



Situação do HLB no Estado do Paraná, no Brasil e no Mundo

Rui Pereira Leite Jr.
ruileite@iapar.br



INSTITUTO AGRONÔMICO
DO PARANÁ

Julho, 2017

Citricultura Brasileira

O Brasil é líder global:



85%
é a participação do Brasil na exportação mundial

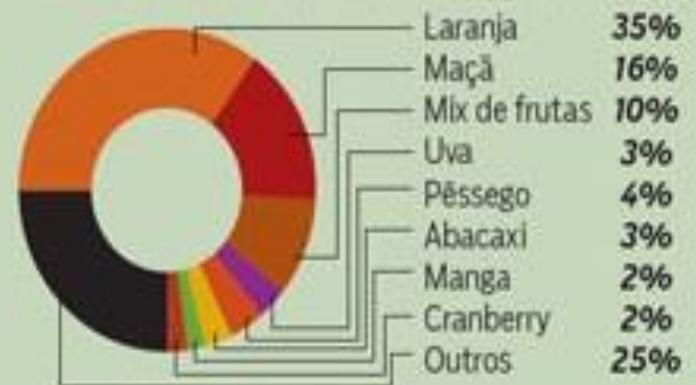


3 a cada 5 copos consumidos no mundo são produzidos no Brasil



- US\$ **6,5 bilhões** é o PIB do setor citrícola
- US\$ **4,39 bilhões** são gerados no mercado interno
- US\$ **2,15 bilhões** no mercado externo
- US\$ **676 milhões** é a massa salarial do setor

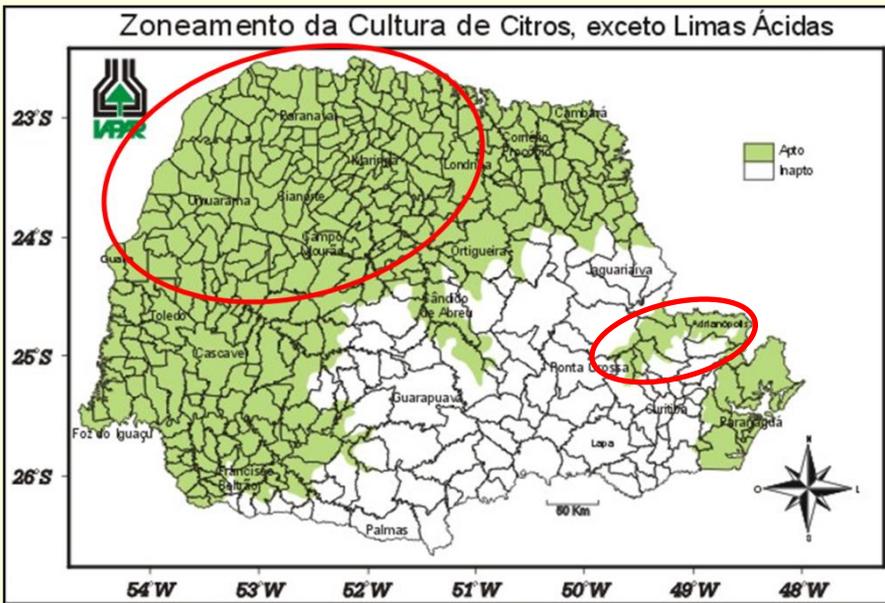
Laranja é o suco mais consumido do mundo



De todo o suco produzido...

- 98% da produção nacional é exportada
- 70% das exportações têm como destino a Europa
- 20% das exportações vão para os Estados Unidos
- 10% das exportações vão para outros 130 países

Desenvolvimento da Citricultura no Paraná

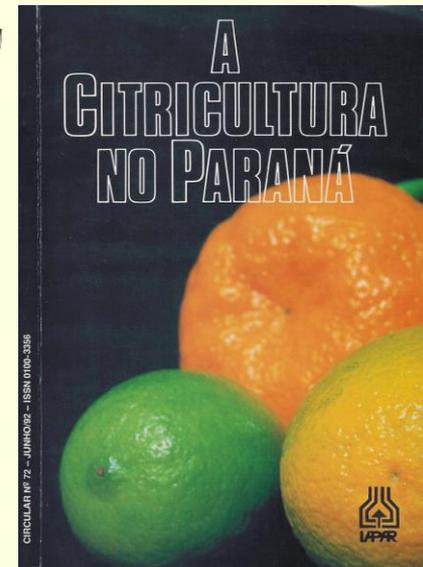


- 29 mil ha (Laranja)
- 33 toneladas ha⁻¹
- > 950 mil toneladas de Laranja

IBGE (2014)



