreas citrícolas. Além de haver diferença nas médias de cada parâmetro entre as murtas e pomares, houve também diferenças na quantificação do vetor em seus estádios de desenvolvimento. Para número de insetos por ramo, o número médio de ninfas tanto nos pomares como nas murtas foi maior que do inseto na fase adulta e de ovo. Nos pomares, as médias relacionadas a ninfas foram maiores que as das outras fases de desenvolvimento. Já nas murtas, a média de insetos adultos excedeu a média das outras fases do ciclo de vida do vetor. Essas diferenças, no entanto, não parecem indicar uma interferência substancial no ciclo de vida do inseto.

Estudos desenvolvidos na Flórida (EUA), demonstraram não haver diferença significativa em relação às densidades populacionais do inseto vetor em diferentes plantas hospedeiras. Em citros e murta, eventuais diferenças em relação a população de *D. citri* estaria ligada à emissão de novos brotos. Em murta, diferente de citros, as brotações ocorrem durante todo o ano naquela

região dos EUA (Tsai et al., 2002). Em contraste, foi demonstrado aqui que tanto murta como citros possuem condições favoráveis para emissão de brotos durante todo o ano no Recôncavo baiano. Em todas as avaliações foram observados brotos novos em pelo menos uma área citrícola; e em murtas, em todas as avaliações houve novos brotos. De acordo com Hall & Albrigo (2007), a emissão de novos ramos é aleatória e surge em qualquer árvore e em qualquer parte dela. Tal comportamento foi observado também nas áreas de citros nas condições do Recôncavo, onde as plantas desenvolveram novas brotações sem definição de um período ou pomar específico. Confirmando-se esse dado a longo prazo, significaria que eventuais insetos infectivos que imigrassem para o Recôncavo encontrariam disponibilidade de plantas hospedeiras adequadas em qualquer época do ano.

A média de adultos de *D. citri* em murta foi cerca de 17 vezes maior que o registrado nas áreas de citros. Apesar disso, a média da proporção de plantas infestadas com o psíldeo em plantas de murta foi apenas 5 vezes maior que a média dos pomares. Esse fato, associado a menor densidade de *Murraya*, indica que plantas individuais de murta podem ser grandes criatórios do vetor, mas que as populações devem apresentar uma heterogeneidade espacial significativa. Além disso, trabalhos desenvolvidos tanto no Brasil quanto nos EUA indicam que plantas de murta não são tão eficientes quanto citros como hospedeiros das bactérias causadoras do HLB (Damsteegt et al, 2010; Lopes et al., 2010). Em conjunto, essas informações sugerem que *Murraya* apresenta pouco significado epidemiológico. De fato, versões preliminares de um modelo que considera populações de murta em zona urbana, citros em zona urbana e citros em zona rural tem sido testadas (Laranjeira et al, não publicado). Esse modelo tem sido alimentado especificamente com os parâmetros obtidos neste trabalho e indicam que em caso de introdução no HLB no Recôncavo, as plantas de murta não contribuiriam de maneira decisiva para o progresso da doença. Se esses resultados forem confirmados no modelo definitivo, significará que não haveria necessidade de alocar recursos para a erradicação preventiva de plantas de murta.

De acordo com Tsai et al. (2002), adultos de *D. citri*, foram encontrados em plantas de murta em todas as amostragens no período de outubro de 1998 a julho de 2000 na Flórida (EUA). Essa alta frequência também

foi observada no presente estudo. Apesar disso, essas duas regiões contrastam em termos de densidade das populações. Na Flórida, foram observados picos populacionais de até 6,5 adultos por ramo, enquanto que no Recôncavo da Bahia, o máximo pico populacional foi de 0,5.

Em alguns meses das avaliações não houve constatação da presença de adultos de *D. citri* nos pomares citrícolas, assim como em algumas plantas não foram registradas emissão de novos brotos. Essa eventual ausência de insetos corrobora com o estudo de Paiva (2009), que afirma que ramos em crescimento são o principal fator determinante da ocorrência e aumento populacional do *D. citri*. Além da disponibilidade de novos ramos, a temperatura influencia populações do inseto e seu ciclo de vida. Em condições controladas, a viabilidade de ninfas de *D. citri* foi de apenas 5,7% a 32°C (Nava et al., 2007). Porém, a 30°C, tiveram sobrevivência em torno de 70% (Liu & Tsai, 2000; Nava et al., 2007). Em temperaturas menores, de 15°C, *D. citri* apresentou viabilidade de ovo a adulto de 50% (Liu & Tsai, 2000) e a 18°C, de 67% (Nava et al., 2007). Para o presente trabalho não houve estudo de viabilidade do vetor nas condições do Recôncavo, como também não foi feita correlação entre os dados climáticos e a população do inseto. No entanto, deve-se apontar que o presente estudo é a parte inicial de um estudo mais amplo que prevê a realização de tais comparações.

De acordo com Yamamoto et al. (2001), em São Paulo as mais altas densidades de *D. citri* ocorrem no final da primavera e começo do verão. Porém, estudos mais recentes demonstram não haver padrão de distribuição temporal do inseto (Paiva, 2009). Nas condições do Recôncavo da Bahia as populações do inseto parecem não apresentar padrão de distribuição temporal. Independente da época do ano, foram observadas diferenças entre as populações do inseto em razão do pomar avaliado. Em algumas das avaliações foram encontrados *D. citri* em diferentes fases de seu ciclo em determinada área, já em outra área não.

Em relação a média de ovos, ninfas e adultos por ramo, observou-se uma clara tendência para menores valores no Recôncavo quando comparado a outras regiões. A média de ovos por ramo nas áreas citrícolas avaliadas foi de 0,0098 nas condições do Recôncavo da Bahia, já em São Paulo foi de 8,7 (Paiva, 2009), e na Flórida (EUA), de 26,5 em pomares jovens e de 16,0 em pomares adultos (Hall et al., 2008). A média de ninfas por ramo no Recôncavo foi de 0,151.

Em estudo conduzido na Flórida foi de 16,8 em pomares jovens e de 12,7 em pomares adultos (Hall et al., 2008). A média de adultos por ramo nas condições do Recôncavo foi de 0,012, enquanto que na Flórida foi 0,27 em pomares jovens e 0,31 em pomares maduros (Hall et al., 2008). Essa tendência inequívoca indica que o Recôncavo não apresenta condições ideais para o desenvolvimento de altas populações de *D. citri*. Embora não tenha sido possível investigar as razões disso no presente trabalho, uma hipótese seria a inexistência de pomares irrigados no Recôncavo, em contraste com o uso disseminado dessa prática na Flórida. O uso da irrigação manteria os brotos por mais tempo em condição de hospedar os insetos. Hipótese semelhante foi também considerada por Pluke et al (2008) para explicar diferenças nas populações de *D. citri* em Porto Rico. No entanto, deve-se ressaltar que do ponto de vista epidemiológico o parâmetro proporção de plantas com inseto é muito mais importante que a quantidade de insetos em dada planta. Isso porque o HLB é uma doença sistêmica e, pelo menos em teoria, bastaria um inseto infectivo para que a transmissão ocorresse.

Diante disso, faz-se necessário o desenvolvimento de ferramentas matemáticas que usem os parâmetros biológicos como base para o entendimento do patossistema e a análise prévia de estratégias de controle. Assim, Vilamiu et al (2012) desenvolveram um modelo compartimental para simular a disseminação do HLB em pomar cítrico. Esse modelo trata as populações de citros e de *Diaphorina* separadamente, mas usou os parâmetros biológicos obtidos em campo no presente estudo para estimar a taxa de visitação de plantas. Esse parâmetro é fundamental para fazer as conexões entre compartimentos (diversos estados das populações de citros ou do vetor). Os autores chegaram à conclusão de que estratégias que reduzissem a taxa de visitação dos vetores (plantas visitadas por inseto por mês) contribuiriam significativamente para a redução do progresso da doença.

Apesar dos dados obtidos serem adequados para uso como parâmetros de modelos epidemiológicos, ainda não são suficientes para a completa caracterização da flutuação populacional do inseto nas condições ecológicas do Recôncavo da Bahia. Quando todos os dados forem coletados, tais parâmetros serão utilizados em análises de séries temporais, permitindo a detecção de tendências positivas e negativas, sazonalidade, existência de ciclos e sua duração. Como complemento, serão realizadas análise de heterogeneidade

espacial, de acordo com métodos clássicos para dados de contagem e já aplicados para *D. citri* e brotações de citros (Hall & Albrigo, 2007; Hall et al., 2008; Setamou et al., 2008; Soemargono et al., 2008; Tsai et al., 2000). Além disso, os dados aqui apresentados podem ser usados em conjunto com dados de outras regiões do Brasil para o desenvolvimento de mapas de risco. Essa abordagem seria uma avanço em relação a mapas de risco desenvolvidos a partir da relação entre temperatura e ciclo de vida do inseto, tal como executado por Aurambout et al (2009) na Austrália.

