

GRENING

Efeito da temperatura e regiões geográficas na transmissão e infecção de plantas cítricas por *Candidatus L. asiaticus* (Las) e *Ca. Liberibacter americanus* (Lam)

Objetivos: (1) Determinar em câmaras de crescimento o efeito do regime diário de 24 a 38°C, comum no verão nas regiões Norte e Noroeste do estado de São Paulo, em plantas em diferentes fases de infecção (2, 4 e 6 meses pós-inoculação), sobre (i) multiplicação da bactéria em novas brotações, (ii) progressão de sintomas, (iii) aquisição da bactéria por *D. citri*, e (iv) transmissão da bactéria por enxertia de ramos. (2) Determinar em telados ao longo do tempo o efeito do clima prevalente nas regiões Noroeste, Norte, Centro e Sul do estado de São Paulo sobre a evolução da infecção de Las (título bacteriano) e progressão de sintomas em plantas cítricas inoculadas artificialmente mantidas em telados nos municípios de Votuporanga, Colina, Ribeirão Preto, Araraquara e Botucatu. (3) Determinar em câmaras de crescimento o efeito das temperaturas de 14, 20, 24, 32 e 38°C na aquisição, multiplicação e inoculação de Las pelo psilídeo *D. citri*. (4) Determinar ao longo do tempo o efeito do clima prevalente no Norte, Centro e Sul do estado de São Paulo sobre a multiplicação da bactéria nas plantas, aquisição e inoculação de Las por *D. citri*, em experimentos conduzidos em casas de vegetação nos municípios de Barretos, Araraquara, Iaras e Itapetininga. (5) Determinar o efeito de déficit hídrico e da temperatura sobre a taxa de multiplicação de Las e taxas de aquisição da bactéria por *D. citri* em experimentos conduzidos em câmaras de crescimento e campo. (6) Determinar em plantas cítricas inoculadas naturalmente e engaioladas, nos municípios de São Carlos (SP) e Frutal e Comendador Gomes (MG,) a progressão dos sintomas de HLB, a taxa de multiplicação de Las, e a taxa de aquisição da bactéria pelo inseto vetor.

Início: 2008

Previsão de conclusão: 2014

Observações sobre andamento (1) já foi finalizado com os dados em análise; os objetivos citados em (2), (3) e (4) foram iniciados, respectivamente, em 2008, 2009 e 2011; os objetivos citados em (5) deverão ser instalados em outubro de 2012; e os objetivos citados em (6) foram iniciados em junho de 2012.

Resultados: Houve redução na população bacteriana nas brotações das plantas mantidas sob o regime diário de 24 a 38°C quando comparado com as plantas mantidas em casa de vegetação (temperaturas inferiores a 32°C) ou sob regimes diários de 12-24 ou 18-30°C; houve redução nas taxas de aquisição da bactéria pelos insetos que se alimentaram por 48 horas em brotações das plantas mantidas sob o regime diário de 24 a 38°C quando

comparado com os insetos que se alimentaram em plantas mantidas em casa de vegetação ou sob regimes diários de 12-24 ou 18-30°C.

Pesquisador e instituição líder: Sílvia A. Lopes - Fundecitrus

Estudos em campo e casa de vegetação para determinar o padrão de colonização de diferentes combinações copa/porta-enxerto inoculadas por *Candidatus L. asiaticus*

Objetivos: (1) Determinar o padrão de colonização por *Ca. L. asiaticus* de diferentes combinações copa/porta-enxerto em diferentes idades e níveis de sintomas, em condições de campo (plantas adultas infectadas naturalmente), com amostragens feitas no ramo sintomático, no tronco (acima e abaixo da linha de enxertia), e na raiz.

(2) Acompanhar em casa de vegetação ao longo do tempo o padrão de colonização por *Ca. L. asiaticus* dos principais porta enxertos inoculados por enxertia de ramos, com amostragens feitas do ponto de inoculação até a raiz.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: O levantamento com o objetivo listado em (1) estão com as amostras sendo analisadas por PCR. O experimento com os objetivos listados em (2) foi concluído.

Resultados: Houve rápida colonização e movimentação da bactéria a partir do ponto de inoculação sem diferenças entre os materiais inoculados (limão Cravo, tangerina Sunki e citrumelo Swingle). Quarenta e cinco dias após a inoculação, antes mesmo de as plantas manifestarem sintomas foliares, a bactéria já se encontrava nas raízes em altas concentrações, explicando porque a poda não é efetiva contra o HLB.

Pesquisador e instituição líder: Sílvio A. Lopes - Fundecitrus

Estudos sobre a fenologia de diferentes combinações copa/porta-enxerto

Objetivos: (i) Acompanhar ao longo do tempo, por vários anos, desde o momento do plantio, a época, início e progressão na emissão de brotações, e a duração da presença de tecidos tenros (apropriados à alimentação e multiplicação de psilídeos) em um lote de diferentes combinações copa/porta-enxerto, instalado em área com (Matão) e sem irrigação (Itapetininga, Reginópolis e Onda Verde), de baixa incidência e com excelente manejo local e regional de HLB.

(ii) Acompanhar ao longo do tempo, desde o momento do plantio, a progressão da incidência de plantas com sintomas de HLB, no mesmo lote de copa/porta-enxerto citado acima.

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2016

Observações sobre andamento: Experimento em andamento com dados acumulados de apenas 4 avaliações quinzenais.

Resultados: Os dados até agora acumulados são insuficientes para análise.

Pesquisador e instituição líder: Sílvia A. Lopes - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Estudo da evolução dos sintomas de HLB e da infecção de *Ca. L. asiaticus* em limões verdadeiros

Objetivos: (i) Caracterizar nas diferentes estações do ano, por dois anos, os tipos de sintomas expressos por plantas de diferentes variedades de limão em plantios no município de Botucatu; (ii) Comparar os sintomas em limão com os de laranjas doces na mesma localidade; (iii) Verificar por meio de inoculações cruzadas se as bactérias do HLB em limão e laranjas são similares em termos de patogenicidade, virulência, e capacidade de multiplicação nos tecidos dos hospedeiros.

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2014

Observações sobre andamento: Experimento em andamento, com início em setembro de 2012.

Resultados: Ainda não foi feita qualquer avaliação.

Pesquisador e instituição líder: Sílvio A. Lopes - Fundecitrus

Transmissão de Ca. L. asiaticus por raiz

Objetivos: (i) Determinar em condições de casa de vegetação se Ca. L. asiaticus pode ser transmitida naturalmente por meio de encostia de raiz

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: As plantas experimentais estão sendo rotineiramente observadas. Serão avaliadas depois de 18 meses por PCR.

Resultados: Até o momento, 12 meses após o plantio, não se detectou qualquer sintoma sugestivo de HLB nas plantas sadias plantadas a uma distância de aproximadamente 30 cm da planta doente.