Desenvolvimento da Citricultura no Paraná



Desafios para a Citricultura no Paraná

Cancro cítrico



Pinta preta



HLB



Mosca negra

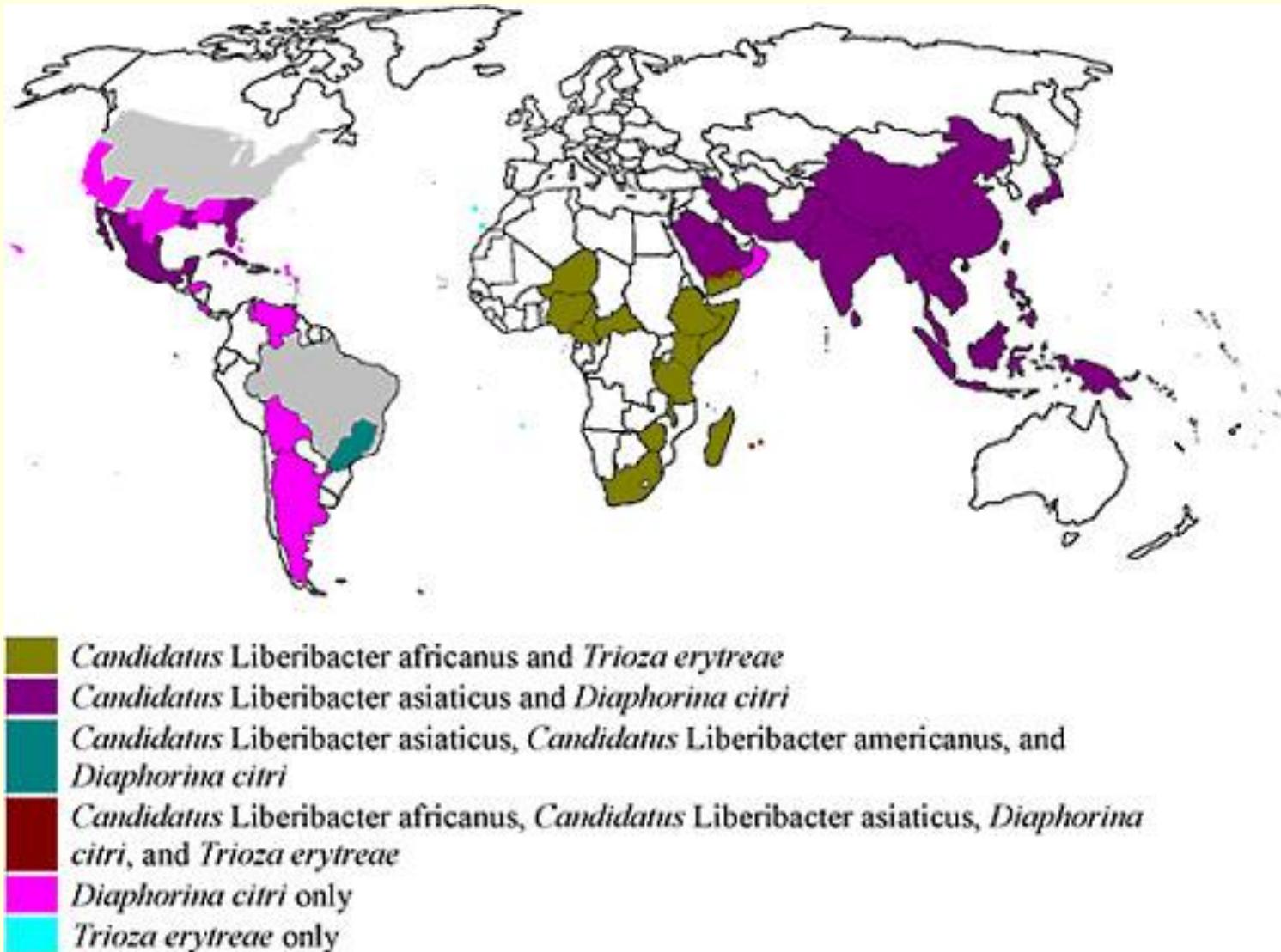


CVC



Macugonalia leucomelas

Distribuição do HLB no Mundo



Histórico da HLB no Brasil

2004

- Primeiro relato do HLB no Brasil
- Duas espécies da bactéria presentes
 - Candidatus Liberibacter asiaticus*
 - Candidatus Liberibacter americanus*
- *Ca. L. americanus* detectado em murta (*Murraya paniculata*)
- Doença presente nos estados de São Paulo e Minas Gerais

2005

- Publicação, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – **MAPA**, da Instrução Normativa Nº 10, de 18/03/05, sobre medidas para levantamento, controle e erradicação do “greening”.

Histórico da HLB no Brasil

2006

- **Publicação pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná - SEAB-PR de resolução proibindo o comércio e plantio de Murta**
- **Publicação, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, da Instrução Normativa Nº 32, de 29/09/2006, revogando Instrução Normativa Nº 10, de 18/03/05 sobre medidas para levantamento, controle e erradicação do “greening”.**

2007

- **HLB presente no Paraná – Proibição do comércio de mudas cítricas produzidas fora de ambiente protegido (conforme Instrução Normativa Nº 32, de 29/10/2006.)**

2008

- **Publicação, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, da Instrução Normativa Nº 53, de 16/10/2008, revogando a Instrução Normativa Nº 32, de 29/09/2006 sobre medidas para levantamento, controle e erradicação do “greening”**

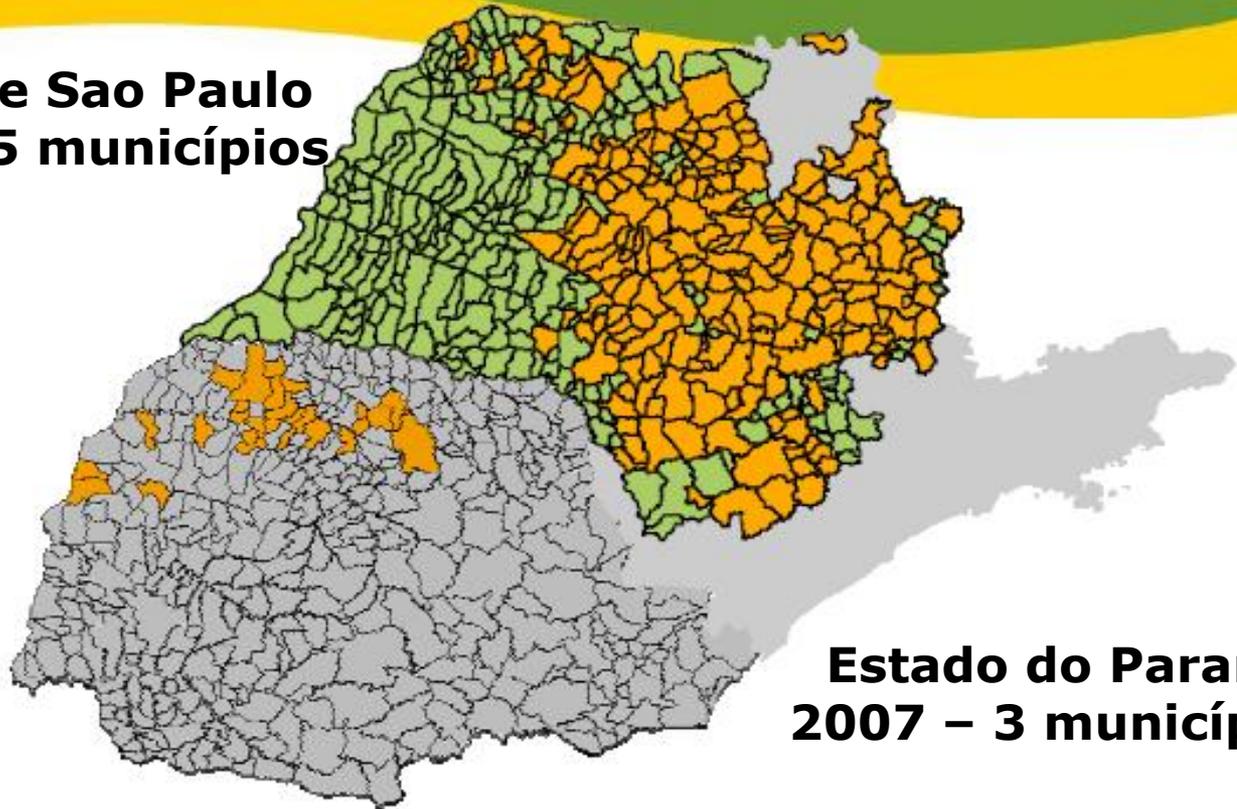
2012

- **“HLB presente no estado da Bahia, região Nordeste do Brasil”**

Huanglongbing no Brasil

Municípios afetados no Brasil (2010)