CAPÍTULO 2

**MODELAGEM *EX-ANTE* DA DISSEMINAÇÃO DO
HUANGLONGBING DOS CITROS (HLB) EM POMARES DE
REGIÕES INDENES.**

RESUMO

SANTOS, T.T.C. Modelagem *ex-ante* da disseminação do *huanglongbing* dos citros (HLB) em pomares de regiões indenes.

O *huanglongbing* (HLB), é a mais importante e destrutiva doença da citricultura mundial, é transmitida pelo psílídeo *D. citri*, vetor das bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* nas condições brasileiras. A doença é relatada em citros e murta (*Murraya paniculata*). O HLB não provoca a morte imediata das plantas, as quais, com o passar dos anos, ficam debilitadas e improdutivas. Mesmo doentes as plantas podem não apresentar sintomas visuais do HLB e assim não serão detectadas nem removidas, agindo como fonte de inóculo para novas infecções no pomar. Não há métodos de controle curativos que possam ser usados em pomares comerciais, prevenir a infecção das plantas é fundamental. O controle preconizado envolve o plantio de mudas saudáveis, a eliminação de plantas doentes e o controle do inseto vetor. Além das estratégias de controle convencionais, tem-se buscado alternativas que possam contribuir para a mitigação da doença, como espaçamentos de plantio alternativos. O objetivo do trabalho foi a simulação de cenários de disseminação do HLB como suporte para decisões relativas ao sistema de produção para mitigação dos danos causados pela doença, caso seja introduzida na Bahia, área indene. Através de um modelo que cria uma paisagem retangular variável, abrangendo um pomar alvo e quatro pomares vizinhos, com ajuste de número de linhas, plantas e intensidade do inóculo. As simulações foram feitas com uma ampla combinação dos parâmetros taxa de infecção, período de incubação e taxa de remoção de plantas sintomáticas. As simulações indicam que o progresso do HLB tende a ser muito limitado em pomares com baixa densidade de plantio, progredindo mais rápido em plantios adensados.

Palavras-chave: área indene, controle alternativo, densidades de plantio, *Huanglongbing*, pomares citrícolas, simulações.

ABSTRACT

SANTOS, T.T.C. *Ex-ante* modeling of citrus *Huanglongbing* (HLB) spread in orchards of previously unaffected regions.

Huanglongbing (HLB) is the most important and destructive citrus disease in the world. It is transmitted by *D. citri* psyllid, vector of the bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Candidatus Liberibacter americanus* in Brazilian conditions. The disease is reported affecting citrus and orange jasmine (*Murraya paniculata*). HLB does not cause immediate death of the plants, which, over the years, become impaired and unproductive. Infected plants may not show visual symptoms and thus will not be detected or removed, being a source of inoculum for new infections in the orchard. There is no curative control methods that can be used in commercial orchards, so preventing infections is essential. The recommended control involves planting healthy seedlings, elimination of diseased plants and spraying insecticides for vector control. In addition to the conventional control strategies, alternatives have been sought that could contribute to the alleviation of HLB's economic impacts, such as high density planting. Our objective was to study the HLB spread under simulated scenarios to support decisions regarding the production system to mitigate the damage caused by the disease, should it be introduced in Bahia, an unaffected area. It was used a model that creates a rectangular landscape comprising a target orchard and four neighboring orchards, with adjustable number of lines, plants and inoculum intensity. Simulations were performed using a wide combination of rate of infection, incubation time and rate of symptomatic plants removal. The simulations indicate that the progress of HLB would tend to be very limited in low planting density orchards, progressing faster in dense plantings. On the other hand, it was found that any method that could lower the infection rate should be more effective than changing planting densities or intensifying the removal of symptomatic plants.

Keywords: alternative control, citrus orchards, *Huanglongbing*, planting densities, simulations, unharmed area.

INTRODUÇÃO

Considerada a doença mais severa dos citros, o *Huanglongbing* (HLB) foi detectado recentemente no Brasil (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005). Essa doença é causada pelas bactérias gram-negativas (Garnier et al., 1984) restritas ao floema (Jagoueix et al., 1994), *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*, que são transmitidas por enxertia de material vegetal infectado (Bové, 2006a) e por um inseto vetor, *Diaphorina citri* Kuwayama (Martinez & Wallace, 1967). A *Candidatus Liberibacter asiaticus* é transmitida com maior eficiência pelo psilídio, provavelmente porque atinge maiores concentrações no interior das plantas infectadas (Lopes et al., 2009a). Várias espécies de citros são hospedeiras tanto do vetor como das bactérias causadoras da doença (Halbert & Manjunath, 2004), assim como a *Murraya paniculata*, uma espécie ornamental. O HLB é altamente destrutivo e vem comprometendo a produção citrícola brasileira. Já foram relatadas reduções de 70% na produção de frutos de plantas de 4 a 6 anos de idade (Bassanezi et al., 2006).

Após a transmissão da bactéria pelo vetor, é necessário um intervalo de tempo para que apareçam os primeiros sintomas visuais. Esse período de incubação pode variar de meses a mais de um ano, dependendo da época da infecção, combinação de copa e porta-enxerto e da idade da planta (McClellan & Oberholzer, 1965; Catling, 1970; Zhao, 1981; Aubert, 1987; Gottwald et al., 1989; Yamamoto et al., 2006). A expressão dos sintomas é sazonal, mas plantas infectadas em diferentes épocas podem expressar sintomas no mesmo período (Bassanezi et al., 2010). Porém, mesmo quando não apresentam sintomas, ainda assim podem ser fonte de inóculo para novas infecções (Bassanezi et al., 2010). Além disso, a concentração da bactéria em plantas infectadas assintomáticas pode ser tão alta quanto a concentração em plantas sintomáticas (Lopes et al., 2009a).

Não existe cura para o HLB. Seu controle baseia-se na prevenção da infecção, por meio da produção de mudas cítricas sadias, erradicação de

plantas sintomáticas e controle do inseto vetor. A produção de mudas cítricas em São Paulo é feita com controle de origem e sanidade, e atualmente os viveiros são regularizados e telados. Nos pomares são feitas inspeções periódicas, e plantas sintomáticas são erradicadas, com o objetivo de eliminar fontes de inóculo evitando novas infecções. O controle do inseto vetor deve ser feito de forma continuada para reduzir a população de insetos infectivos e as chances de aquisição do patógeno (Belasque Jr. et al., 2010). Além das estratégias de controle convencionais, tem-se buscado alternativas simultâneas que possam contribuir para a mitigação da doença. Uma dessas alternativas seria o adensamento de plantio que, em teoria, favoreceria uma maior produtividade e um menor impacto econômico com a redução de plantas sintomáticas erradicadas (Stuchi & Girardi, 2010). Outra alternativa seria um aumento no espaçamento entre as plantas cítricas, possibilitando o desenvolvimento de policultivos com outras espécies vegetais. A hipótese é a de que nesse caso a doença teria sua disseminação diminuída.

Os espaçamentos de plantio utilizados tradicionalmente têm sido substituídos por pomares cítricos mais adensados, possibilitando aumento na produção (Donadio et al., 2002; Teófilo Sobrinho et al. 2000). Com isso haveria diminuição do impacto causado pela erradicação de plantas com HLB, visto que o número de árvores mesmo após erradicação continuaria considerável. Além disso, não haveria necessidade de replante no pomar, evitando a presença de plantas jovens, mais suscetíveis a doença, em um pomar já estabelecido. Por isso, maiores densidades têm sido muito utilizadas na China (Aubert, 1990) e na África do Sul (Stuchi & Girardi, 2010). Em experimentos conduzidos em São Paulo, o adensamento dos pomares induziu safras 50% superiores nos primeiros oito anos após o início da produção (Stuchi & Girardi, 2010).

Pela dificuldade da condução de experimentos com HLB em campo, o uso de simulações é uma alternativa que possibilita o estudo do efeito de densidades de plantio de citros relacionado à disseminação da doença. Modelos matemáticos permitem a realização de experimentos *in silico* e o teste de hipóteses relacionadas a sistemas de produção. O objetivo deste trabalho foi, por meio de modelagem e simulações, testar duas hipóteses referentes à disseminação do HLB em diferentes densidades de plantio em citros: (i) plantios

em espaçamentos menores compensariam a remoção de plantas sintomáticas com maior densidade inicial de plantas, e (ii) plantios mais espaçados limitariam a disseminação da doença. O resultado dessas simulações contribuirão para gerar estratégias relativas à erradicação precoce do HLB caso seja introduzido em área indenens.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos *in silico*, simulando-se múltiplas epidemias de HLB para cada cenário de disseminação. Para tanto, foi utilizado um modelo espacialmente explícito que considera as variações na paisagem simulada e incertezas biológicas, sendo flexível o suficiente para permitir simulações confiáveis do HLB (Laranjeira et al., não publicado). Nesse modelo os eventos de infecção são dependentes da relação espacial (distância) entre plantas infecciosas (sintomáticas ou não) e as plantas suscetíveis (ainda sadias). O modelo cria uma paisagem retangular variável, abrangendo um pomar alvo e quatro pomares vizinhos (Figura 1). Para esses experimentos convencionou-se usar uma paisagem representativa de uma área de plantio comercial de citros com tamanho aproximado de 4,8 hectares. Para cada cenário de disseminação foram considerados diferentes espaçamentos de plantio, desde os convencionais até os mais espaçados ou adensados (Tabela 1). De acordo com o tamanho da paisagem considerada e o espaçamento utilizado, foi calculado o número de plantas que cada área suportaria, tanto para o pomar alvo, como para os quatro pomares vizinhos. Dessa forma, ajustou-se o número de linhas de plantio e de plantas por linha em cada pomar. Quanto mais adensado o pomar, maior número de linhas e de plantas, ocorrendo o inverso para espaçamentos mais largos (Tabela 1).

