



# Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Fevereiro de 2005 • Número 117

## Avanços nas Pesquisas sobre HLB

Embora o *huanglongbing* (HLB ou *ex-greening*) tenha sido detectado recentemente - em julho de 2004 - em alguns pomares do Estado de São Paulo, já existe um bom volume de informações sobre vários aspectos da doença, baseadas principalmente na experiência de pesquisadores de outros países que há muito trabalham com ela. Atualmente, já existe um bom levantamento sobre os municípios nos quais a doença foi constatada e estudos de diversidade da bactéria indicam que existe mais de um variante ou raça em plantas com sintomas. Além disso, já se sabe que, mesmo em viveiros protegidos, é possível encontrar plantas infectadas, que a bactéria pode ser confirmada em plantas de murta e no vetor, que a poda não é uma possibilidade de redução do potencial de inóculo no pomar, que o diagnóstico pode ser feito por avaliação de sintomas e que a técnica de PCR é uma alternativa segura para confirmar a presença da bactéria.

Os principais trabalhos de pesquisa sobre HLB têm sido conduzidos pelo Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC e pelo Fundecitrus, principalmente aqueles relacionados ao entendimento desse novo patossistema. O Centro dedica-se mais aos aspectos básicos da bactéria e sua interação com o hospedeiro, enquanto o Fundecitrus tem atuado no sentido de entender a doença em campo, assim como seu vetor e os fatores ambientes que podem ter efeito sobre seu desenvolvimento. A seguir, são apresentados alguns importantes resultados das pesquisas sobre o HLB conduzidas pelo Centro APTA Citros.

A bactéria *Ca. Liberibacter* apresenta suficiente variabilidade genética, o que permite classificá-la em grupos ou variantes

geneticamente distintos. A forma asiática apresenta variações entre as bactérias de origem do Pacífico (Japão, Filipinas, Indonésia, Tailândia e Nepal) com as de origem chinesa e indiana.

Em São Paulo, além da variante asiática padrão, cuja origem é provavelmente a região do Pacífico, existe uma outra forma de *Ca. Liberibacter* diferente das já conhecidas asiáticas e africanas. Batizada como americana, embora não necessariamente tenha se originado nas Américas, essa forma até então desconhecida de *Ca. Liberibacter* apresenta,

na região 16S do seu DNA ribossomal, a ausência de cerca de 17 nucleotídeos quando comparado às formas asiáticas e africanas (Figura 1). Essa diferença é suficiente para que iniciadores específicos para ambas formas sejam desenhados e usados no diagnóstico via PCR (Figura 2).

A bactéria do HLB também pode ser rápida e eficientemente transmitida por enxertia de borbulhas infectadas. Na Figura 3 é mostrada uma planta com sintomas típicos de mosqueamento seis meses após enxertia com material infectado.

```
Ca. L. forma Africana - L22533 101 AAAGTACCCAACATCTAGATAAAA-TCTAAACTTCATGGCAACTAGAGGC 150
Ca. L. forma Asiática - SP AAAGTACCCAACATCTAGGTA AAAACCTAAACTTCATGGCAACTAGAGGC
Ca. L. variante LSg2 - SP AAAGTTCCCAAC-----TTAA---TCATGGCAAAATATAGGC
***** **
```

Figura 1. Seqüência parcial de nucleotídeos da região 16S rDNA de *Ca. Liberibacter* de São Paulo (forma Asiática - São Paulo e a nova forma, LSg2 - provável Americana, e Africana (acesso L22533 do GenBank). Os traços denotam deleção e os asterísticos, os nucleotídeos conservados

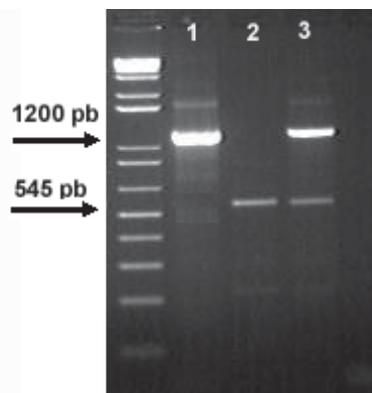


Figura 2. Amplificação de *Ca. Liberibacter* de plantas com HLB. 1. Planta infectada com a variante Asiática. 2. Planta infectada com a variante de ocorrência exclusiva de São Paulo. 3. Amostras de plantas infectadas com as duas variantes da bactéria



Figura 3. Muda de laranja Valência com sintomas de HLB, seis meses após a inoculação com borbulha infectada

### Leia ainda nesta Edição

. Curso NBR ISO/IEC 17025. Páginas 3.