**Estado de São Paulo
2004 – 45 municípios**

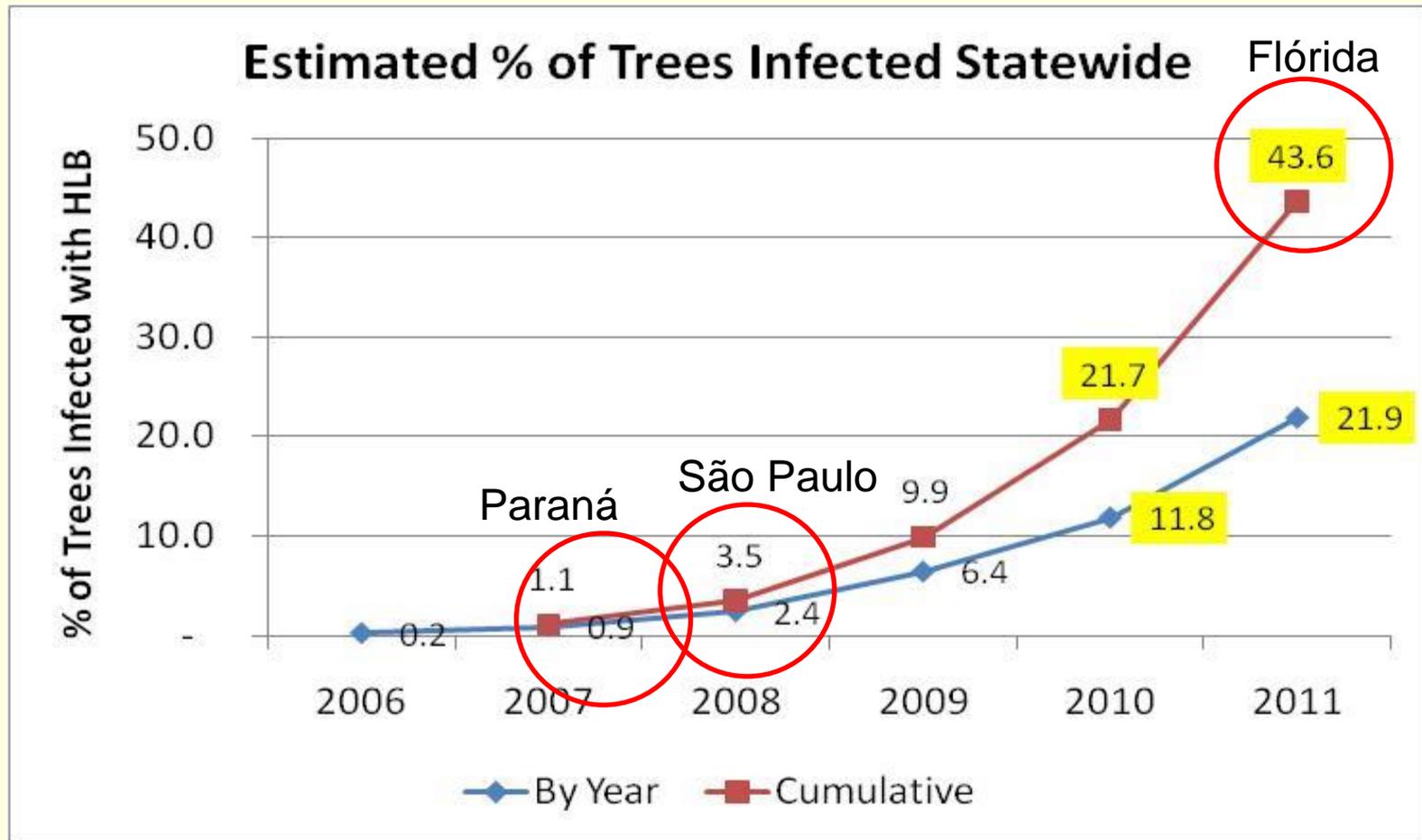


**Estado do Paraná
2007 – 3 municípios**

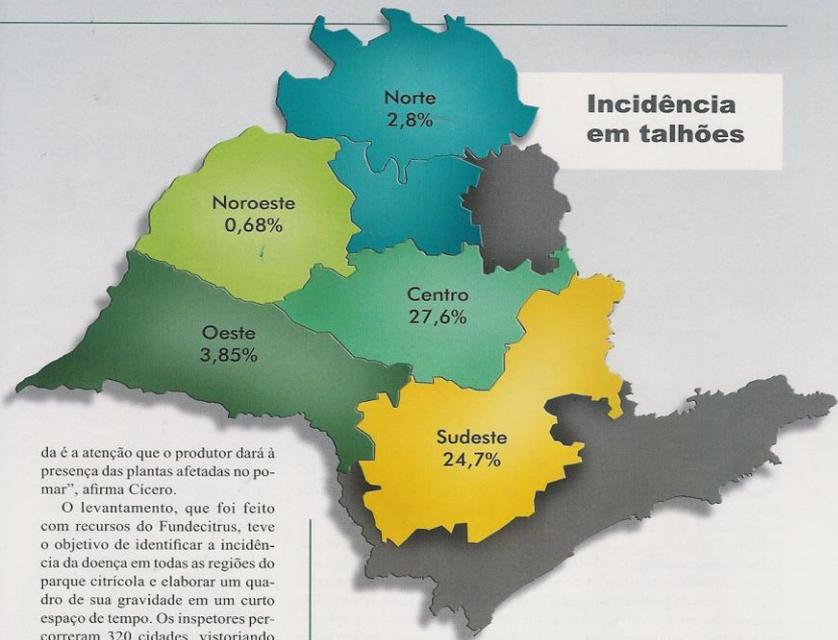
Julho de 2010

253 em São Paulo, 4 em Minas Gerais e 54 no Paraná

Estimates HLB disease incidence doubled from 2010 to 2011 (Mike Irey, USSC)



EVOLUÇÃO DO HLB EM SÃO PAULO



da é a atenção que o produtor dará à presença das plantas afetadas no pomar”, afirma Cicero.

O levantamento, que foi feito com recursos do Fundecitrus, teve o objetivo de identificar a incidência da doença em todas as regiões do parque citrícola e elaborar um quadro de sua gravidade em um curto espaço de tempo. Os inspetores percorreram 320 cidades, vistoriando 8.016 talhões a 10%, ou seja, para cada dez linhas de plantas, uma foi inspecionada. Ao todo, 2,37 milhões de árvores foram examinadas.