No modelo, a intensidade do inóculo inicial (proporção de plantas infectadas) é ajustável, podendo ser introduzido tanto no pomar alvo quanto em seus vizinhos. Desta forma, a disseminação da doença pode se dar tanto por infecções primárias como por secundárias. O inóculo inicial foi padronizado alocando-se 1% de plantas infectadas localizadas em cada um dos quatro pomares vizinhos.

As taxas e parâmetros utilizados nas simulações foram determinados procurando-se manter seu significado biológico, mas que estivessem de acordo com publicações científicas sobre o assunto. Foi considerado um período de latência fixo de um mês, estando de acordo com dados encontrados na literatura (Parra et al., 2010). Esse parâmetro foi mantido sempre menor que o período de incubação, significando que os indivíduos

tornaram-se infecciosos antes da manifestação dos sintomas. Em todos os cenários também foi mantida fixa a distância média de dispersão (18 metros) e o kernel de dispersão (exponencial). A estimativa da distância média de dispersão foi obtida de maneira empírica pelo método do número de focos (Laranjeira et al, não publicado). Essa estimativa implica que 95% das infecções ocorrerão num raio de cerca de 54 metros da fonte de inóculo, estando de acordo com o que se conhece da doença (Leal, 2009; Gottwald, 2010).

Os principais parâmetros (variáveis) utilizados na modelagem foram a taxa de infecção e período de incubação, pois são dois parâmetros ainda considerados como incertezas biológicas para o HLB. Foram utilizadas quatro taxas de infecção (número de plantas infectadas por planta infecciosa por unidade de tempo), levando-se em consideração que a doença poderia disseminar-se mais lentamente pelo pomar, até uma disseminação de forma mais rápida. O uso de diferentes taxas de infecção implica na incerteza do nível populacional e de atividade dos vetores, já que os vetores não são considerados explicitamente no modelo utilizado.

O período de incubação refere-se ao intervalo de tempo entre a infecção e o aparecimento dos primeiros sintomas visuais. Esse período pode ser de meses a mais de um ano, dependendo da época de infecção, combinação de copa e porta-enxerto e da idade da planta (McClellan & Oberholzer, 1965; Catling, 1970; Zhao, 1981; Aubert, 1987; Gottwald et al., 1989; Yamamoto et al., 2006). No modelo foram simulados cinco períodos de incubação, variando de três meses a dois anos (Tabela 1).

Todos esses parâmetros foram relacionados entre si, dando origem a diferentes cenários de disseminação da doença. Em outras palavras, os seis espaçamentos foram considerados tratamentos e para cada espaçamento foram permitidas distintas combinações de taxas de infecção e períodos incubação.

Para cada cenário de disseminação foram simuladas mil epidemias com duração de 120 meses. Os cenários foram comparadas com base nas áreas abaixo da curva de progresso da doença (Jesus Junior et al., 2004; Vilamiu et al., 2012), para situações de baixa, média e alta taxa de infecção. O segundo experimento foi realizado considerando-se os mesmos cenários de disseminação, mas adicionando-se uma taxa de remoção que correspondeu ao critério de frequência de inspeção e erradicação propostos pela IN 53 (Belasque Junior et

al., 2010). De acordo com a IN 53, produtores de citros devem realizar ao menos quatro inspeções por ano para detecção e eliminação das plantas com sintomas de HLB. Os resultados foram analisados com base na estabilização das epidemias, ou seja, quando a disseminação da doença encontra um platô, e no número de plantas sadias restantes.

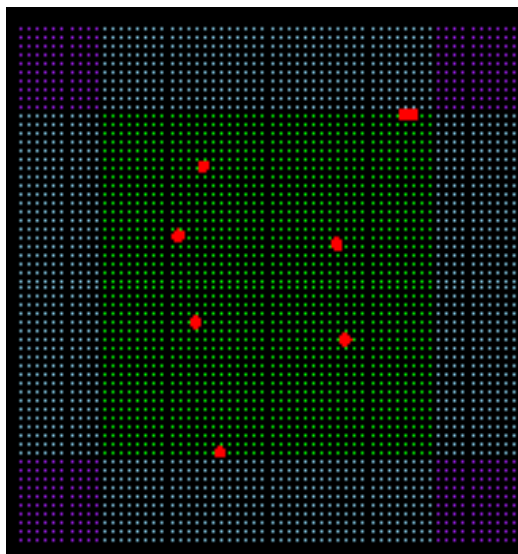


Figura 1: Representação ilustrativa do pomar alvo no centro da imagem com coloração esverdeada, e pomares vizinhos, rodeando o pomar central, de coloração azulada. Em pontos vermelhos, a representação de plantas sintomáticas.

Tabela 1. Parâmetros utilizados nas simulações, que combinados entre si, formaram os distintos tratamentos para disseminação do HLB em microescala espacial. De acordo com o tamanho do espaçamento, houve diferentes números de plantas nos respectivos pomares, e para as diferentes taxas de infecção e períodos de incubação houve variadas combinações com os espaçamentos).

Número de plantas no pomar alvo	Número de linhas de plantio e plantas por linha	Espaçamento (metros entre linhas X metros dentro da linha)	Taxas de infecção	Períodos de incubação (meses)
6000	130x90	4x2	0,5	3
4000	130x70	6x2	0,1	6
2000	80x70	6x4	0,05	12
1950	95x60	7x3,5	0,02	18
1200	70x60	8x5		24
660	63x50	12x6		

RESULTADOS

Embora as simulações tenham sido feitas com uma ampla gama de combinações de parâmetros, apresenta-se inicialmente a disseminação da doença sem qualquer tipo de controle, em dois cenários: com taxa de infecção de 0,05 e período de incubação de 12 meses (A) e com taxa de infecção de 0,02 e período de incubação de 6 meses (B).

A Área Abaixo da Curva de Diminuição do Número de Plantas Sadias (AACDNPS), foi inversamente proporcional ao adensamento. Ou seja, nos menores espaçamentos a doença evoluiu mais rapidamente, tanto no cenário A quanto no B (Figura 2). No primeiro caso, o valor de AACDNPS para o espaçamento 4x2 foi cerca de 5 vezes menor que o obtido no espaçamento 12x6 (Figura 2A). No cenário B a doença também evoluiu mais rapidamente nos menores espaçamentos, porém os valores de AACDNPS foram maiores, e nos dois maiores espaçamentos (8x5;12x6) quase não houve diferença, com valores cerca de três vezes maiores que os obtidos pelo menor espaçamento (Figura 2B).

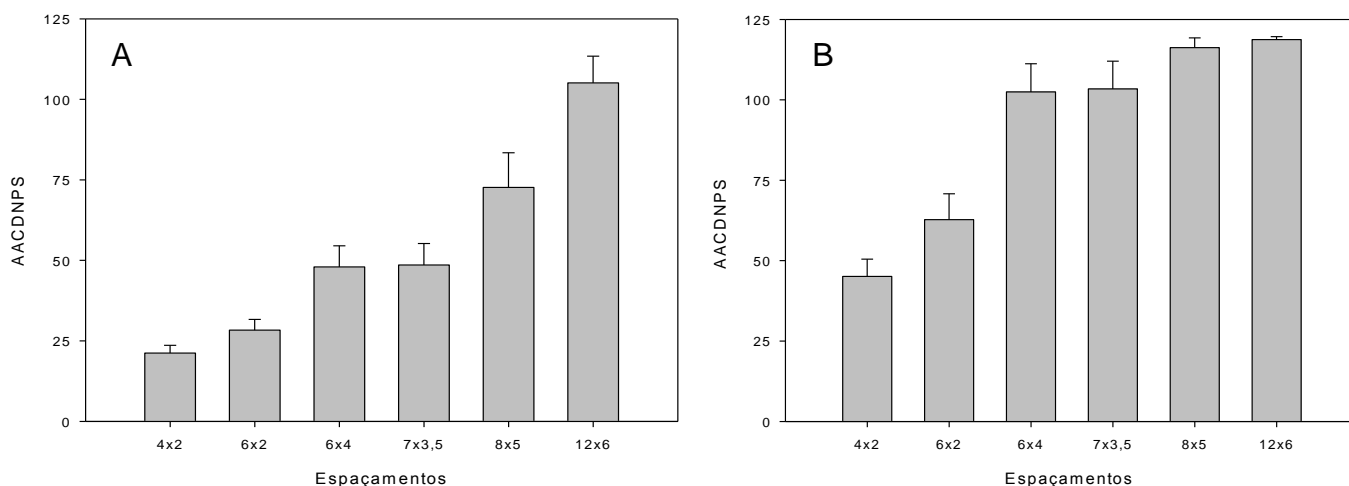


Figura 2. Área Abaixo da Curva de Diminuição do Número de Plantas Sadias (AACDNPS) ao final de dez anos de epidemia para seis espaçamentos e dois cenários: com taxa de infecção de 0,05, e período de incubação de 12 meses (A), com taxa de infecção de 0,02, e período de incubação de 6 meses (B).