. Programação do VI Dia do Limão Tahiti. Páginas 4.

## Editorial

### Urgência na legislação sobre HLB

Desde que foi detectado, em julho do ano passado, o huanglongbing tem recebido especial atenção de toda a comunidade citrícola paulista. Esforços têm sido feitos no sentido de reunir equipes, montar projetos, propor soluções, estratégias, visitar outros países, para melhor entender esse patossistema que ainda é muito novo e desconhecido por aqui. Ao contrário da CVC e da morte súbita, o HLB já tem um bom volume de informações disponíveis, o que consolida a certeza que se trata da mais severa doença de citros no mundo. E que é absolutamente impossível qualquer estratégia ou tentativa de convivência com o protelamento das medidas de erradicação e procurando na poda um paliativo para adiar a erradicação.

Como um "tsunami", o HLB chegou à citricultura brasileira de forma silenciosa e definitiva, já podendo ser encontrado em vários pomares do Estado de São Paulo. Os dados de levantamento temporal da doença ainda não demonstram a velocidade com que ela está se distribuindo nos pomares, o que faz com que muitos acreditem que ela pode estar em uma fase inicial da curva epidemiológica e que, portanto, haveria suficiente tempo para decidir como a doença seria manejada. Não existe outro manejo para o HLB senão a eliminação de plantas doentes, reduzindo o potencial do inóculo da bactéria, ao mesmo tempo em que o controle do vetor deve se tornar uma rotina. Embora a eficiência de controle do HLB através do controle do vetor possa ser questionada, ele pode quebrar o ciclo de transmissão, particularmente nas fases iniciais de dispersão da doença.

Urge que a legislação desempenhe seu papel normalizando o controle do HLB na citricultura brasileira, pela eliminação de focos da doença, tornando esse processo mandatário para todo aquele que tenha plantas infectadas no seu pomar. É mais um custo para o citricultor, mas não existe alternativa. Focos de HLB devem ser vistos como risco real a comprometer todo o pomar. Ou o citricultor os elimina ou em poucos anos o HLB será a única certeza na sua propriedade. Não é possível adiar a decisão de erradicação de plantas doentes. A vigilância deve ser constante.

O Centro APTA Citros apóia firmemente a decisão do Ministério da Agricultura e da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado no sentido de estabelecer e implementar ações mandatárias em defesa de toda a citricultura brasileira.

## Notas

### Palestras no 28º. Congresso Paulista de Fitopatologia

Durante o Congresso Paulista de Fitopatologia realizado no período de 22 a 24 de fevereiro, no Instituto Biológico em São Paulo, os pesquisadores Marcos A. Machado, Juliana Freitas-Astúa e Helvécio Della Coletta Filho foram convidados a proferir palestras sobre importantes doenças dos citros. No simpósio Impactos das Doenças sobre o Agronegócio dos Citros foram apresentadas as palestras sobre "Doenças Emergentes e Limitantes: CVC, MSC e HLB", pelo pesquisador Marcos A. Machado. No mesmo simpósio, Juliana Freitas-Astúa apresentou o tema "Impacto da leprose e da tristeza na citricultura brasileira". No simpósio sobre genética de populações de patógenos, Helvécio Coletta discorreu sobre "Genética de populações de fitobactérias".

### Dissertações de Mestrado

Os alunos Danilo Valério Barbasso e Josiane Maria Alves de Oliveira, do curso de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, área de Tecnologia da Produção Agrícola, do Instituto Agronômico, receberam seus títulos de Mestre com a defesa de suas dissertações que versaram sobre "Caracterização fenológica e físico-química de tangerinas em diferentes porta-enxertos" e "Ampliação do período de colheita e estudo fenológico de tangerinas do tipo Ponkan", nos dias 4 e 11 de fevereiro, respectivamente. Os estudos foram conduzidos em experimentação implantada em 1995, neste Centro, e as análises dos frutos foram realizadas no Laboratório de Qualidade da unidade. O grupo teve como orientadores Rose Mary Pio, do Centro APTA Citros, e Mário José Pedro Júnior, pesquisador do Centro de Ecofisiologia e Biofísica, também do IAC. O pesquisador José Orlando de Figueiredo foi membro da banca de defesa da dissertação de Josiane.