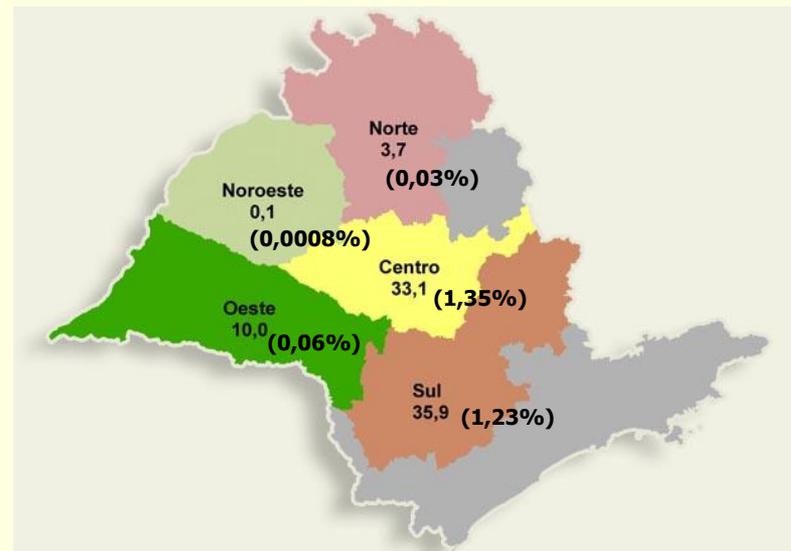
A metodologia foi elaborada juntamente com o professor José Carlos Barbosa, do Departamento de Estatística da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp de Jaboticabal. Os números podem ser maiores do que os constatados, em razão, principalmente, de as inspeções terem ocorrido sem a utilização de plataformas, pois sintomas no topo das copas das plantas são de difícil detecção quando os inspetores encontram-se no solo. Mas o trabalho cumpriu sua meta de fazer um retrato do greening no Estado, o que vai auxiliar nas ações de controle da doença e de orientação a citricultores.