Quando se considerou o tempo até a inviabilidade do pomar (Figura 3), o menor espaçamento (4x2) teve estimativa aproximada de 28 meses no primeiro cenário. Já em um pomar menos adensado, com um espaçamento intermediário (7x3,5) aquele valor sobe para 54 meses. No maior espaçamento (12x6) chegou a quase 9 anos. No segundo cenário, com menor taxa de infecção e período de incubação mais curto (Figura 3B), o tempo de viabilidade dos pomares foi maior; no menor espaçamento (4x2) a viabilidade do pomar foi de 4 anos, praticamente o dobro da primeira simulação. No espaçamento intermediário (7x3,5) o tempo até inviabilidade do pomar foi de 8,5 anos. No espaçamento 12x6 no segundo cenário, nenhuma das epidemias simuladas chegou ao nível de inviabilidade. Assim, o valor no gráfico (Figura 3B) ilustra a vida útil mínima dos pomares nesse espaçamento.

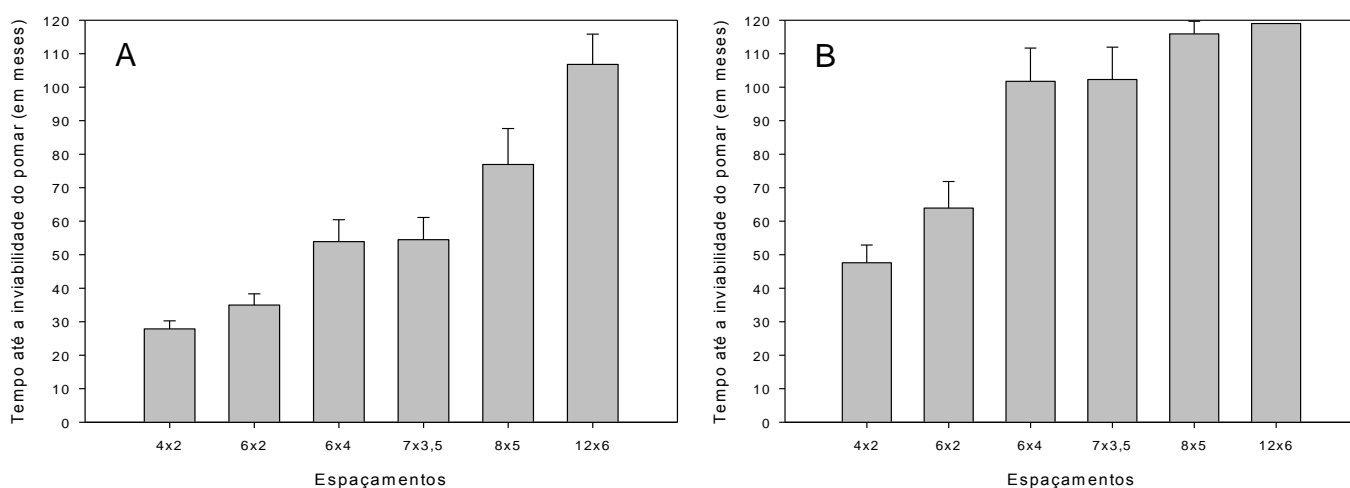


Figura 3. Tempo até a inviabilidade do pomar ao final de dez anos de epidemia para seis espaçamentos e dois cenários: com taxa de infecção de 0,05, e período de incubação de 12 meses (A), com taxa de infecção de 0,02, e período de incubação de 6 meses (B).

O número final de plantas produtivas variou de acordo com o tamanho dos espaçamentos (Figura 4). Essa tendência foi mais acentuada para o primeiro cenário, com maior taxa de infecção e período de incubação mais longo: nos espaçamentos mais adensados, apesar de o número inicial de plantas ter sido maior, ao final de dez anos o número de plantas produtivas foi menor (Figura 4A). Com menor taxa de infecção e menor período de incubação, o número final de plantas produtivas foi mais elevado, em todos os espaçamentos simulados. O

espaçamento convencional (6x4) e o espaçamento intermediário (7x3,5) ao final da simulação obtiveram um número final de plantas produtivas muito próximos (Figura 4B), superando o espaçamento mais largo (12x6), mas com números absolutos inferiores ao do espaçamento 8x5.

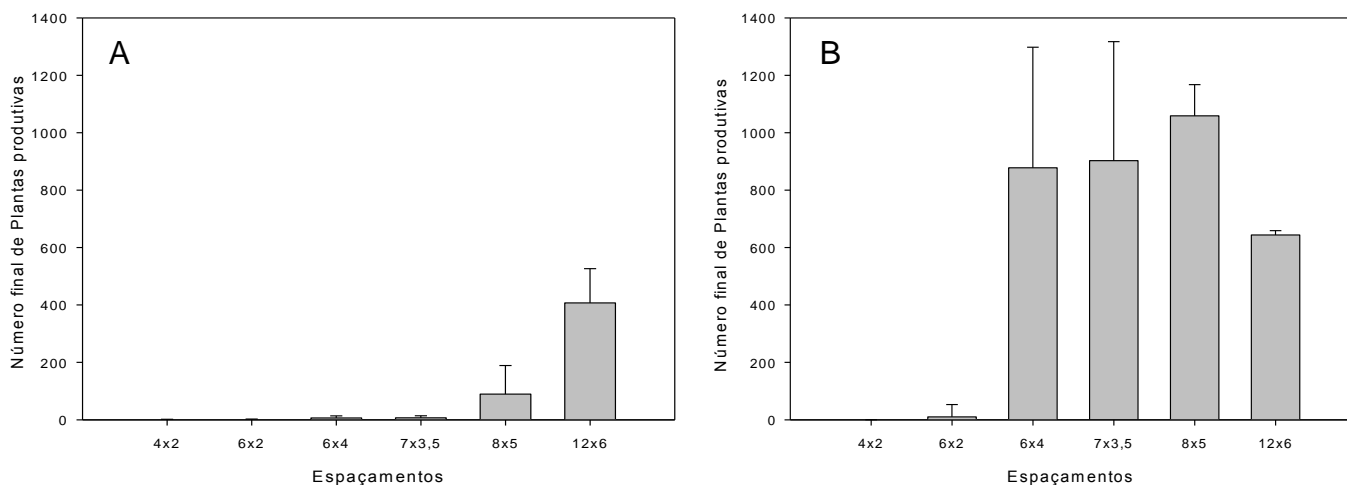


Figura 4. Número final de plantas produtivas ao final de dez anos de epidemia para seis espaçamentos e dois cenários: com taxa de infecção de 0,05, e período de incubação de 12 meses (A), com taxa de infecção de 0,02, e período de incubação de 6 meses (B).

O número de plantas produtivas por hectare nos mesmo espaçamentos porém com taxas de infecção e período de incubação diferentes, variaram (Figura 5). Na maior taxa de infecção e período de incubação, o número geral de plantas em todos os espaçamentos foi menor que na taxa de infecção e período de incubação menores. Com taxa de infecção de 0,05 e período de incubação de 12 meses (Figura 5A), o número máximo de plantas produtivas por hectare foi de 85 no maior espaçamento (12x6), já na taxa de infecção 0,02 e 6 meses de período de incubação, no maior espaçamento (12x6) o número de plantas subiu para 134 (Figura 5B).