Juliana Érika de Carvalho Teixeira, aluna do curso de Genética da Universidade Federal de Lavras e orientada do Prof. Luciano V. Paiva e Magnólia Campos, defendeu sua dissertação de Mestrado com o projeto sobre expressão de genes diferencialmente expressos de *Poncirus*

*trifoliata* e tangerina Sunki infectados com *Phytophthora parasítica*, agente da gomose dos citros. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Citros, com supervisão dos pesquisadores Alessandra Alves de Souza, Gustavo Astúa-Monge, Marco Aurélio Takita e Maria Luísa P. N. Targon. O pesquisador Marcos A. Machado, diretor do Centro, participou da defesa da dissertação, ocorrida em 11 de fevereiro.

### Resistência à gomose

Na dissertação de Mestrado de Juliana Teixeira ficou evidenciado que *Poncirus trifoliata* apresenta uma resposta à infecção por *Phytophthora*, por ativar vários genes relacionados a patogenicidade, o que também ocorre com tangerina Sunki, porém em muito menor quantidade. É como se em tangerina Sunki o fungo tivesse mais tempo para desenvolver a infecção, o que levaria ao desenvolvimento da doença. Aparentemente, por ser mais rápido na resposta, *P. trifoliata* conseguiria inibir mais rapidamente a invasão do fungo.

### Seminário Científico

Dando início ao Ciclo de Seminários de 2005 no Centro APTA Citros Sylvio Moreira, foi apresentado, no dia 2 de fevereiro, o seminário intitulado "Avaliação de transcrição em plantas afetadas pelo declínio dos citros e identificação de um contraste etiológico potencialmente associado à doença". O seminário foi conduzido por Eduardo F. Carlos, que está atualmente desenvolvendo seus trabalhos de pós-doutorado no Laboratório de Biotecnologia do Centro. Na ocasião, Eduardo Carlos apresentou dados muito interessantes da tese de Doutorado que defendeu recentemente na Universidade da Flórida.

### Tese de Doutorado

O pesquisador José Orlando de Figueiredo participou como membro da banca de defesa de tese de Doutorado de Frauzo Ruiz Sanches, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, em 17 de fevereiro.

O título da tese foi "Momento da iniciação floral e efeito da concentração e época de aplicação do ácido giberélico no florescimento e na produção de lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tanaka)".

### **Curso sobre nova norma de qualidade**

Em 14 e 15 de fevereiro, Gilmar José do Valle, da Valle & Veiga Associados - Consultoria e Treinamento, ministrou a pesquisadores, funcionários e estagiários do Centro APTA Citros curso sobre a NBR ISO/IEC 17025 - Interpretação de Requisitos. Essa norma detalha os requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaios e calibração que pretendem demonstrar que têm implementado um sistema de qualidade, são tecnicamente competentes e são capazes de gerar resultados tecnicamente válidos. Como existe o interesse em acreditar alguns dos ensaios realizados no Centro pela norma NBR ISO/IEC 17025, no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), esse curso marcou o início desse longo processo.

### **Curso sobre a norma e auditores internos**

Em 16 e 17 de fevereiro, foi a vez do curso NBR ISO/IEC 17025: 2001, base ISO 19011 - Formação de Auditores Internos, também ministrado por Gilmar do Valle e que teve por objetivo formar auditores internos para avaliar sistema de qualidade com base na norma. Participaram do curso 16 pesquisadores e funcionários do Centro.

### **Novos pesquisadores no Centro**

Tomaram posse no Centro APTA Citros os novos pesquisadores contratados por concurso público: Alessandra Alves de Souza e Helvécio Della Coletta Filho, na área de biotecnologia; Mariângela Cristofani, Marinês Bastianel, Rodrigo Rocha Latado para melhoramento genético; e Fernando Alves de Azevedo para manejo da cultura.

### **Visita ao Centro**

No período de 9 a 21, Gene Albrigo, pesquisador da Universidade da Flórida, nos Estados Unidos, visitou o Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, onde apresentou o projeto de zoneamento climático e fenológico de citros, que deverá ter participação de Eduardo Fermino Carlos.