Pesquisador e Instituição Líder: Sílvio A. Lopes - Fundecitrus

Genômica de Candidatus Liberibacter spp.

- Objetivos:** (i) Sequenciar o genoma de Candidatus Liberibacter americanus (Lam);
- (ii) Comparar o genoma de Lam com Ca. L. asiaticus (Las) e Ca. L. solanacearum, em relação à expressão gênica;
- (iii) Estudar os mecanismos de patogenicidade de Ca. L. asiaticus através de complementação genética e expressão de genes de liberibacter em plantas transgênicas;
- (iv) Determinar a função de genes de Candidatus Liberibacter asiaticus e Candidatus Liberibacter americanus com potencial envolvimento na sintomatologia do HLB.

Início: 2006

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) Concluído: artigo sobre o genoma de Lam está sendo redigido; (ii) Em execução: a comparação dos genomas foi feita; (iii) Em execução: a análise bioinformática para a geração de uma planta transgênica de citros com gene de profago de liberibacter foi feita; a construção do vetor de transformação será iniciada no segundo semestre de 2012; (iv) Iniciada a seleção de genes que sejam comuns a todas as liberibacters.

Resultados: (i) O genoma de Ca. Liberibacter americanus foi completamente sequenciado e tem 1.195.201pb e 1002 genes codificantes de proteínas. Foi feita uma comparação extensiva dos genes de Lam, Las e Lso para tentar explicar as diferenças entre estas bactérias; (ii) observamos maiores similaridades entre Lam e Lso do que Lam e Las, porém esta é menor do que Las e Lso. Esta análise tanto da organização do genoma como na ordem do genoma; (iii) Foi identificado um gene com potencial envolvimento na competição direta entre Lam e Las. Como um projeto derivado do sequenciamento, vamos introduzir este gene em citros para estudar sua capacidade de matar a liberibacter. A análise bioinformática para a expressão do gene de profago em citros revelou a necessidade de produzir dois vetores para transformação em citros, pela preferência no uso de aminoácidos entre bactérias e plantas; (iv) a escolha dos genes está em andamento pela comparação do genoma de Las, Lso e Lam. Lam possui genes transportadores de aminoácidos e de minerais (ferro) que não estão presentes em Las, podendo explicar a maior agressividade de Lam do que Las na planta.

Pesquisador e Instituição Líder: Nelson A. Wulff - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Dean W. Gabriel (UFL - EUA) e Joseph M. Bové (INRA - França)

Transmissão de bactérias associadas ao HLB

Objetivos: (i) Obter plantas de vinca infectadas com as liberibacters e fitoplasma do HLB para multiplicação e banco de isolados;

(ii) Obter plantas de citrus inoculadas por meio da enxertia de borbulhas e avaliar a evolução da infecção em situações de infecção simples (liberibacter e fitoplasma) e co-infecção em casa de vegetação, através da técnica de PCR convencional e PCR em tempo real quantitativo. As plantas também servirão de fonte das bactérias;

(iii) Realizar testes de transmissão do fitoplasma do HLB com a cigarrinha *Scaphytopius marginelineatus*, em estudos de transmissão para plantas de citros;

(iv) Determinar se *D. citri* pode transmitir o fitoplasma do HLB de citrus para citrus.

Início: 2006

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) Encerrado mas não concluído pela dificuldade em obter vinca de boa qualidade e mantê-la sem podridão induzida por fungos; (ii) Concluído; (iii) Em execução: plantas aguardando período de latência para análise por PCR; (iv) Em execução: plantas sendo avaliadas a cada seis meses por sintomatologia e PCR.

Resultados: (i) Foram obtidas plantas de vinca infectadas com Lam, mas a propagação não foi eficiente; (ii) Foi obtida a transmissão por enxertia do fitoplasma do HLB de citros para citros; Las é mais facilmente transmitido por enxertia do que Lam e do que o fitoplasma do HLB; (iii) A cigarrinha *Scaphytopius marginelineatus* adquire o fitoplasma do HLB de plantas cítricas e de plantas de crotalaria com sintomas de vassoura de bruxa, sendo mais eficiente em crotalaria do que citros. Foi feita a inoculação do fitoplasma com cigarrinhas em citros, após a aquisição em crotalaria e estamos aguardando o desenvolvimento de sintomas (18 meses); (iv) Amostras de *D. citri* foram positivas para Lam e Las e negativas para o fitoplasma do HLB, assim como a transmissão do Lam e Las foi obtida com o psíldeo;

Pesquisador e Instituição Líder: Diva C. Teixeira - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Nelson A. Wulff (Fundecitrus), Rodrigo Marques (ESALQ/USP) e João R. S. Lopes (ESALQ/USP)

Diagnose de bactérias associadas ao HLB

Objetivos: (i) Avaliação de procedimentos, sensibilidade, especificidade, diminuição de custos e aumento da capacidade de processamento;

(ii) Aprimorar os protocolos de detecção e quantificação de Liberibacter por meio do PCR em tempo real;

(iii) Desenvolver protocolos compatíveis para diagnose e quantificação (TaqMan) de *Ca. L. asiaticus*, *Ca. L. americanus* e fitoplasma associado ao HLB em condição de reações simplex e multiplex;

(iv) Desenvolver a diagnose específica ao fitoplasma do grupo IX associado ao HLB para a detecção em insetos e plantas hospedeiras.

Início: 2004

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) Não iniciado; (ii) Concluído: protocolos de quantificação de liberibacter; (iii) Em execução: sondas TaqMan (alvo rpl) para Lam, Las e fitoplasma foram desenvolvidas; As sondas foram testadas e validadas em amostras de plantas (citros e crotalária) e precisam ser testadas quanto a especificidade e quantificação em insetos; (iv) Concluído: Desenvolvemos testes específicos de detecção com do fitoplasma do grupo IX com PCR convencional e qPCR.

Resultados: As novas sondas e primers desenvolvidos para o teste multiplex de Lam, Las e Fitoplasma permitem a diagnose simultânea das três bactérias e os dados estão sendo compilados em um manuscrito para publicação. A diagnose em triplex aumenta a capacidade de análise, assim como a sua segurança, pois o teste de PCR em tempo real tem vantagens sobre a PCR convencional a um custo equivalente; Até dezembro estaremos validando o uso em insetos e poderemos usá-lo em todos os experimentos;

Pesquisador e Instituição Líder: Nelson A. Wulff - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Diva C. Teixeira (Fundecitrus)

Caracterização molecular de bactérias associadas ao HLB

Objetivos: (i) Verificar a ocorrência de variantes em liberibacter que infectam citros e murta;

(ii) Caracterizar genes do fitoplasma do HLB para a diagnose específica.