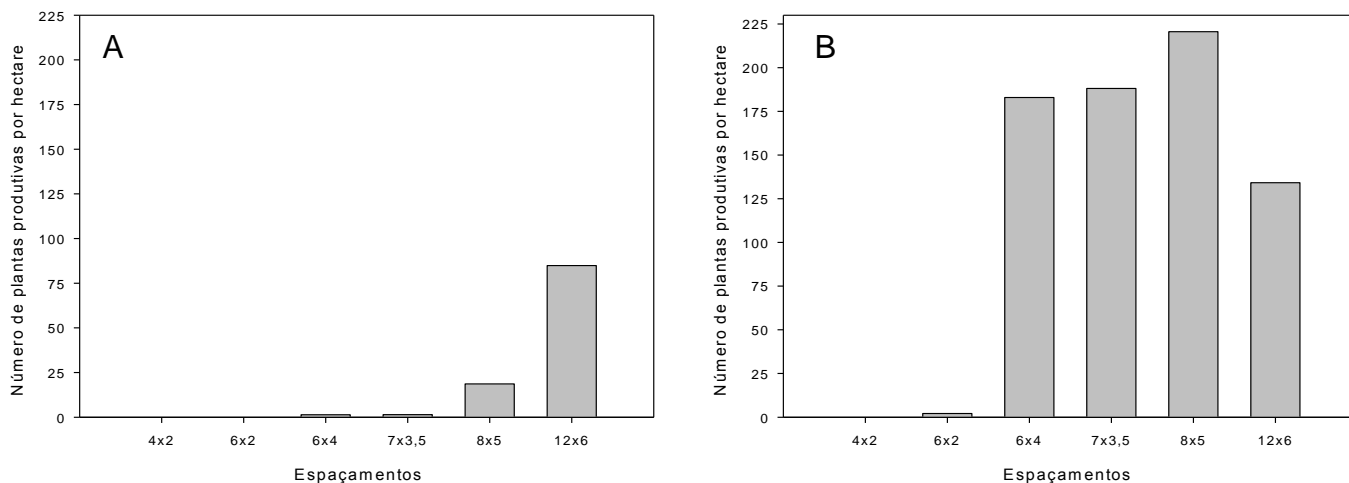


Figura 5. Número de plantas produtivas por hectare ao final de dez anos de epidemia para seis espaçamentos e dois cenários: com taxa de infecção de 0,05, e período de incubação de 12 meses (A), com taxa de infecção de 0,02, e período de incubação de 6 meses (B).

A disseminação também foi examinada considerando-se os mesmos cenários, mas adicionando-se uma taxa de remoção de plantas sintomáticas que correspondeu ao critério de frequência de inspeção e erradicação propostos pela IN 53 (Belasque Junior et al., 2010). São apresentados resultados que ilustram os padrões gerais encontrados.

O espaçamento mais adensado (4x2) apresentou os menores valores de Área Abaixo da Curva de Diminuição do Número de Plantas Sadias (AACDNPS) para todas as combinações de taxa de infecção e período de incubação examinados (Figura 6). Já para o maior espaçamento (12x6) a doença praticamente não evoluiu, apresentando valores de AACDNPS altos para todas as combinações (Figura 6). O espaçamento intermediário apresentou comportamento mais influenciado pelas combinações de parâmetros.

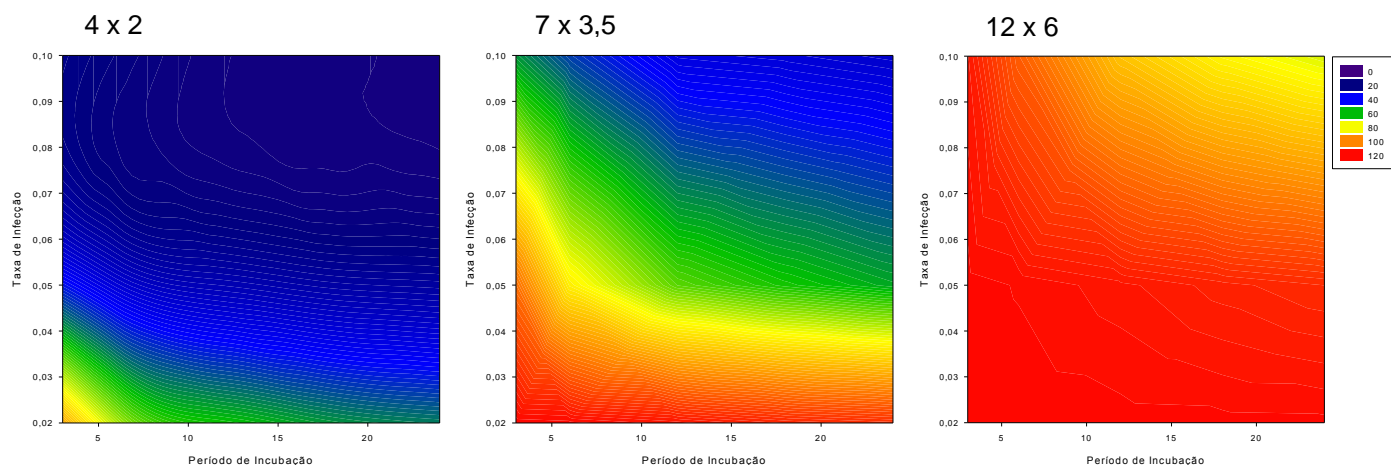


Figura 6. AACDNPS para três espaçamentos e combinações de taxas de infecção e períodos de incubação. Os resultados referem-se a média de 1000 epidemias simuladas para cada combinação e espaçamento, considerando-se remoção de plantas sintomáticas de acordo com a IN53.

Ao contrário de quando não se realiza a remoção das plantas, neste caso a maior evolução da doença no espaçamento mais adensado não se reflete necessariamente no número de plantas produtivas ao final de 10 anos (Figura 7). Para o espaçamento intermediário e o mais adensado, o número de plantas produtivas é dependente da taxa de infecção. Por outro lado, tal taxa praticamente não altera os resultados no espaçamento maior (Figura 7).

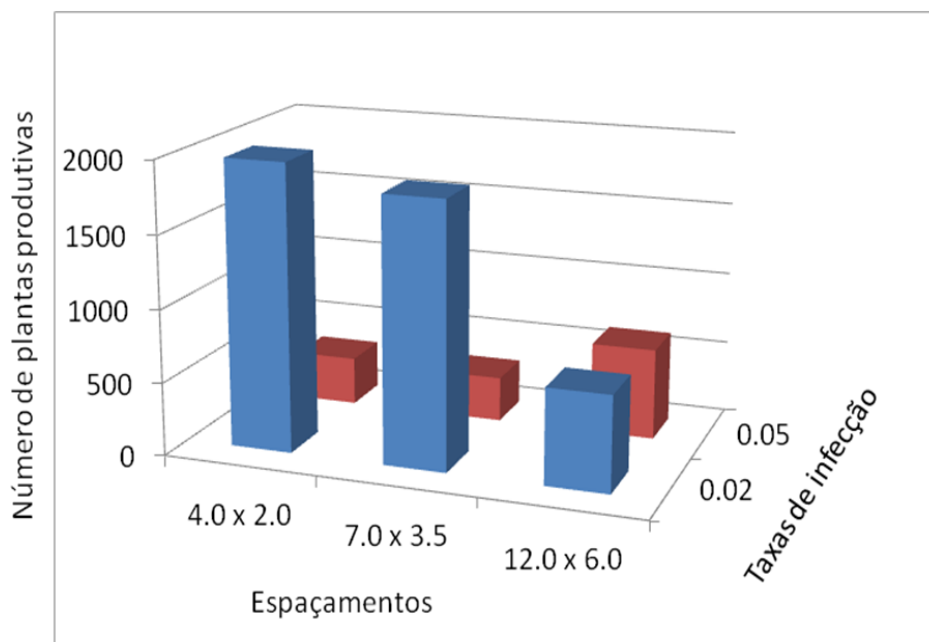


Figura 7. Número de plantas produtivas ao final de dez anos de epidemia para três espaçamentos, duas taxas de infecção e período de incubação de 12 meses. Os resultados referem-se a média de 1000 epidemias simuladas para cada combinação e espaçamento, considerando-se remoção de plantas sintomáticas de acordo com a IN53.

Nas mesmas condições de espaçamentos e taxas de infecção, porém com tempo final de 5 anos, na menor taxa de infecção o menor espaçamento continuou com maior número de plantas produtivas ao final da simulação (Figura 8). Para o espaçamento intermediário, porém, a diferença entre taxas de infecção já não é tão intensa.

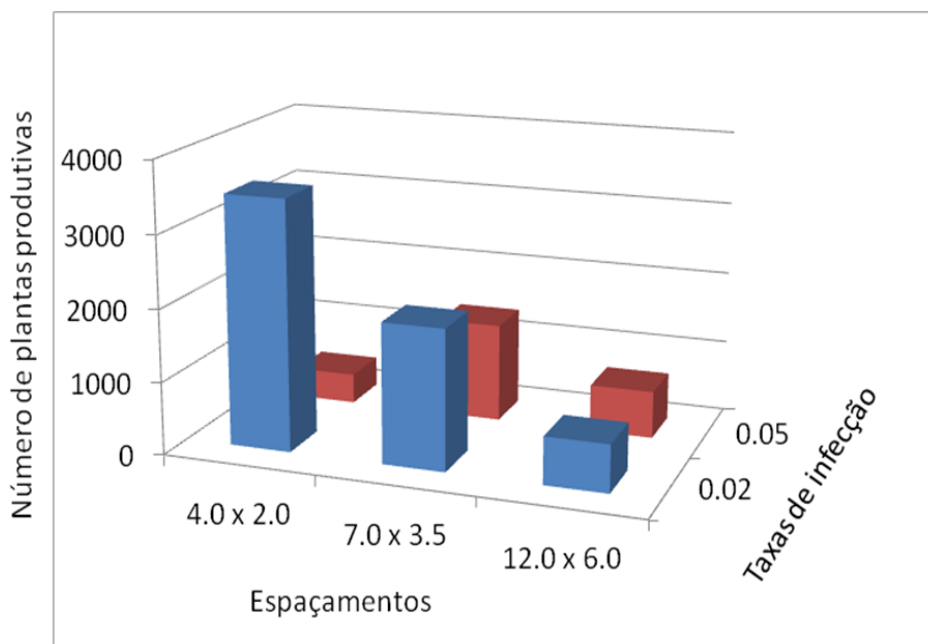


Figura 8. Número de plantas produtivas ao final de cinco anos de epidemia para três espaçamentos, duas taxas de infecção e período de incubação de 12 meses. Os resultados referem-se a média de 1000 epidemias simuladas para cada combinação e espaçamento, considerando-se remoção de plantas sintomáticas de acordo com a IN53.