### **Inimigo natural do HLB (ex-Greening) é encontrado no País**

Pesquisadores da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq/USP), em Piracicaba (SP), e da empresa Gravena Manejo Ecológico de Pragas, em Jaboticabal (SP), descobriram no Brasil o inimigo natural do psilídeo *Diaphorina citri*, minúsculo inseto transmissor da bactéria do *huanglongbing* (HLB), a principal doença da citricultura mundial e que já está presente em 46 municípios paulistas.

A descoberta da existência no País da vespa *Tamarixia radiata*, feita em novembro do ano passado e confirmada agora, ocorreu por acaso em ambas as cidades. "No Brasil, relatos de 1940 indicam a existência da *D. citri*, mas estudos feitos até 1996 comprovaram que não havia aqui a *T. radiata*", diz o pesquisador Santin Gravena, que encontrou a vespa numa análise de uma planta com o vetor do HLB.

Gravena explica que a *T. radiata* ataca a *D. citri* de duas formas. "Primeiro ela coloca os ovos nas ninfas. Esses ovos se desenvolvem e utilizam as ninfas como alimento, matando-as. A *T. radiata* também pica e se alimenta diretamente das ninfas", diz. Os pesquisadores ainda não explicam o ressurgimento da vespa no Brasil. A maior notícia para o setor, porém, é a existência dela.

Pesquisas agora se concentram na reprodução da *T. radiata* para a avaliação de sua eficácia no combate ao psilídeo e na avaliação de inseticidas seletivos. "Pulverizações feitas por citricultores no combate à cigarrinha transmissora da CVC podem matar também a *T. radiata*. Trabalhamos agora para encontrar o inseticida que consiga combater os vetores de doenças, inclusive a *D. citri*, sem afetar a *T. radiata*."

Apesar de otimista, o gerente-científico do Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), Juliano Ayres, procura reduzir a euforia que a descoberta da *T. radiata* no Brasil possa causar no setor. "Não podemos achar que o HLB vai acabar. Temos de continuar controlando-o com cultivo de mudas em viveiros telados, erradicar plantas sintomáticas, fazer um estudo para identificar onde está a *T. radiata* e até intervir, liberando o inseto em áreas estratégicas para o combate à doença."

Crédito: O Estado de São Paulo, 23/02/2005

## **Pesquisa do Centro**

### **Avanços na pesquisa da leprose**

Apesar de a leprose dos citros ser a virose mais importante da cultura no Estado de São Paulo, devido ao elevado custo do controle químico do ácaro *Brevipalpus phoenicis*, ainda existem muitas dúvidas sobre o vírus, o ácaro, a interação entre eles e entre cada um deles com as plantas de citros. Em função disto, pesquisadores do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC têm trabalhado em diversas linhas de pesquisa visando a entender melhor esse patossistema. Um dos primeiros resultados práticos surgiu há cerca de dois anos, com o desenvolvimento do primeiro método específico para a detecção do vírus da leprose (CiLV) em diferentes órgãos da planta. A partir desses resultados, foi possível desenvolver um teste para a detecção do vírus no ácaro vetor sendo que, ao menos em condições experimentais, já é possível prever a ocorrência da leprose em determinada planta antes mesmo de os sintomas aparecerem.

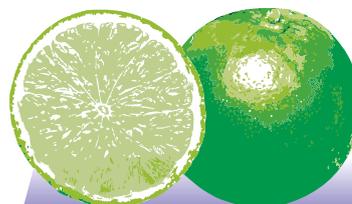
Testes com diferentes populações de ácaros, originárias de diversas regiões brasileiras e hospedeiros distintos, têm mostrado diferenças significativas na transmissão do vírus da leprose. Esses experimentos, que estão sendo repetidos e ampliados para um número maior de populações, sugerem que nem todas as populações de ácaros da leprose transmitem o vírus, o que pode ter repercussão na epidemiologia e manejo da doença no campo. Recentemente demonstramos que uma população de ácaros *B. obovatus*, espécie vetora da leprose na Argentina e no Paraguai e que ocorre em citros no Brasil, não é capaz de transmitir o vírus nas nossas condições. Novos testes estão sendo realizados com outros isolados do CiLV para se confirmar essa observação em nosso país.