Início: 2007

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: (i) Concluído e publicado; (ii) Em execução: dois genes não conhecidos do fitoplasma do HLB foram obtidos. Falta o seqüenciamento dos genes de um número mínimo de isolados para comparação da seqüência do DNA.

Resultados: (i) As linhagens de liberibacter testadas de diferentes regiões, citros ou murta, foram idênticas na sequencia de DNA analisada. (ii) Foi obtida uma seqüência gênica com 1200 pares de base (genes rpsC_rplV) para a caracterização e emprego na detecção específica de fitoplasma do HLB; Outra seqüência específica ao fitoplasma do HLB foi obtida mas não está completamente caracterizada.

Pesquisador e Instituição Líder: Diva C. Teixeira - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Nelson A. Wulff (Fundecitrus); Luis Fernando Bianco (Mestrado Fundecitrus)

Epidemiologia molecular espaço-temporal do HLB (Asiático e Americano) em condições de telado e com duas diferentes fontes de inóculo

Objetivos: (i) Comparar o progresso temporal e espacial de HLB causada por *Ca. L. asiaticus* com o progresso temporal e espacial de HLB causada por *Ca. L. americanus*, ambas transmitidas naturalmente por *Diaphorina citri* em condições de telado;

(ii) Comparar o progresso temporal e espacial de HLB, incitada por *Ca. L. asiaticus* e *Ca. L. americanus*, tendo como fonte primária de inóculo, num caso, citros, e no outro, murta (*Murraya exotica*);

(iii) Comparar a eficiência de aquisição das duas espécies de *Ca. Liberibacter* pelo psílídeo *D. citri*, em citros e murta, avaliando a presença de cada espécie bacteriana na população de vetores;

(iv) Comparar a flutuação da população de *D. citri* em função do tempo na presença exclusiva de plantas de citros e na presença de plantas de citros e de murta.

Início: 2008

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Primeiro experimento iniciado em abr/08 e segundo experimento (Repetição) iniciado em jan/11. Avaliações em andamento e análise parcial dos resultados.

Resultados: Quando se utilizou plantas de citros como fonte de inóculo, apenas a bactéria *Ca. L. asiaticus* foi detectada nos psílídeos (30,4% de infectividade dos coletados nas plantas fontes e 8,4% dos coletados nas plantas testes), mostrando que o *Ca. L. asiaticus* é mais facilmente adquirido que o *Ca. L. americanus*. Neste caso, a explicação para isso pode ser a maior severidade dos sintomas e menor fluxo vegetativo nas plantas com *Ca. L. americanus* e a menor concentração de *Ca. L. americanus* nas folhas (Ct=30 para *Ca. L. americanus* vs Ct=23 para *Ca. L. asiaticus*). A transmissão de *Ca. L. asiaticus* também foi maior que a de *Ca. L. americanus* (14,4% das plantas testes com *Ca. L. asiaticus* Ct=24,7 vs 1,9% das plantas testes com *Ca. L. americanus* Ct=33,7). Enquanto a primeira planta sintomática com *Ca. L. asiaticus* apareceu 9 meses meses após a primeira liberação de psílídeos, a primeira planta sintomática com *Ca. L. americanus* apareceu após 23 meses). Quando se comparou a aquisição de *Ca. L. americanus* em citros e murta, observou-se que a aquisição ocorreu melhor nas plantas de murta (46% vs 6,3% e 9,4% vs 4,7% de psílídeos infectivos coletados nas plantas de murta e citros, fontes e testes, respectivamente). Neste caso a maior aquisição em murta pode estar

relacionada a ausência de sintomas severos e à presença de mais fluxos vegetativos nas plantas de murta. Houve transmissão de *Ca. L. americanus* de murta para citros, sendo 8,2% das plantas testes infectadas (Ct=29,4) sendo a primeira planta sintomática observada 9 meses após a primeira liberação de psílídeos. Plantas de murta são boas hospedeiras tanto de *D. citri* como de *Ca. L. americanus*. Ainda não apareceram plantas testes com *Ca. L. americanus* quando a planta fonte foi citros. Todas as plantas deste experimento se encontram em observação. Observou-se, que após a liberação os psílídeos, estes permanecem por vários dias na planta fonte e ao redor dela, antes de se espalhar. Também se percebe que os insetos se concentram e se criam com mais abundância nos locais mais iluminados.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Nelson A. Wulff (Fundecitrus) e Maria C. G. Gasparoto (ESALQ/USP)

Evolução do HLB causado pelas espécies *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Ca. L. americanus* em plantas de citros de diferentes variedades e idades

Objetivos: (i) Avaliar o período de incubação do HLB após a inoculação de *Ca. L. asiaticus* ou *Ca. L. americanus* em laranjeiras de diferentes variedades e idades;

(ii) Quantificar e comparar a evolução dos sintomas de HLB asiático e americano a partir de um único ponto de inoculação dos respectivos patógenos por meio de *D. citri* em plantas protegidas de diferentes variedades comerciais de laranja em diferentes idades;

(iii) Quantificar e comparar os danos causados pelo HLB em função da espécie do patógeno, da variedade do hospedeiro e de sua idade;

(iv) Desenvolver modelos para a simulação dos danos causados pelo HLB em função da espécie do patógeno, da variedade do hospedeiro e de sua idade.

Início: 2008

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: Plantas de campo teladas em nov/08 (6 telados) e jun/09 (3 telados). Plantas inoculadas em jul/09. Avaliações em andamento. Como não apareceram sintomas resultantes das inoculações até o momento. Nova inoculações estão previstas.

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Validação e desenvolvimento do cultivo protegido em pomares em formação para a prevenção do HLB

Objetivos: (i) Avaliar o comportamento das plantas de citros em diferentes condições ou tipos de cultivo protegido, observando o desenvolvimento das plantas sob ambiente protegido e as possíveis dificuldades da implementação das diferentes opções de cultivo protegido no manejo diário do pomar de citros (dificuldade para operações de adubação, pulverização, controle do mato; resistência e custo de materiais e estruturas...)

(ii) Avaliar o comportamento de *D. citri* e outras pragas em pomares novos sob a influência de filme difusor de luz e mulching branco;

(iii) Avaliar o efeito de barreiras plásticas atrativas com aplicação de óleo vegetal e inseticidas na população migrante de *D. citri*.

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimentos do objetivo (i) com protótipos de estruturas e telas foram iniciados em jul/09 na EECB e encerrados em jun/10 pelos maus resultados obtidos. Em dez/10 foi iniciado o experimento do objetivo (ii) com uso de filme difusor e mulching branco, que está sendo avaliado. Também foi iniciado em jan/11 um experimento do objetivo (iii) com o uso de barreira plástica verde-amarelada + óleo + inseticida que foi encerrado, e em jul/12 foi a área foi replantada e instalada uma barreira amarela + óleo + inseticida cujas avaliações estão em andamento.