Quando se considera a remoção das plantas sintomáticas de acordo com a IN53, mas com eficiência total de detecção, os padrões gerais não se alteram em razão do espaçamento (Figura 9). Apesar disso, os valores da AACDNPS são maiores em todos os espaçamentos e, no caso das menores taxas de infecção e menores períodos de incubação, praticamente não houve diferença entre os espaçamentos (Figura 9).

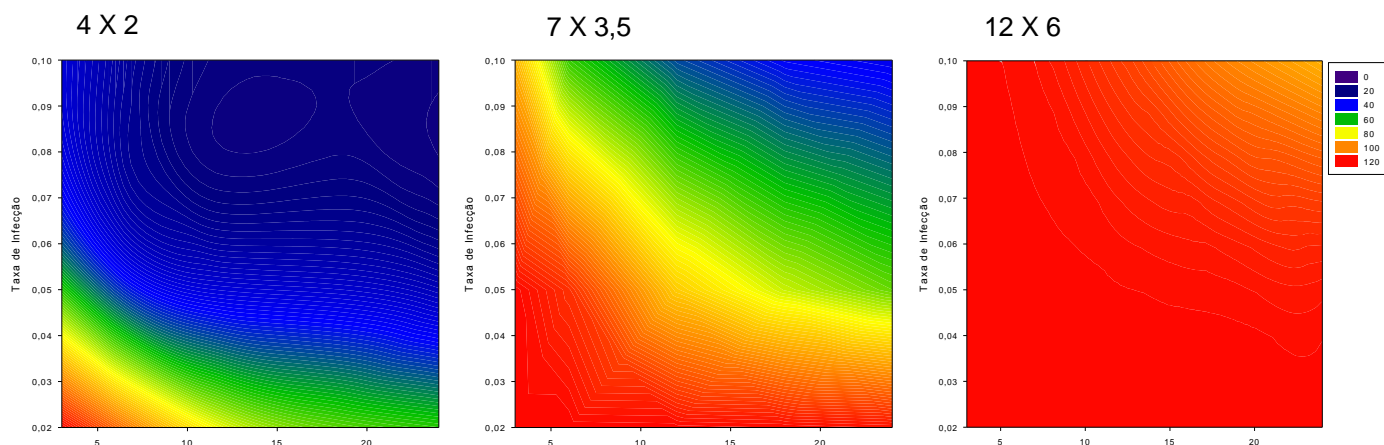


Figura 9. Área Abaixo da Curva de Diminuição do Número de Plantas Sadias para três espaçamentos e combinações de taxas de infecção e períodos de incubação. Os resultados referem-se a média de 1000 epidemias simuladas para cada combinação e espaçamento, considerando-se remoção de plantas sintomáticas de acordo com a IN53 e eficiência máxima de detecção.

Na comparação entre eficiência parcial (Figura 7) e eficiência total de detecção (Figura 10), o número final de plantas produtivas em 10 anos não se altera de modo significativo para o maior espaçamento (12x6). Para o espaçamento intermediário e o maior adensamento, o efeito da taxa de infecção se mantém. No entanto, nota-se que a eficiência maior de detecção leva a um equilíbrio de resultados entre espaçamentos (Figura 10) para a taxa de infecção de 0,05.

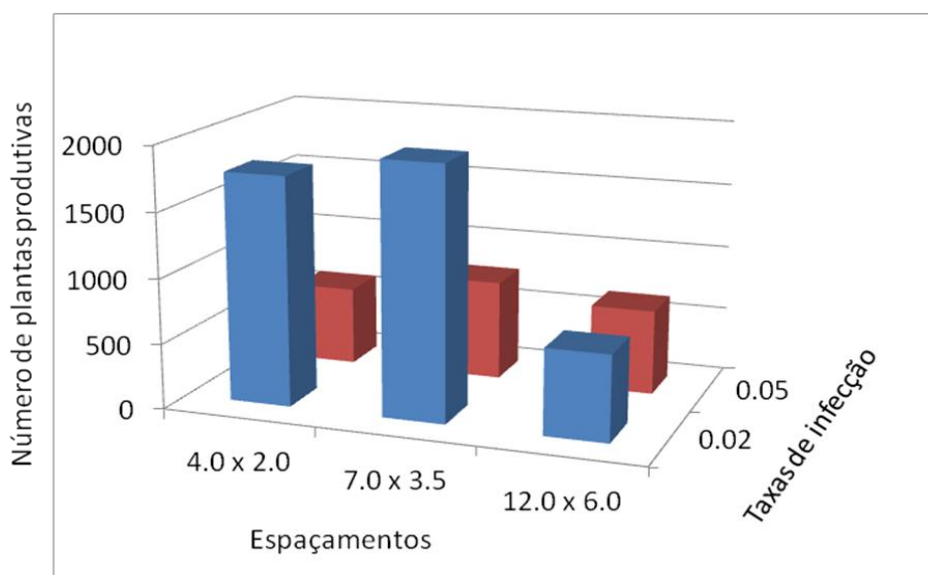


Figura 10. Número de plantas produtivas ao final de dez anos de epidemia para três espaçamentos, duas taxas de infecção e período de incubação de 12 meses. Os resultados referem-se a média de 1000 epidemias simuladas para cada combinação e espaçamento, considerando-se remoção de plantas sintomáticas de acordo com a IN53 e eficiência máxima de detecção.

O HLB é uma doença bastante destrutiva, não se conhecendo variedade resistente, seja em Citrus ou gêneros próximos (Boscariol-Camargo et al., 2010). Como também não existe método curativo, prevenir a infecção é fundamental. O controle envolve principalmente a eliminação de plantas doentes (Belasque Jr. et al., 2010), pois quando não se faz a erradicação de plantas sintomáticas, a disseminação da doença no pomar é bastante elevada.

De acordo com Stuchi & Girardi (2010), pomares com menores espaçamentos, ou seja, com maior densidade de plantas por área, atingem maior produtividade inicial, e assim compensariam perdas econômicas futuras ocasionadas pela doença. Resultados das simulações demonstram que em pomares mais adensados a disseminação da doença seria mais rápida. Isso ocorre devido a uma maior proximidade entre as plantas, facilitando a movimentação dos insetos vetores de uma planta a outra.

Mesmo sem taxa de remoção de plantas sintomáticas, e com a taxa de infecção alta, nos maiores espaçamentos não houve progresso significativo do HLB. Portanto, do ponto de vista fitopatológico os espaçamentos menos adensados diminuem a disseminação do HLB no pomar, com ou sem erradicação. Porém, economicamente pode ser inviável pois nessa situação haveria um número de plantas bastante reduzido por hectare, ocasionando uma menor produção de frutos. Uma das alternativas para conciliar a redução no progresso da doença e o sucesso econômico, seria conduzir a área em sistema de policultivo, com espécies compatíveis para convivência com citros. De acordo com Stuchi & Girardi (2010), na citricultura sugerem-se dois tipos principais de policultivos. O primeiro leva em conta que os citros são uma cultura perene, e o consórcio é feito com cultivares alimentares, espécies de maior valor agregado ou ciclo produtivo rápido, como pequenas frutas, espécies olerícolas e ornamentais. O segundo tipo entende os citros como uma cultura temporária. Nesse sistema a erradicação gradativa de plantas sintomáticas infectadas pelo HLB seria levada em conta, e a segunda cultura seria dominante ao final de um determinado período. Culturas perenes candidatas para consorciação com os citros são a seringueira, espécies de madeira-de-lei, espécies florestais para fins energéticos

e obtenção de celulose, além de frutíferas diversas, incluindo-se as goiabeiras e mangueiras.

Nos espaçamentos intermediários, o progresso da doença foi influenciado pela taxa de infecção. Na taxa de infecção mais elevada com ou sem remoção de plantas sintomáticas, o HLB disseminou-se mais rapidamente. Isso levou a um menor número final de plantas produtivas, menor número de plantas por hectare, e menor tempo até a inviabilidade do pomar. Nas condições do Recôncavo baiano o psílídeo *D. citri* foi encontrado tanto em murta como em citros, de maneira frequente (Capítulo 1). A população de insetos vetores nessa região pode ser considerada alta, o que influenciaria a ocorrência de maiores taxas de infecção nesses pomares, caso haja a introdução do HLB.