Evolução

3,41% dos talhões
2004

12,86% dos talhões
2007

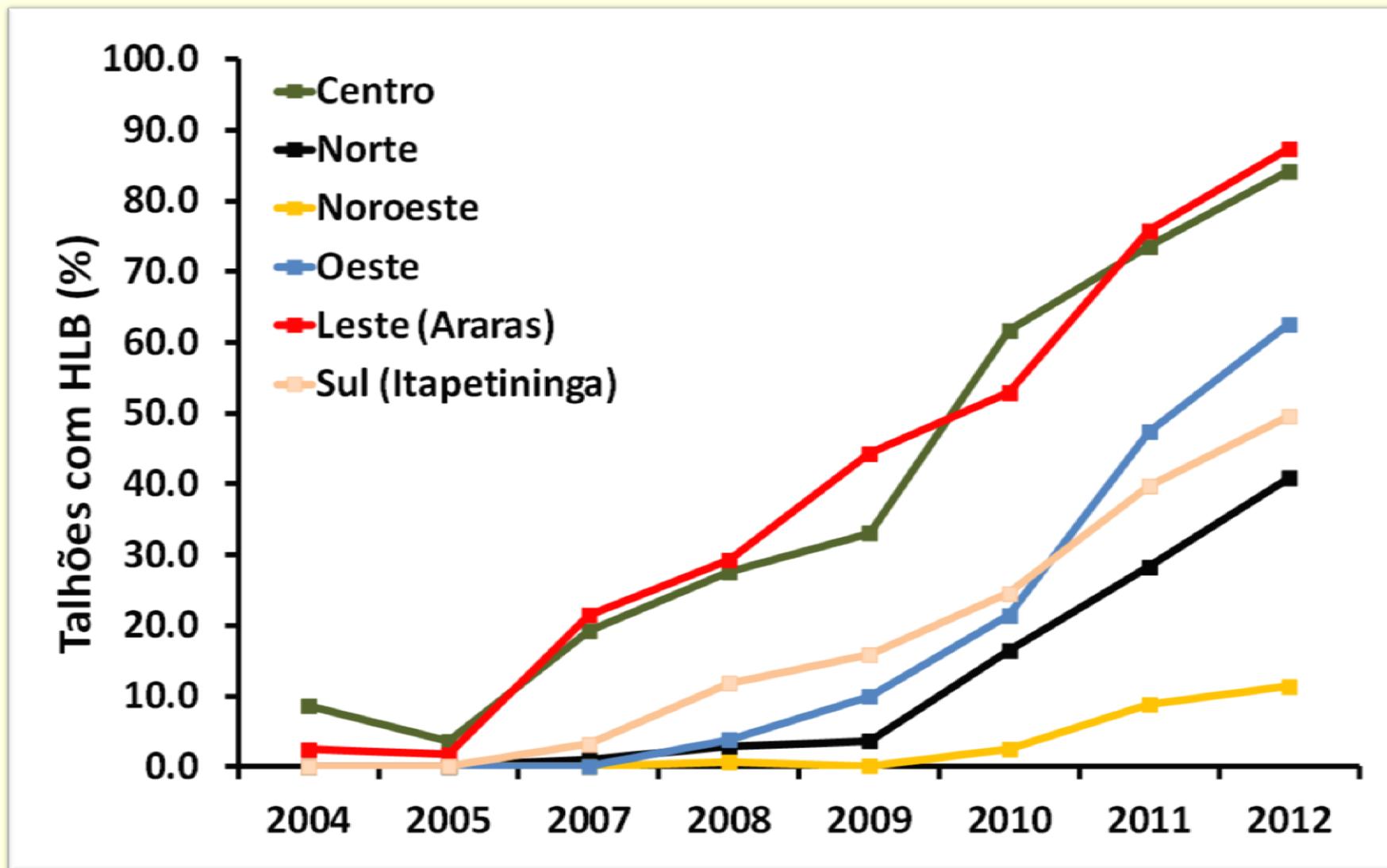
18,57% dos talhões
2008



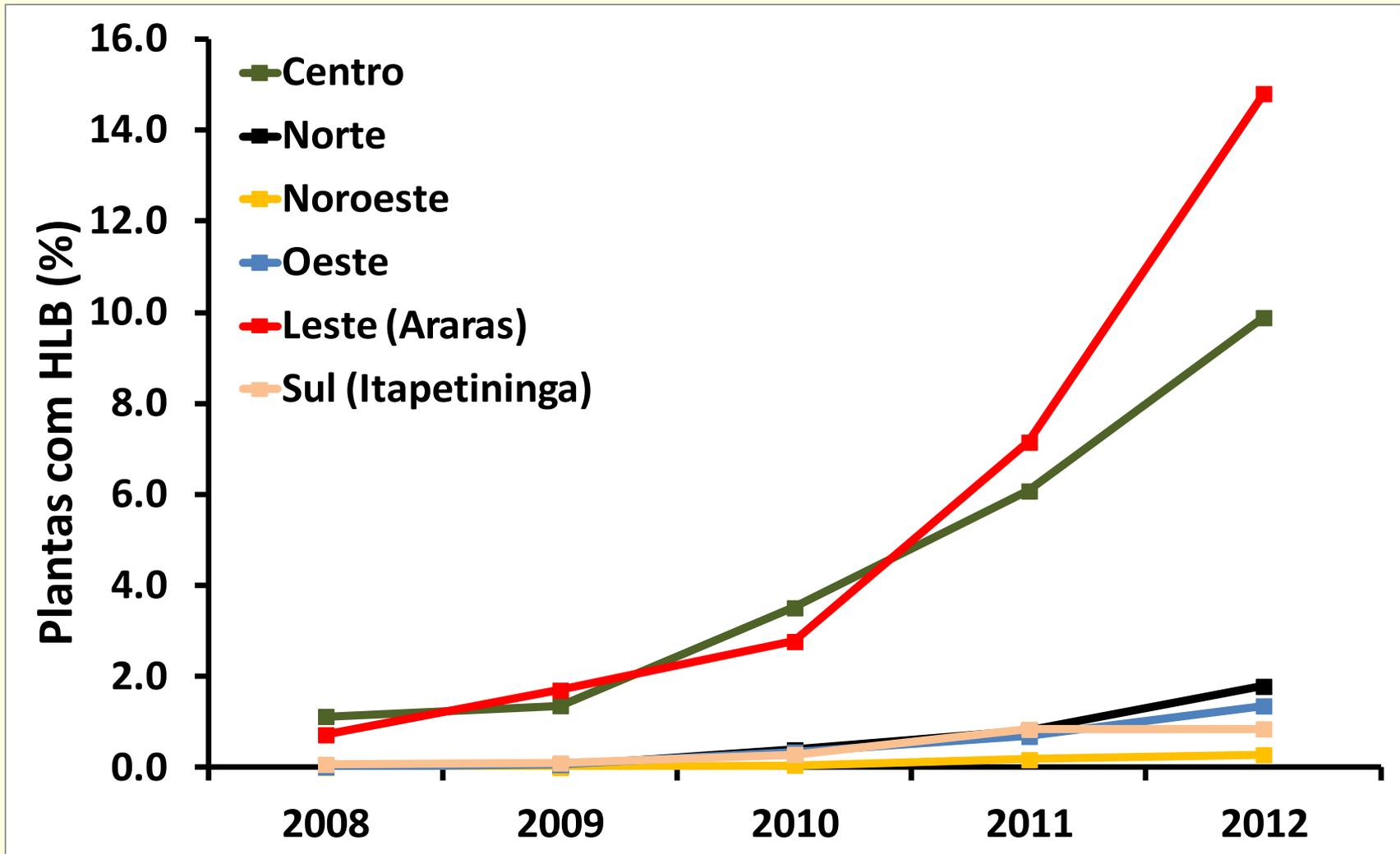
2009

24,01 % dos talhões
Aumento de 30% em relação a 2008

EVOLUÇÃO DO HLB EM SÃO PAULO - Talhões com HLB



EVOLUÇÃO DO HLB EM SÃO PAULO - Plantas com HLB