Resultados: Quanto ao objetivo (i), os resultados apontaram uma baixa viabilidade de uso das coberturas baseadas em “tecido não tecido” nas diferentes composições e modalidades testadas pela baixa resistência do material às intempéries (chuva, vento e sol) e ao atrito ocasionado pelo contato do material com as plantas e estruturas para tutoramento. Para este material, a maioria das “sacolas” ou “túneis” rasgou ou foi furada. Quanto às estruturas tipo “túnel” e “caixote”, cobertas por tela anti-afídica, estas apresentaram grande resistência e durabilidade. Problemas estruturais só ocorreram no “túnel” estruturado com arcos de PVC porque houve o desencaixe em alguns arcos dos dois tubos que formavam o arco (pode ser corrigido colando ou invés de somente encaixar) e também a estrutura ficou muito móvel sofrendo alguma deformação. Embora, tenha-se coberto o solo com “mulching” de plástico preto, houve crescimento de plantas daninhas nas laterais das estruturas na região de contato entre a tela enterrada e o “mulching” e também próximo ao pé da planta cítrica onde foi necessário

cortar o plástico para sua instalação. Outro problema que surgiu com as estruturas tipo “túnel” e “caixote” foi a necessidade de estar sempre entrando na estrutura para realizar pulverizações contra ácaros e outras pragas que já estavam no solo e acabam infestando e atacando as plantas, pois a presença das telas e a distância entre a planta e a tela não permitem que a pulverização seja feita da parte externa da estrutura. Além disso, estas estruturas ainda apresentam um elevado custo por m². Quanto às “sacolas” de tela, ela apresentou alta resistência, porém é pesada e necessita que o tutor seja ancorado por arames para não entortar, o que aumenta a operação e o custo na sua instalação. Além disso, não há como inspecionar a planta protegida e o mato acaba crescendo ao redor da muda. Numa primeira avaliação, o crescimento e desenvolvimento das plantas em ambiente protegido foram maiores, as plantas ficaram maiores, com a copa mais aberta e com folhas maiores. Em resumo, ainda não se tem um protótipo de estrutura e cobertura para o cultivo protegido de citros que seja viável, prático e eficiente. Quanto ao objetivo (ii) as avaliações com o tratamento com o filme difusor “anti-vírus” foram feitas de janeiro até julho de 2011. Após a instalação do experimento em nov/10, ventos fortes acima de 50 km/h deformaram parte da estrutura e rasgaram o filme. A estrutura foi reformada, o filme foi trocado e, novamente, em jul/11, novos ventos fortes destruíram de vez a estrutura metálica de sustentação do filme e a partir de então, até dez/11, as avaliações realizadas consideraram apenas o efeito do tratamento de mulching. Não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos tanto para o número de psilídeos capturados nas armadilhas adesivas amarelas como para os psilídeos observados nos ramos das plantas. As plantas que tiveram o solo coberto com mulching branco apresentaram um maior crescimento com relação às plantas sem mulching (maior altura, largura, diâmetro do tronco e maior número de fluxos vegetativos). quanto ao objetivo (iii), após 16 avaliações, a população de adultos de psilídeos capturados nas armadilhas adesivas amarelas na área experimental foi baixa e não houve diferença significativa, tanto na área com barreira verde-amarela (1,0 psilídeo/avaliação) como na área sem barreira (0,7 psilídeos/avaliação). Tanto, na área com barreira como na área sem barreira, as plantas emitiram surtos de brotação na mesma época e com igual número de brotos em três ramos por planta (5,2 brotos na área com barreira e 6,5 brotos na área sem barreira) e a duração da presença de ramos com folhas tenras também foi a mesma (70 dias).

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Estudo de épocas favoráveis para a infecção natural de laranjeiras pelas bactérias associadas ao HLB em condições de campo e do período para a expressão dos sintomas da doença em função da época de infecção

Objetivos: (i) Estabelecer as épocas do ano em que ocorrem maiores taxas de infecção natural, por meio do psilídeo vetor *D. citri*, das plantas cítricas pelas bactérias associadas ao HLB;

(ii) Verificar o período de incubação da doença, isto é, o tempo necessário para expressão dos primeiros sintomas após a infecção/inoculação pelo vetor, em função da época em que ocorreu a infecção.

(iii) Determinar o período crítico para o controle do vetor e/ou eliminação de plantas com sintomas em função das épocas de maior probabilidade de infecção no campo.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2014

Observações sobre andamento: Experimento 1 iniciado em dez/10 e experimento 2 iniciado em mai/12, ambos em avaliação.

Resultados: 10 lotes de mudas já foram expostas no experimento 1 e 2 lotes no experimento 2. Apenas 1 planta foi positiva até o momento para a presença de *Ca. L. asiaticus*, sendo esta planta do lote 5 exposto entre agosto e outubro de 2011 e cujos sintomas foram observados em mai/12 (10-12 meses após a infecção). Nos demais lotes e plantas ainda não foram observados sintomas e plantas PCR+. No experimento 1, adultos de psilídeos foram encontrados nas mudas apenas no lote 5 e nas armadilhas ao redor das mudas nos lotes 4, 5 e 6.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Célia C. Malvas (UNIARA)

Relação entre plantas infectadas por HLB sintomáticas e assintomáticas em diferentes épocas do ano

Objetivos: (i) Determinar a relação entre plantas infectadas por HLB sintomáticas e assintomáticas em diferentes épocas do ano

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento iniciado em jul/10. Avaliações em campo e análises de laboratório em andamento.

Resultados: Até o momento, apenas as plantas sintomáticas deram resultados positivos por PCR convencional para a presença de *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Plantas assintomáticas com bactéria foram detectadas no período de primavera.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Período de latência, incubação e evolução dos sintomas de HLB em diferentes variedades de laranja após infecções simples e múltiplas

Objetivos: (i) Avaliar o período de latência (tempo entre a inoculação e a aquisição da bactéria pelo vetor em diferentes partes da planta), incubação (tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas em diferentes partes da planta) e evolução dos sintomas de HLB nas variedades Hamlin, Pera e Valência após infecções simples (em um único ramo) e múltiplas (em mais ramos) com diferentes cargas de psilídeos.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: Três experimentos em telado foram iniciados em jun/11: (i) Infecções numa só vez em ramos diferentes com mesma quantidade total de psilídeos; (ii) Infecções numa só vez em ramos diferentes com com diferentes quantidades totais de psilídeos; (iii) Infecções sequenciais em ramos diferentes.