Comparando-se simulações com os mesmos espaçamentos ou espaçamentos aproximados com mesmas taxas de infecção, percebe-se que o tempo considerado (cinco ou dez anos) pode influenciar diretamente nos resultados. Assim, o uso de espaçamentos mais adensados compensaria apenas se acompanhado de uma redução significativa da taxa de infecção. Bassanezi et al. (2010) admitem que a taxa de infecção do HLB permanece uma incerteza biológica, e que a velocidade de progresso da doença pode variar com fatores como idade das plantas, manejo, extensão e proximidade de fontes de inóculo. Portanto, é importante principalmente em áreas indenes como no Recôncavo baiano, o estudo sobre densidades de plantio e simulações em relação a disseminação da doença nos pomares, para que assim, esse dados possam apresentar relações entre hospedeiros-vetor, demonstrando e certificando informações sobre a epidemiologia do HLB. Nas condições do Recôncavo baiano foram encontrados vetores tanto em murta como em citros na maioria das avaliações, além de que as plantas são adensadas, e os pomares são bem próximos uns dos outros, o que pode representar altas taxas de infecção na região.

Em pomares mais adensados a doença dissemina-se mais rapidamente. Porém, independente do espaçamento, deve-se levar em conta o tempo até a ocorrência da primeira planta sintomática. Havendo infecção precoce pelo HLB, mesmo em pomares não tão adensados a disseminação da doença pode levar a uma redução significativa de plantas produtivas. Com isso, a viabilidade econômica tem que ser considerada caso a caso, pois dependeria não

só do espaçamento e da epidemia, mas principalmente do tempo até a ocorrência da primeira planta com sintoma.

De acordo com a Instrução Normativa nº 53 (IN 53), produtores de citros devem realizar ao menos quatro inspeções por ano, e erradicar plantas sintomáticas. A erradicação de plantas segundo a IN 53, nos pomares mais espaçados, independente das taxas de infecção e períodos de incubação, não alteram os resultados de maneira significativa. Já em pomares mais adensados, foi vista uma interação entre taxa de infecção, remoção e tempo de epidemia.

Em São Paulo, foi estimado que pomares jovens, que ficam próximos a pomares infectados e que não adotam medidas de controle da doença, podem atingir 50% de plantas sintomáticas em apenas três anos (Bassanezi et al., 2010). Por isso, é muito importante que haja o controle na população do inseto vetor, e imediata erradicação de plantas sintomáticas em todos os pomares da região. As simulações confirmam que diminuição da taxa de infecção e erradicação concomitantes diminuem a disseminação da doença, aumentando o tempo de viabilidade do pomar.

Como epidemias de HLB são relativamente rápidas e destrutivas, o risco de sua introdução e disseminação em áreas indenens pode ser considerado alto. Assim, ações de prevenção e erradicação precoce da doença são fundamentais (Bassanezi et al., 2010).

Os resultados parecem indicar que a viabilidade do uso de maiores espaçamentos como método de controle da doença, só seria possível com o uso de policultivos. Mesmo assim, deve-se ter em mente que um sistema de policultivo talvez só seja adequado para pequenas áreas. No caso do Recôncavo da Bahia poderia ser uma estratégia a ser considerada. No entanto, dependeria de estudos mais detalhados entrelaçando a fitopatologia, entomologia e práticas hortícolas.

As simulações confirmam também a hipótese inicial de que o progresso da doença seria mais rápido para os espaçamentos mais adensados, mas não confirmam que tais espaçamentos seriam viáveis considerando-se os critérios usados neste trabalho. No entanto, seria muito precipitado afirmar que se pode descartar esses espaçamentos como opção. O que deve haver é um ponto de equilíbrio entre progresso da doença e plantas remanescentes que indique o adensamento ótimo para manutenção da viabilidade econômica do pomar. No

entanto, esse ponto ótimo só poderá ser obtido com estudos mais detalhados. Tais estudos deverão levar em conta o momento inicial das epidemias, simulando-se o progresso da doença em pelo menos 25 diferentes densidades de plantio e, eventualmente, acoplando os resultados com análise econômica da produção esperada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maior parte da citricultura na Bahia é praticada por agricultores de base familiar. Como cerca de 80% dos pomares têm área inferior a 10 hectares e a produção de laranja no Recôncavo é de 164.045 toneladas anuais, essa produção é uma importante fonte de renda, gera empregos diretos e indiretos (IBGE, 2011). O HLB é uma doença altamente destrutiva para os pomares e é de difícil controle (Bové, 2006a). No Brasil, é associado a duas espécies de bactérias gram-negativas limitadas ao floema (Garnier et al., 1984), e sua transmissão ocorre principalmente através do inseto vetor, *Diaphorina citri* (Martinez & Wallace, 1967). Desde a detecção do HLB no Brasil, no Estado de São Paulo, e sua disseminação para outros Estados (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005), o risco de aparecimento dessa doença no Recôncavo é cada vez maior. Apesar de até agora a doença não ter sido detectada nessa região, o vetor encontra-se distribuído por toda a Bahia (Silva et al., 2012).

Em áreas indenes como o Recôncavo baiano, deve-se procurar o desenvolvimento de trabalhos que antecipem informações sobre o patossistema antes da invasão do patógeno. Uma alternativa é o monitoramento da ocorrência do inseto vetor e análise de sua flutuação populacional. Essas informações podem indicar épocas mais críticas para a disseminação do HLB e possibilitar o estabelecimento de estratégias de manejo integrado mais adequado. Mais que isso, pode auxiliar na elaboração de planos de detecção e erradicação precoce de plantas doentes. Todos os parâmetros relativos ao vetor e ao hospedeiro serão usados futuramente em análises de correlação entre séries temporais, análise de heterogeneidade espacial e na modelagem da disseminação e controle do HLB em nível regional.

O uso de modelos e o desenvolvimento de simulações possibilitam estudos relacionados à disseminação da doença, sem necessidade de condução de experimentos com HLB em campo. Um benefício adicional é que podem ser testadas hipóteses antes da chegada da doença em uma determinada área. Neste trabalho, as simulações confirmaram a hipótese inicial que o progresso do HLB tende a ser muito limitado em pomares com baixa densidade de plantio. Isso

sugere a viabilidade do uso de policultivos na região do Recôncavo da Bahia, pois a maioria da produção de citros é feita em pequenas áreas, o que pode efetivar esse tipo de produção. O policultivo poderia ser realizado com espécies compatíveis para convivência com citros, conciliando a redução do progresso da doença com o sucesso econômico. Para que isso seja possível, no entanto, devem-se desenvolver pesquisas conjuntas, entrelaçando a fitopatologia, entomologia e práticas hortícolas.

REFERÊNCIAS

ATIHE JUNIOR, J., PINO, F.A., MENDONÇA, E.T. & FRANCISCO, V.L.F.S. Incidência de *huanglongbing* (HLB) (greening) em citros na região de Araraquara. **Laranja**, v. 27, n. 2, p.251-262, 2006.

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.

AUBERT, B. High density planting (HDP) of Jiaogan mandarine in the lowland area of Shantou (Guangdong China) and implications for greening control. In: INTERNATIONAL ASIA PACIFIC CONFERENCE ON CITRUS REHABILITATION, 4., 1990, Chiang Mai, Thailand. **Proceedings...** Rome: FAO-UNDP. p. 149-157. Editado por B. Aubert, S. Tontyaporn, D. Buangsuwon.

AURAMBOUT, J F.; FINLAY, K. J.; LUCK, J.; BEATTIE, G. A. C. A concept model to estimate the potential distribution of the Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) in Australia under climate change-A means for assessing biosecurity risk, **Ecological Modelling**, v. 220, p. 2512-2524, 2009.

BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L. H.; BUSATO, L. A.; STUCHI, E. S. Damages caused by *Huanglongbing* on sweet orange yield and quality in São Paulo. In: PROCEEDINGS OF THE HUANGLONGBING GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, **Resumo S17...** Araraquara, São Paulo: Fundecitrus. 2006.

BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A.; BELASQUE JUNIOR, J.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A. Epidemiologia do *huanglongbing* e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 11-24, 2010.

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**, v. 31, n. 1, p. 54-64, 2010.

BOVÉ, J. M. História, Etiologia, Identificação no Campo, Transmissão e Distribuição Mundial do *Huanglongbing*: uma Destrutiva, Recém-Emergida, Doença Secular de Citros. In: HUNGLONGBING – GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, 1, 2006, Ribeirão Preto. **Resumos...** [S1] France: Journal of Plant Pathology, v. 88, p. 07-37, 2006a.

BOVÉ, J.M. *Huanglongbing*: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal Plant Pathology**, Bari, v.88, n.1, p. 7-37, 2006b.