Como não poderia deixar de ser, dada a tradição deste Centro no melhoramento genético dos citros, também está no foco das pesquisas sobre leprose a obtenção de genótipos com interesse comercial e resistência à doença. Dessa forma, híbridos de tangor Murcott e laranja Pêra foram produzidos e estão sendo testados para avaliação de resistência à leprose e de outras características agronômicas desejáveis.

Juliana Freitas-Astúa

**VI Dia do Limão Tahiti****31 de Março de 2005  
Programação**

- 8h45 Abertura  
Marcos A. Machado e José Orlando de Figueiredo  
Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC
- Coordenador: Dirceu de Mattos Jr - Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC
- 9h00 Comercialização nos mercados interno e externo  
Margarete Boteon - CEPEA/ESALQ
- 9h45 Custos e rentabilidade nas regiões produtoras  
Maurício Lemos Mendes da Silva - Instituto FNP
- 10h30 Intervalo e visita aos estandes de expositores
- 11h00 ABPEL/Conquista de novos mercados  
Waldyr Sérgio Promícia - ABPEL
- 11h30 Debates  
José Dagoberto De Negri - Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC
- 12h00 Almoço e visita aos estandes de expositores  
Coordenador: Shizuo Dodo - Andef
- 13h30 O poder de cura do limão  
Conceição Trucom - Iniciativa Privada /SP
- 14h15 Consumo de água e irrigação  
José Antonio Frizzone - ESALQ/USP
- 15h00 Intervalo e visita aos estandes de expositores
- 15h30 Considerações sobre o Greening  
Antonio Juliano Ayres - Fundecitrus
- 16h15 Fitorreguladores – resultados recentes  
Frauzo Ruiz Sanches - UNESP Jaboticabal
- 17h00 Considerações finais e encerramento  
José Orlando de Figueiredo - Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC

**VI Dia do Limão Tahiti****Expediente**

Informativo Centro de Citricultura

**Editora e jornalista responsável:**

Cristina Rappa (MTb 15.213)

**Conselho Editorial:**José Dagoberto De Negri  
Marcos Antonio Machado  
Vivian Michelle dos Santos Borges**Colaboração:**Ary A. Salibe  
Hélcio Della Coletta Filho  
José Orlando de Figueiredo  
Juliana Freitas-Astúa  
Maria Luísa P. N. Targon  
Nidelci Festa Franzini  
Rose Mary PioRod. Anhanguera, km 158  
Caixa Postal 04, CEP 13490-970,  
Cordeirópolis, SP  
Fone/fax: (19) 3546-1399  
[www.centrodecitricultura.br](http://www.centrodecitricultura.br)  
[informativo@centrodecitricultura.br](mailto:informativo@centrodecitricultura.br)**Apoio:**

**FundAg**  
FUNDAÇÃO DE APOIO À PESQUISA AGRÍCOLA
**Registro Histórico****Introdução de tangerinas da Ásia**

Conta o Dr. William C. Cooper, em seu livro "In Search of the Golden Apple" (À Procura da Maçã Dourada, em português), que durante as décadas de 1910 e 1920, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) enviou exploradores de plantas à China para coletar sementes e gemas de muitas variedades chinesas de citros e introduzi-las nos Estados Unidos. Entre as frutas cítricas introduzidas com sucesso estavam a Ponkan, Tankan, Calamondin, Suenkat, Swatow, Ponki, Sunki e muitas variedades numeradas de laranja Shanton, que se mostraram ser tangerinas em estudos posteriores.

A introdução do vírus da tristeza no Brasil, na década de 30, deu ensejo a um projeto cooperativo de pesquisa científica entre o USDA e o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), o que resultou na transferência para o Brasil de toda a coleção de citros do U.S. Horticultural Research Center, localizado em Orlando, na Flórida. O material foi trazido em 1948 pelo Dr. Theodore J. Grant para a Fazenda Santa Elisa em Campinas. Eram 265 variedades, incluindo todas as originadas da China, que, mais tarde, vieram enriquecer o BAG do Centro APTA Citros Sylvio Moreira.  
Colaboração: Ary A. Salibe

SECRETARIA DE  
AGRICULTURA E ABASTECIMENTO