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Determinação dos períodos de incubação e latência de HLB asiático e americano após transmissão por *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Determinar os períodos de incubação e de latência de plantas cítricas inoculadas com *Ca. L. americanus* ou *Ca. L. asiaticus* por meio de *D. citri*;

(ii) Determinar quando uma planta infectada com *Ca. L. americanus* ou *Ca. L. asiaticus* por meio de *D. citri* passa a ser fonte de inóculo para novas infecções por meio de *D. citri*;

(iii) Determinar se plantas cítricas infectadas por *Ca. L. americanus* ou *Ca. L. asiaticus*, porém ainda assintomáticas, são capazes de servir como fontes de inóculo para novas infecções por meio de *D. citri*;

(iv) Determinar se há diferenças nas taxas de transmissão de *Ca. L. americanus* e *Ca. L. asiaticus* por *D. citri* a partir de plantas sintomáticas e assintomáticas em diferentes intervalos de tempo após a inoculação dessas plantas;

(v) Determinar qual o período mínimo de tempo e a eficiência para a transmissão por *D. citri* de *Ca. L. americanus* e *Ca. L. asiaticus* a partir de plantas com HLB assintomáticas e sintomáticas.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimento instalado em estufa telada no Fundecitrus e experimento em condução.

Resultados: Plantas fontes de HLB americano e asiático serviram como fonte de inóculo para adultos e ninfas de *D. citri* a partir de 4 meses da infecção.

Pesquisador e Instituição Líder: José Belasque Jr. - Fundecitrus

Identificação dos voláteis presentes nas plantas de goiaba e citros

Objetivos: (i) Identificar os compostos majoritários presentes nos voláteis de goiabeiras;
(ii) Identificar os compostos presentes em plantas cítricas com HLB;
(iii) Promover melhorias nos protocolos de extração e identificação de voláteis de plantas.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento (i) finalizado, (ii) e (iii) em execução com confirmação dos dados, (iv) em fase inicial com ajustes metodológicos.

Resultados: (i) Identificação de três compostos majoritários de maior interesse nos voláteis das goiabeiras (ii) Identificação dos principais compostos presentes nos voláteis de citros com HLB; (iii) Determinação dos perfis de voláteis mais comuns presentes em citros com HLB em relação a citros não infectado. (iv) Análise de extratos de conteúdo foliar das principais plantas que desencadeiam respostas em *D.citri*.

Pesquisador e Instituição Líder: Paulo H. G. Zarbin - UFPR

Pesquisadores colaboradores: Newton C. Noronha Jr. (Fundecitrus)

Transformação genética de soja com genes precursores de compostos repelentes a insetos

Objetivos: (i) Desenvolver estudos visando a obtenção de linhagens de soja geneticamente modificadas, expressando genes de proteínas de vias metabólicas de síntese de compostos voláteis, que funcionam como repelentes para insetos que são vetores de bactérias *Candidatus Liberibacter spp.*, causadoras do Huanglongbing (HLB) dos Citros.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Em execução

Resultados: Os genes de interesse foram transferidos do vetor de transformação de citros para um vetor de transformação de soja

Pesquisador e Instituição Líder: Francisco Aragão - Embrapa / Cenargen

Pesquisadores colaboradores: Andreia Henrique, Nelson A. Wulff, Viviani V. Marques (Fundecitrus)

Avaliação do impacto econômico e sócio-ambiental do cancro cítrico e do Huanglongbing

Objetivos: (i) Avaliar o impacto econômico e sócio-ambiental do cancro cítrico e do huanglongbing empregando análise de benefício/custo para as medidas de manejo

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Estão sendo finalizadas as análises de benefício/custo para diversos cenários de controle do cancro cítrico

Resultados: Os resultados até o momento indicam que a prevenção apresenta a melhor relação benefício/custo.

Pesquisador e Instituição Líder: Silvia H. G. Miranda - CEPEA/USP

Pesquisadores colaboradores: Renato B. Bassanezi e José Belasque Jr. (Fundecitrus)

Characterization of CTV populations in Brazil for production of infectious cDNA clones

Objetivos: (i) Caracterizar por meio de seqüenciamento os componentes de isolados do vírus da tristeza (CTV);

(ii) Realizar ensaios biológicos que permitam não só a separação dos componentes dos isolados CTV, mas também a determinação da eficiência de proteção cruzada por estes componentes individualizados ou em combinação;

(iii) Utilizar a seqüência do componente protetivo para o desenvolvimento de um vetor CTV para utilização no controle do Huanglongbing (HLB) no Brasil.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2014

Observações sobre andamento: Em execução

Resultados: O isolado de CTV Pera IAC está sendo caracterizado quanto ao perfil de SSCP para os genes p20, p23 e CP; Matrizes com isolados de CTV estão sendo mantidos em estufa. A construção de mini-replicons com isolados da Florida está sendo feita pela pesquisadora Diva para absorver a tecnologia;

Pesquisador e Instituição Líder: Diva C. Teixeira - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Willian O. Dawson (CREC/UFL - EUA), Nelson A. Wulff (Fundecitrus) e Joseph M. Bové (INRA)

Tentativas de cura de plantas com HLB por meio de tratamento térmico

Objetivos: (i) Determinar se altas temperaturas permite a eliminação da bactéria do HLB de plantas afetadas pela doença

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Concluído

Resultados: O estudo foi conduzido em câmaras de crescimento, com temperaturas de 38 a 44°C (ar seco), e campo, com temperaturas de 55 a 65°C (vapor). Envolveu plantas inoculadas artificialmente mantidas em vasos (2 anos de idade) e plantas adultas (4 a 8 anos) no campo. Para obtenção das temperaturas de 55 a 65°C foi empregado uma aparelho gerador de vapor (sauna). Os tempos de tratamento variaram de 5 a 60 minutos. As plantas não suportaram temperaturas de 55°C por mais que 30 minutos ou 60°C por mais que 5 minutos. Na grande maioria das plantas os sintomas reapareceram de 2 a 4 meses após os tratamentos. A não efetividade do tratamento térmico pode ser devida à presença da bactéria nas raízes das plantas, conforme já mostrado em outros em outros experimentos, as quais não passaram pelos tratamento térmico testado, voltando a colonizar rapidamente a parte aérea tão logo o tratamento cessou.

Pesquisador e Instituição Líder: Sílvia A. Lopes - Fundecitrus

Manejo do HLB com o emprego do indutor de resistência Bion

Objetivos: (i) Testar Bion em aplicação foliar e “drench” com ou sem actara na incidência e no progresso da incidência de plantas com HLB;

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: O plantio foi feito em Setembro de 2011 e na primavera/verão de 2011/2012 foram feitas 4 aplicações de Bion e 2 aplicações de Actara; Na estação chuvosa de 2012/2013 serão efetuadas novamente 4 aplicações de Bion e 2 aplicações de Actara.