BOVÉ, J. M.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BASSANEZI, R. B.; LOPES, S.A.; YAMAMOTO, P. T.; AYRES, A. J. Several Liberibacter and Phytoplasma species are individually associated with HLB. In: **PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL RESEARCH CONFERENCE ON HUANGLONGBING**, Orlando, 2008, p. 152-155.

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.

CATLING, H. D. The bionomics of the South African *Citrus psylla*, *Trioza erytrae* Del Guercio (Homoptera: Psyllidae). 4. Influence of predators. **Journal of Entomological Society of South Africa**, v.33, p. 341-348, 1970.

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

COSTA LIMA, A. M. **Insetos do Brasil**, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. 101 p. (Série didática, 3: Homoptera).

DAMSTEEGT, V. D.; POSTNIKOVA, E. N.; STONE, A. L.; KUHLMANN, M.; WILSON, C.; SECHLER, A.; SCHAAD, N. W.; BRLANSKY, R. H.; SCHNEIDER, W. L. *Murraya paniculata* and related species as potential hosts and inoculum reservoirs of 'Candidatus Liberibacter asiaticus', causal agent of *Huanglongbing*. **Plant Disease**, v. 94 n. 5, p.528-533, 2010.

DONADIO, L. C.; STUCHI, E. S.; SEMPIONATO, O. R. Variação de produtividade em laranja 'Pêra' sobre 'Cleópatra' em diversos espaçamentos, sem irrigação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002, Belém, PA. **Resumos...** Belém, PA: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002. 1 CD-ROM.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D. **Entomologia Agrícola**, Piracicaba: Ceres, 2002, 920 p.

GARNIER, M.; DANIEL, N.; BOVÉ, J.M. 1984. The greening organism is a Gram negative bacterium. In: **PROCEEDINGS OF 9th CONFERENCE OF INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS**, Riverside, 1984, p. 115-124.

GOTTWALD, T. R.; AUBERT, B.; ZHAO, X. Y. Preliminary analysis of citrus greening (*Huanglongbing*) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. **Phytopathology**, v. 79, p. 687-693, 1989.

GOTTWALD, T. R. Current Epidemiological Understanding of Citrus *Huanglongbing*. **Annu. Rev. Phytopathol**, v. 48, p. 119-139, 2010.

HALBERT, S. 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.

HALL, D.G. & ALBRIGO, L.G. Estimating the Relative Abundance of Flush Shoots in Citrus with Implications on Monitoring Insects Associated with Flush. **Hortscience**, vol. 42, p.364-368, 2007.

HALL, D. G.; HENTZ, M. G.; ADAIR JR, R. C. Population Ecology and Phenology of *Diaphorina citri*(Hemiptera: Psyllidae) in Two Florida Citrus Groves. **Environmental entomology**, v.37, p.914-924, 2008.

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, p. 96-102, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores do IBGE-**Estatística da produção agrícola** - Brasil-Dezembro 2011. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201112.pdf > Acesso em: 23 Fev. 2012.

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.

JESUS JUNIOR, W. C. DE; POZZA, E. A.; VALE, F. X. R. DO; AGUILERA, G. M. **Análise Temporal de Epidemias**. In: VALE, F. X. RIBEIRO DO; JESUS JUNIOR, W. C. DE; ZAMBOLIM, L. (Ed). Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Belo Horizonte, 2004. P. 127-188.

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, p. 201-206, 2000.

LEAL, R. M. **Distribuição espacial de *Diaphorina citri* kuwayama (hemiptera: psyllidae) e sua relação com a expansão do greening em laranjeira valência, utilizando geoestatística**. Jaboticabal, 2009. 97 p. Tese (doutorado em agronomia), Universidade Estadual Paulista-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

LOPES S. A.; MARTINS, E. C.; FRARE, G. F. Detecção de *Candidatus Liberibacter americanus* em *Murraya paniculata*. **Summa Phytopathologyca**, v. 31, p.48-49, 2005.

LOPES S. A.; MARTINS E. C.; FRARE G. F. Detecção de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em *Murraya paniculata*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.303, 2006.

LOPES, S. A.; BERTOLINI, E.; FRARE, G. F.; MARTINS, E. C.; WULFF, N. A.; TEIXEIRA, D. C.; FERNANDES, N. G.; CAMBRA, M. Graft transmission efficiencies and multiplication of '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Ca. Liberibacter asiaticus*' in citrus plants. **Phytopathology**, v. 99, p. 301-306, 2009a.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; BERTOLINI, E.; CAMBRA, M.; FERNANDES, N. G.; AYRES, A. J.; MARIN, D. R.; BOVÉ, J. M. Liberibacters associated with citrus *huanglongbing* in Brazil: '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' is heat tolerant, '*Candidatus Liberibacter americanus*' is heat sensitive. **Plant disease**, v. 93, p. 257-262, 2009b.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; CAMARGO, L. E. A; WULFFA, 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, p. 1044-1053, 2010.

MARTINEZ, A. L.; WALLACE, J. M. Citrus leaf mottle-yellow disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid, *Diaphorina citri*. **Plant Disease Reporter**, v. 51, p. 692-695, 1967.

MCLEAN, A. D. P.; OBERHOIZER, P. C. T. Citrus psylla, a vector of the greening disease of sweet orange. **South African Journal of Science**, v. 8, p. 297-298, 1965.

NASCIMENTO, F. E. **Estudos sobre aquisição e concentração de por "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" e "*Candidatus Liberibacter americanus*" em *Diaphorina citri* kuwayama**. Piracicaba, 2010. 87 p. Dissertação (Mestrado

em Ciências) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

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 at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, p. 709-715, 2007.

NUNES, W. M. C., SOUZA, E. B.; LEITE JUNIOR, R. P.; SALVADOR, C. A.; RINALDI, D. A.; CROCE FILHO, J.; PAIVA, P. G. Plano de ação para o controle do *huanglongbing* no estado do Paraná, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 2, p. 169-178, 2010.

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**. Piracicaba, 2009, 65 p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

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**, v. 31, n. 1, p. 37-51, 2010.

PLUKE, RICHARD W. H.; QURESHI, JAWWAD A.; STANSLY, PHILIP A. Citrus flushing patterns, *diaphorina citri* (hemiptera: psyllidae) populations and parasitism by *tamarixia radiata* (hymenoptera: eulophidae) in puerto rico. **Florida Entomologist**, vol. 91, n. 1, p.36-42, 2008.

SEAGRI, Secretaria de agricultura, irrigação e reforma agrária-Superintendência de política do agronegócio. **Produção, área colhida e crescimento (Laranja 2009/2010)**. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/PDF_SUAF/prod_laranja.pdf> Acesso em: 10 de abril 2012.

SETAMOU, M., FLORES, D., FRENCH, J.V.; HALL, D.G. 2008. Dispersion Patterns and Sampling Plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Citrus. **J. Econ. Entomol.** v. 101, n. 4, p.478-1487.

SILVA, S. X. B.; NASCIMENTO, A. S.; RORIZ, A. K. P.; SANCHES, I. B; LOBO, C. G. B.; LARANJEIRA, F. F. Densidade populacional de adultos de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), em quatro regiões citrícolas do estado da Bahia. In: **XXIV congresso Brasileiro de Entomologia**, Curitiba, Paraná, 2012.

SOEMARGONO, A, IBRAHIM, Y., IBRAHIM, R. & OSMAN, M.S. Spatial distribution of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) on citrus and orange jasmine. **Journal of Bioscience**, v. 19, n. 2, p.9-19, 2008.

STUCHI, E. S.; GIRARDI, E. A. Utilização de Práticas Culturais na Citricultura Frente ao *Huanglongbing*, documentos 191, Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-4996, 2010. Disponível em:

<http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos/documentos_191.pdf>.

Acesso em: 30 de abril de 2012.

TEIXEIRA D. C.; AYRES, A. J.; KITAJIMA, E. W.; TANAKA, F. A. O.; DANET, J. L.; JAGOUÉIX-EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J. M. First report of a *huanglongbing*-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil, and association of a new liberibacter species, '*Candidatus Liberibacter americanus*', with the disease. **Plant Disease**, v. 89, p. 107, 2005.

TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J. O.; LARANJEIRA, F. F.; SALIBE, A. A. Produção e qualidade de frutos de laranja 'Valência' sobre trifoliato 'Limeira' em cinco densidades de plantio. **Revista Laranja**, Cordeiropolis, v. 21, n. 2, p. 345-358, 2000.

TWISK, J. W. R. **Applied Longitudinal Data Analysis for Epidemiology: a practical guide**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

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

VILAMIU, R. G. D' A; TERNES, S.; BRAGA, G. A.; LARANJEIRA, F. F. A model for *Huanglongbing* spread between citrus plants including delay times and human intervention. In: **AIP Conference Proceedings**, 10th International Conference of Numerical Analysis and Applied Mathematics, 2012.

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, p. 165-170, 2001.

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.

ZHAO, X. Y. CITRUS yellow shoot (*Huanglongbing*) in China: a review. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, v. 1, p. 466-469, 1981.