EVOLUÇÃO DO HLB EM SÃO PAULO

Normativa/Período

Plantas Eliminadas

IN 10 - 2005

827.919

IN 32 - 2006/2008

3.895.370

IN 53 - 2009/2012

17.271.302

**22 milhões de
plantas eliminadas
em 8 anos**

Fonte: CDA

Evolução do HLB no Paraná

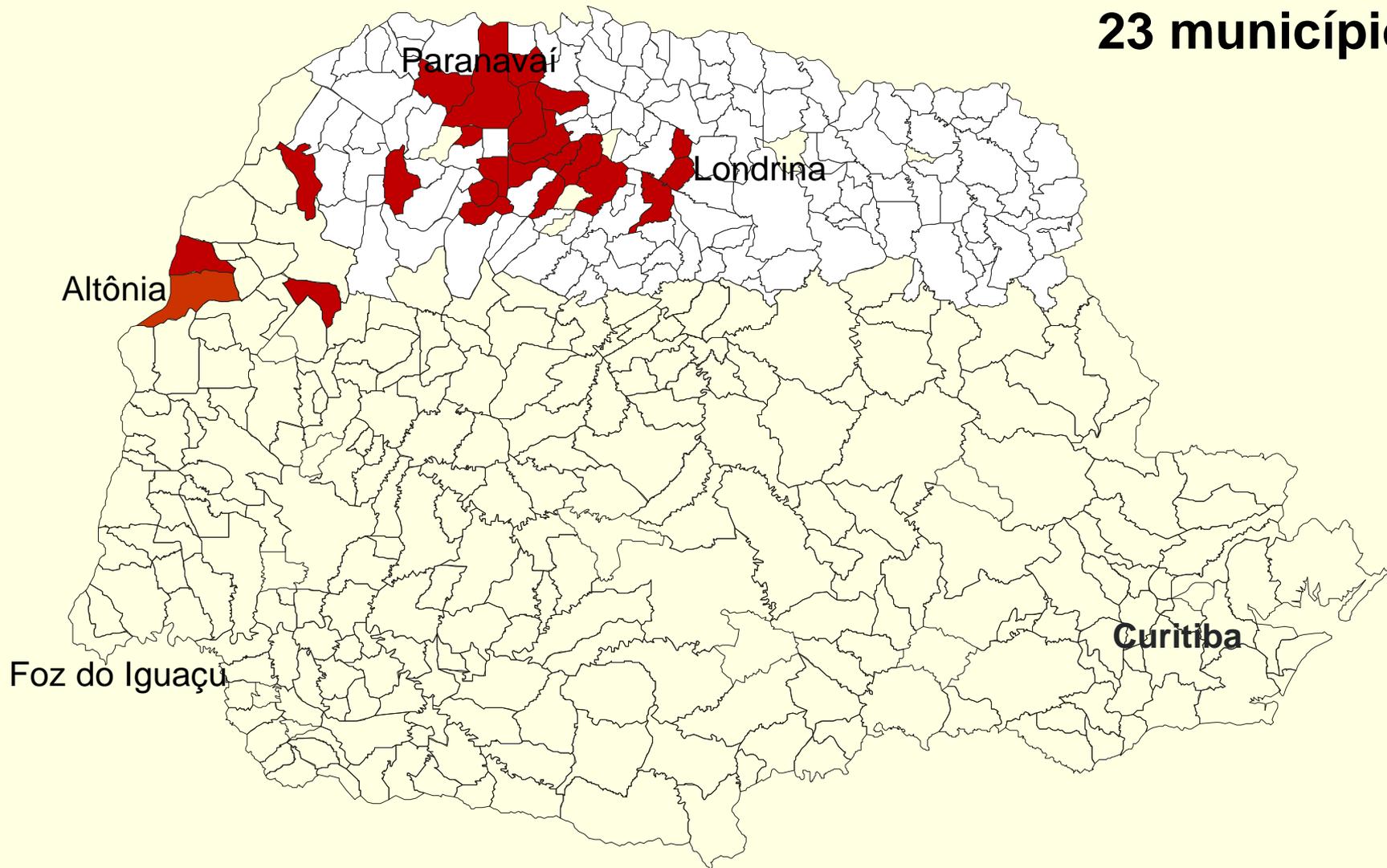
Jan/2007
1 município



Evolução do HLB no Paraná

Jul/2008