Resultados: Ainda não foi relatada a ocorrência de HLB no experimento;

Pesquisador e Instituição Líder: Nelson A. Wulff - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda, Renato B. Bassanezi (Fundecitrus); Adriano Agnelli (ex-aluno de Mestrado Fundecitrus)

Manejo do HLB com o emprego do indutor de resistência Bion

Objetivos: (i) Testar Bion em aplicação foliar e “drench” com ou sem actara na incidência e no progresso da incidência de plantas com HLB;

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: O plantio foi feito em Setembro de 2011 e na primavera/verão de 2011/2012 foram feitas 4 aplicações de Bion e 2 aplicações de Actara; Na estação chuvosa de 2012/2013 serão efetuadas novamente 4 aplicações de Bion e 2 aplicações de Actara.

Resultados: Ainda não foi relatada a ocorrência de HLB no experimento

Pesquisador e Instituição Líder: Nelson A. Wulff - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda, Renato B. Bassanezi (Fundecitrus)

Evolução do HLB em pomares adultos tratados com micronutrientes e indutores de resistência

Objetivos: (i) Estudar e comparar a evolução da incidência e severidade da doença em pomares adultos tratados com diferentes programas nutricionais e indutores de resistência na ausência de erradicação e com ou sem controle do vetor. (ii) Comparar a produção em plantas adultas sintomáticas com plantas adultas assintomáticas em pomares adultos tratados com programas nutricionais e elicitores de resistência na ausência de erradicação e com ou sem controle do vetor. (iii) Avaliar o efeito da não erradicação de plantas adultas doentes com e sem controle do vetor e dos programas nutricionais e elicitores no desenvolvimento e sanidade das replantas. (iv) Analisar a viabilidade econômica dos programas utilizados.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: Experimento 1 iniciado em dez/10 em pomar de Valencia/Cravo plantado com 8 anos de idade com 8 tratamentos (NPK; NPK+micro1; NPK+micro1+KNO₃; NPK+micro2; NPK+micro1+fosfito; NPK+micro1+salicilato; NPK+micro2+KNO₃+fosfito+salicilato; NPK+Coquetel). Experimento 2 iniciado em out/12 em pomar de Hamlin com 10 anos de idade com 5 tratamentos (NPK; NPK+micro1; NPK+micro1+nitrato de cálcio; NPK+micro1+KNO₃+fosfito+salicilato; padrão fazenda).

Resultados: No experimento 1, após 1 ano não foi observada diferença significativa entre os diversos tratamentos para incidência e severidade de HLB e para todas variáveis de tipo de sintomas, produção (plantas marcadas e parcela total) e qualidade de fruta. De dez/10 até jun/12, a incidência média nas parcelas com controle do psilídeo aumentou de 2% para 8% e nas parcelas sem controle de 2% para 18%. A severidade dos sintomas foram crescentes de janeiro a agosto e decresceram de setembro a dezembro. De dez/10 a dez/11, a severidade média nas plantas marcadas aumentou de 3% para 12%, enquanto que de jun/11 a jun/12, aumentou de 14% para 25%. A ausência de controle do vetor não interferiu no aumento da severidade dos sintomas nas plantas marcadas. A produção das plantas doentes marcadas caiu 15% em relação às plantas sadias no primeiro ano. Frutos de ramos com sintomas tiveram menor rendimento de suco, tamanho reduzido, maior acidez, menor ratio, menor conteúdo de sólidos solúveis totais por tonelada e maior quantidade de óleo em relação aos frutos de plantas sadias. Frutos de ramos assintomáticos de plantas doentes foram semelhantes aos frutos de

pantas sadias, exceto para rendimento de suco e sólidos solúveis totais, que foram significativamente reduzidos.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Dirceu Mattos Jr. (APTA Citros), José Antonio Quaggio (IAC)

Evolução do HLB em plantas de citros de diferentes variedades e idades no campo

Objetivos: (i) Quantificar e comparar a evolução dos sintomas de HLB em plantas no campo de diferentes variedades comerciais de laranja em diferentes idades e porta-enxertos;

(ii) Quantificar e comparar os danos causados pelo HLB em função da variedade/porta-enxerto e de sua idade.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: Em dez/10, foram selecionados 4 talhões de Valencia/Cravo 2002 (Exp.1). Em mai/12 foram selecionados em outra propriedade um talhão de Hamlin/Cravo 2004, Valencia/Cravo 2004, Natal/Cravo 2004 e Hamlin/Cravo 2008 (Exp.2). Pretende-se selecionar mais talhões de diferentes idades e variedades/porta-enxertos para as avaliações.

Resultados: No Exp. 1, após um ano de acompanhamento a severidade da doença passou de 14 para 25% e a produção foi 15% menor que nas plantas sadias.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Distribuição espacial de *Diaphorina citri* em talhões de citros, sazonalidade da população de psílídeo e de plantas com sintomas de HLB e a relação da densidade populacional de psílídeos com as infecções de HLB em anos posteriores

Objetivos: (i) Avaliar a distribuição espacial de psílídeos em talhões de citros para determinar o gradiente de concentração de psílídeos a partir da borda do talhão e avaliar a concentração de psílídeos de acordo com os pontos cardeais;

(ii) Verificar se os seguintes fatores influenciam no seu gradiente de concentração: Tipo de cultura vizinha do talhão (citros, pasto, eucalipto, cana); Localização do talhão (centro e borda da fazenda); Idade e variedade do talhão;

(iii) Avaliar a sazonalidade da população de psílídeos e de plantas com sintomas de HLB;

(iv) Avaliar a relação entre a população de psílídeos e a incidência de HLB no ano seguinte.

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Iniciadas as análises com base em informações disponíveis de 11 fazendas de 2009 a 2011. Trabalho interrompido temporariamente por mudança de emprego do mestrando.

Resultados: Resultados preliminares indicaram para os três anos de estudo que 24% dos psílídeos encontrados estão nos primeiros 25m do talhão, 51% até 50m, 69% até 75m, 82% até 100m, 95% até 150m.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Pedro Baccarin (Mestrado Fundecitrus)

Transformação genética de Murta com genes letais a Diaphorina citri

Objetivos: (i) desenvolver um protocolo de regeneração de murta; (ii) desenvolver um protocolo de transformação genética de murta; (iii) transformar murta com genes letais a Diaphorina citri;

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2014

Observações sobre andamento: em execução

Resultados: (i) testes para regeneração de murta indicaram quais tecidos tem potencial de regeneração; (ii) não iniciador por ser dependente de (i); (iii) genes que inibam o crescimento/desenvolvimento de D. citri estão sendo buscados

Pesquisador e Instituição Líder: Leandro Peña – IVIA

Pesquisadores colaboradores: Viviani Marques, Andreia Henrique, Nelson A. Wulff , Marcelo Miranda (Fundecitrus), Fernando Consoli (ESALQ)

Avaliação de alvos para aplicação da técnica de RNAi

Objetivos: (i) Desenvolver sistema de alimentação para aquisição de RNAi por *D. citri*
(ii) Avaliar a ação de RNAi (alvos) para o controle de *D. citri*