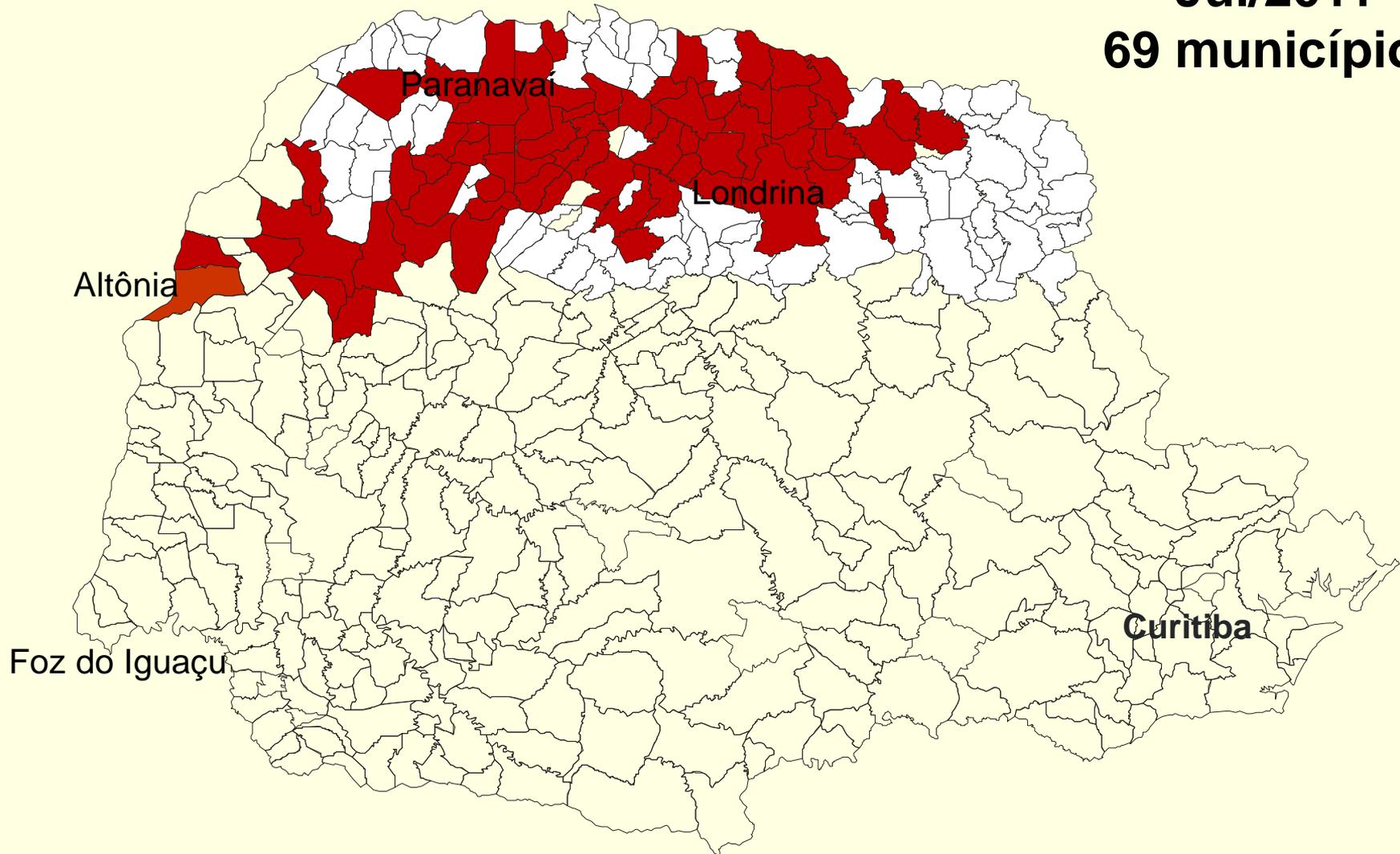
23 municípios



Evolução do HLB no Paraná

Jul/2011

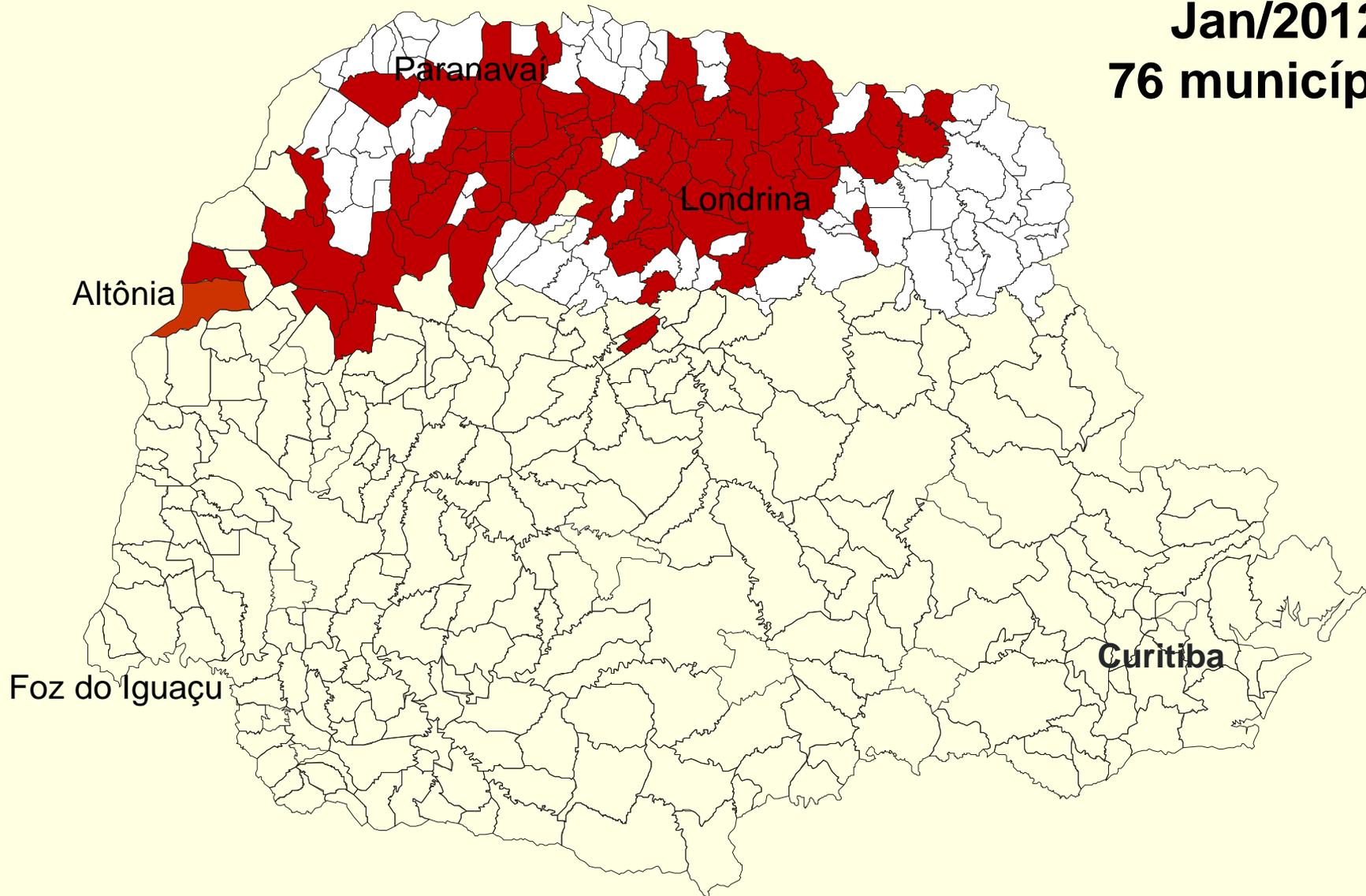
69 municípios



Evolução do HLB no Paraná

Jan/2012

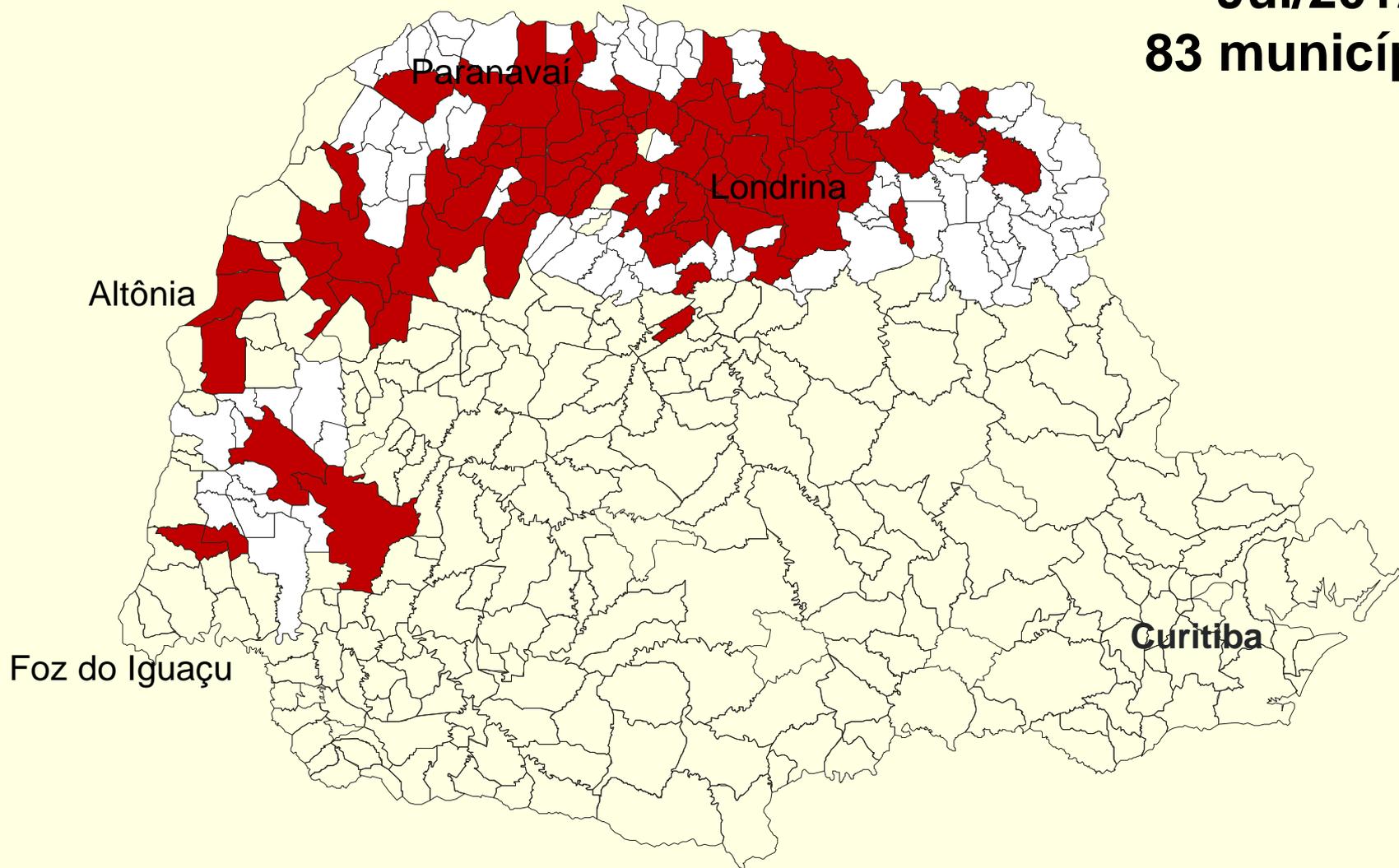
76 municípios



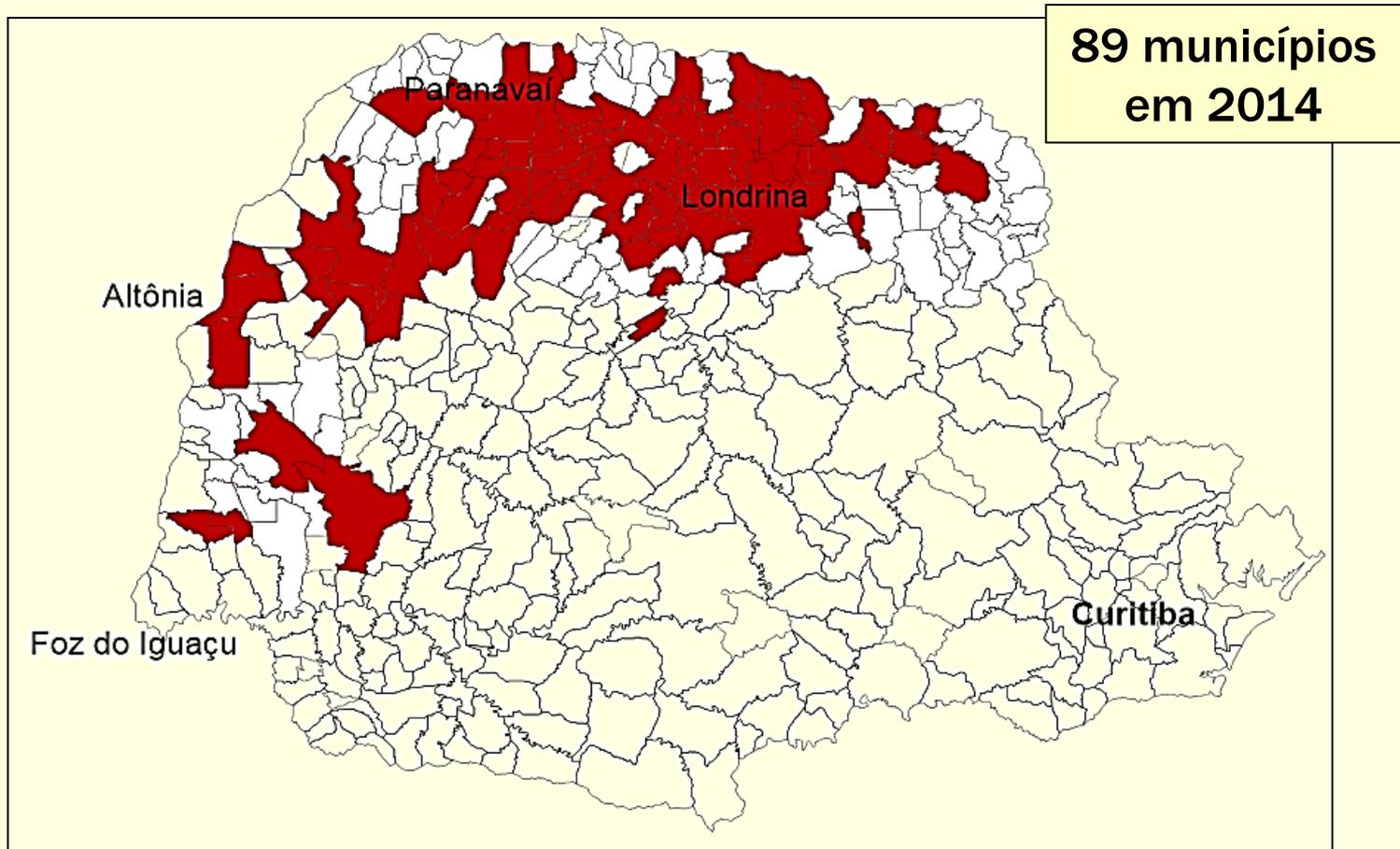
Evolução do HLB no Paraná

Jul/2012