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimento (i) finalizado; (ii) em execução, mortalidade de *D. citri* sendo avaliada;

Resultados: (i) Foi desenvolvido um sistema capaz de avaliar a ação dos RNAi contra *D. citri*. Adicionalmente, verificou-se que plantas de *Arabidopsis thaliana* podem ser usadas como modelo, pois *D. citri* consegue se alimentar no tecido vascular (principalmente xilema), apresentando uma sobrevivência média de 80% durante 4 dias.
(ii) Foram avaliadas 3 moléculas RNAi.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Fernando L. Cônsoli (ESALQ/USP)

Huanglongbing: Análise de sobrevivência de laranjeiras doces, tangerineiras e limeira ácida em diferentes porta-enxertos e sistemas de plantio associada à seleção para resistência

Objetivos: (i) Avaliar a reação de laranjeira Valência em 16 porta-enxertos ao HLB sob inoculação por enxertia em condições controladas; (ii) Avaliar a sobrevivência ao HLB de laranjeira Valência enxertada em porta-enxertos indutores de menor porte; (iii) Avaliar o desempenho horticultural de laranjeira Valência enxertada em 16 porta-enxertos indutores de porte baixo na presença de HLB; (iv) Avaliar o desempenho horticultural de laranjeira Pera enxertada em 13 porta-enxertos indutores de porte baixo na presença de HLB; (v) Avaliar a sobrevivência ao HLB em campo e produtividade de cultivares de laranjeiras precoces selecionadas e enxertadas em trifoliata 'Flying Dragon', citrumeleiro 'Swingle' e limoeiro 'Cravo'; (vi) Avaliar a sobrevivência ao HLB em campo e produtividade de cultivares de tangerineiras tolerantes à mancha marrom de alternária e verrugose, enxertadas em trifoliata 'Flying Dragon', citrumeleiro 'Swingle' e limoeiro 'Cravo'; (vii) Avaliar a resposta ao HLB em campo de limeira ácida Tahiti em 18 porta-enxertos com e sem interenxerto de trifoliata Flying Dragon; (viii) Avaliar a sobrevivência ao HLB e produtividade de laranjeira Valência enxertada em citrumeleiro 'Swingle' em quatro densidades de plantio; (ix) Avaliar a implantação de pomares com mudas de tamanho grande ("mudão"), tamanho padrão e de porte reduzido ("minimudas") e condicionadas antes do transplante; (x) Avaliar a reação de genótipos de citros ao HLB em condições de campo e inoculação natural

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2016

Observações sobre andamento: Foi iniciado em 2012.

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Eduardo Sanches Stuchi - Embrapa Mandioca e Fruticultura/Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro

Pesquisadores colaboradores: Renato Beozzo Bassanezi (Fundecitrus); Eduardo Girardi e Francisco Laranjeira (Embrapa); Helvécio Della Colletta (Centro APTA Citros)

Influência de estratégias de controle no progresso do HLB e CVC em pomares recém-plantados em área com e sem manejo regional de HLB

Objetivos: (i) Determinar melhor combinação entre frequência de erradicação de plantas com sintomas e controle químico dos vetores para evitar o progresso do greening e CVC em pomares recém-plantados;

(ii) Verificar efeito da frequência de erradicação de plantas com sintomas de greening e CVC e do controle químico dos vetores no progresso temporal e espacial das doenças;

(iii) Avaliar o efeito de cada tratamento na população de insetos infectivos;

(iv) Relacionar as taxas de aparecimento dos sintomas com a flutuação populacional dos vetores, estágio fenológico e clima;

(v) Avaliar o custo/benefício das práticas de controle empregadas.

Início: 2005

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: Dois experimentos de campo instalados (out/05 e mai/06) e em avaliação. O experimento 2 (sem manejo regional) foi encerrado em dez/10 e o experimento 1 (com manejo regional) continuará em avaliação por mais 5 anos. Análise parcial dos resultados obtidos para os objetivos i, ii e iii. Iniciada a análise dos resultados dos objetivos iv e v.

Resultados: Novas plantas com sintomas de HLB são observadas de janeiro a setembro. Novas plantas com sintomas de CVC são observadas de fevereiro a junho. Os picos na população de psilídeos são anteriores aos das cigarrinhas. No experimento 1: a primeira planta com sintomas de CVC e HLB ocorreram em mar/07 e em jul/07, respectivamente. Observou-se que a epidemia de HLB foi bem mais rápida que a de CVC. Em jul/12 (quase 7 anos após o plantio), a incidência média de CVC e HLB eram respectivamente 3,7 e 6,9%, sendo a população acumulada de psilídeos 2,9 vezes maior que a população de cigarrinhas. A frequência de erradicação de plantas com sintomas não influenciou as incidências de plantas com CVC e com HLB. A população de cigarrinhas nas parcelas sem controle foi significativamente maior que nas parcelas com controle (38 a 51% maior), resultando em uma redução de 85% na incidência de CVC nas parcelas com controle. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos de controle do vetor a cada 28 dias e 14 dias para a população de cigarrinhas e incidência de CVC. A população de psilídeo nas parcelas sem controle foi

significativamente maior que nas parcelas com controle (28 a 35% maior), porém não resultou em incidência de HLB significativamente maior. No experimento 2: a primeira planta com sintomas de CVC e HLB ocorreram em abr/07 e em mai/07, respectivamente. Observou-se que a epidemia de HLB foi bem mais rápida que a de CVC. Em nov/10 (4,5 anos após o plantio), a incidência média de CVC e HLB eram respectivamente 0,04 e 65,0%, sendo a população acumulada de psíldeos 6,7 vezes maior que a população de cigarrinhas. A frequência de erradicação de plantas com sintomas não influenciou as incidências de plantas com CVC e com HLB. A população de cigarrinhas nas parcelas sem controle não foi significativamente maior que nas parcelas com controle, resultando em uma igual incidência de CVC nas parcelas com e sem controle. A população de psíldeo nas parcelas sem controle foi significativamente maior que nas parcelas com controle (80% maior para adultos e 95% maior para ninfas e ovos), resultando em uma redução de 30% na taxa de progresso da doença e na incidência de HLB nas parcelas com controle (76,7% de incidência nas parcelas sem controle e 53,2% nas parcelas com controle do vetor). A comparação dos experimentos 1 (com manejo regional) e 2 (sem manejo regional) permitem concluir que o manejo regional reduz a epidemia local de HLB por atrasar o início da epidemia (300 dias) e reduzir a sua taxa de progresso (75%). Isto ocorreu, porque o manejo regional diminuiu a população de psíldeos ano após ano (75%), reduziu as fontes externas de inóculo e assim, reduziu a população de psíldeos externos infectivos (1,5% contra 10,5%) responsáveis pelas infecções primárias. O manejo regional também permitiu que estratégias de controle do psíldeo menos frequentes (a cada 28 dias) e até mesmo sem aplicação de inseticidas fossem tão eficientes ou mais eficientes que estratégias mais intensivas (a cada 14 dias) de controle apenas local. No experimento 1, as produtividades obtidas após 5 colheitas foram crescente a cada ano e dentro do previsto para um pomar novo, havendo apenas uma redução significativa nas parcelas sem controle dos vetores a partir da terceira colheita devido à maior incidência de plantas erradicadas com CVC. No experimento 2, as diferenças de produção das parcelas com e sem controle do vetor foram percebidas a partir da segunda colheita. A partir da terceira colheita as produções foram iguais ou decrescentes em relação ao ano anterior pela grande quantidade de plantas erradicadas com HLB e o experimento foi erradicado antes da quarta colheita quando não era mais viável ser mantido.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Estratégias de controle do HLB e CVC em pomares em produção baseadas em épocas favoráveis para a eliminação de plantas sintomáticas e para o controle do vetor

Objetivos: (i) Verificar o efeito da época de eliminação de plantas com sintomas de HLB e CVC (mensal o ano todo e mensal no outono-inverno) no progresso temporal e espacial da doença em pomares em produção;

(ii) Verificar o efeito da época de um controle rigoroso da população de vetores do HLB e da CVC (calendário fixo a cada 28 dias durante todo ano; calendário fixo a cada 28 dias durante a primavera-verão; baseado na sua população durante todo ano – 10% de armadilhas com psíldeos) no progresso temporal e espacial das doenças em pomares em produção;

(iii) Relacionar as taxas de aparecimento de sintomas com a flutuação populacional dos vetores, estágio fenológico das plantas e condições climáticas;

(iv) Avaliar o custo/benefício das práticas de controle empregadas.

Início: 2007

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Um experimento de campo iniciado em abr/07 e avaliações realizadas até mai/12. Análise parcial dos resultados dos objetivos i, ii e iii. Iniciada a análise dos resultados do objetivo iv.

Resultados: No início das avaliações as incidências de plantas com HLB e CVC eram respectivamente 0,4 e 1,8%. Em mai/12 as incidências foram respectivamente, 14,4 e 20,4%. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos de erradicação e de controle do vetor para incidência acumulada e taxa de progresso da incidência, tanto para CVC como para HLB. Apesar disto, a aplicação das diferentes estratégias de controle parece ter reduzido ou mantido o progresso de ambas as doenças ano após ano (Incidência média no ano 1, 2, 3, 4 e 5 de HLB = 4,9%, 1,9%, 2,3%, 1,7% e 3,0%; CVC = 2,9%, 4,6%, 4,2%, 5,1% e 1,9%). Novas plantas com sintomas de HLB foram observadas de janeiro a setembro. Novas plantas com sintomas de CVC foram observadas de janeiro a julho. Observou-se que população de psíldeos no controle com calendário mensal na primavera-verão foi maior que no controle mensal durante o ano todo tanto com calendário fixo quanto no controle baseado na população de psíldeo. O controle do psíldeo na época anterior à vegetação de primavera (época de dormência) deve ser realizado. No caso da população de cigarrinhas, as populações no controle com calendário mensal na primavera-verão e baseado na população de psíldeo foi maior que

no controle mensal o ano todo com calendário fixo. Não se consegue controlar as cigarrinhas apenas baseado na população de psílídeos. Os picos na população de psílídeos são anteriores aos das cigarrinhas. O número de pulverizações no calendário primavera-verão foi 34, no calendário ano todo foi 65 e baseado na população foi 21, tendo os dois últimos o mesmo resultado. Foi percebida uma boa relação entre a porcentagem de armadilhas adesivas amarelas com a presença dos insetos e o número de insetos coletados por armadilha, indicando que ambas as avaliações podem ser utilizadas para a estimativa da população de vetores. Populações de psílídeos capturados nas armadilhas adesivas amarelas localizadas na periferia ou entorno da fazenda são detectadas antes e são maiores que as populações capturadas no centro das parcelas. Conclui-se que realizando-se inspeções mensais, podem-se focar as erradicações de plantas com sintomas de HLB no período de dezembro a agosto sem prejuízo no controle da doença; o controle de psílídeos pode ser racionalizado, realizando aplicações de inseticidas apenas na presença do inseto vetor; os períodos de maior população de psílídeos ocorrem de agosto a janeiro; o monitoramento de psílídeos no entorno de talhões ou propriedades é a melhor estratégia visando o controle do mesmo e da doença em função do psílídeo se concentrar neste local durante sua migração; para o controle da CVC é necessário também que se baseie as aplicações de inseticidas também na população de cigarrinhas e não somente na de psílídeos.

Pesquisador e Instituição Líder: Renato B. Bassanezi - Fundecitrus

Melhoramento in vitro para resistência a CVC, greening e cancro cítrico

Objetivos: (i) Obtenção e avaliação dos híbridos somáticos em experimentos em casa de vegetação e no campo;

(ii) Produção de plantas transgênicas com genes relacionados (i) a defesa de citros a patógenos, (ii) peptídeos antimicrobianos, e (iii) interferência de RNA para silenciamento do vetor.

(iii) Avaliação de plantas transgênicas quanto à resistência ao cancro cítrico e HLB.

Início: 2008

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) Em andamento: a avaliação das características agrônômicas dos híbridos está sendo feita no campo a pelo menos três anos e será continuada até as plantas atingirem o estágio adulto; (ii) Em andamento: plantas transgênicas com peptídeos antimicrobianos foram testadas para doenças bacterianas; Plantas transgênicas com genes para defesa contra liberibacter e Diaphorina citri estão sendo produzidas em laboratório; (iii) Testes em casa de vegetação feitos para HLB e cancro cítrico com algumas linhagens de plantas. Falta produzir mudas para testar novas linhagens. Seleção de plantas potenciais para testes em campo.

Resultados: (i) Híbridos com resistência a podridão de Phytophthora spp., mas com menor produtividade do que os tradicionalmente empregados na citricultura; (ii) Desenvolvimento de plantas cítricas com variadas combinações entre genes para controle de vírus (CTV) e doenças bacterianas, com expressão sistêmica do transgene, específica no floema e específica no espaço intracelular (atacina intracelular hrpN, defensinas, gene para RNAi); Determinação de promotores para expressão específica em floema de citros; (iii) Potencial na redução do número de lesões de cancro cítrico; plantas transgênicas com genes da atacina e cecropina foram suscetíveis ao HLB.

Pesquisador e Instituição Líder: Francisco A. A. Mourão - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Nelson A. Wulff e José Belasque Jr. (Fundecitrus)