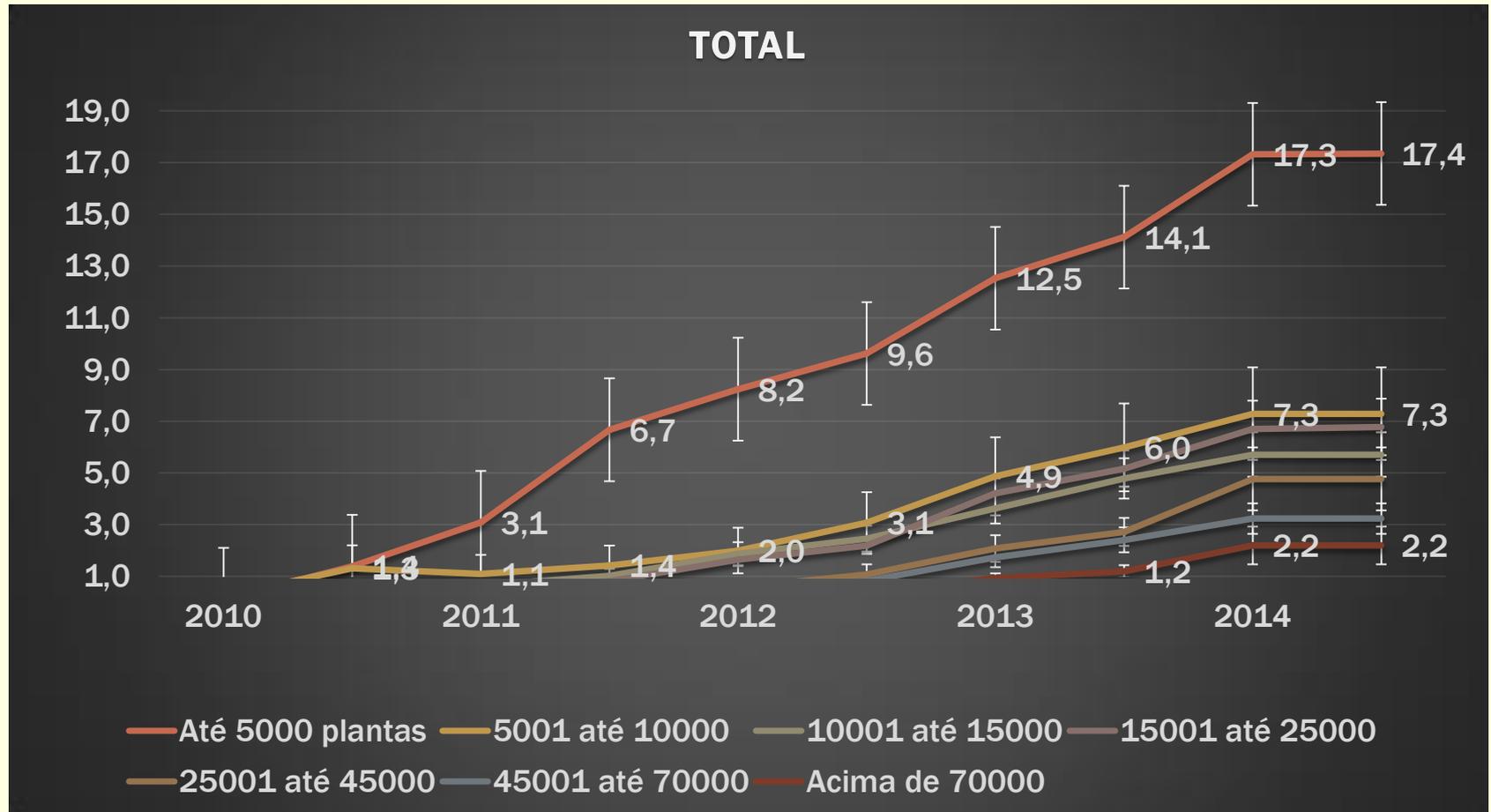
83 municípios



Evolução do HLB no Paraná



Evolução do HLB no Paraná



Incidência acumulada de Huanglongbing em citros estratificada pelo tamanho das propriedades (número de plantas) no período entre 2010 e 2014 – Núcleos Regionais de Maringá e Paranavaí

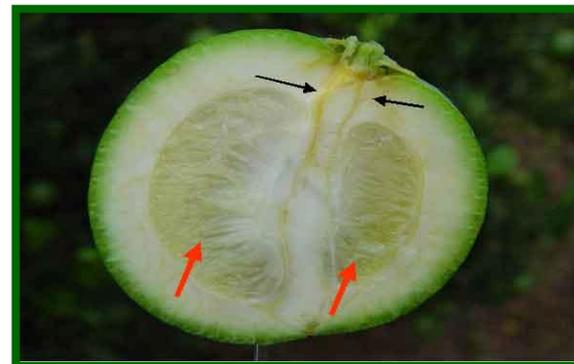
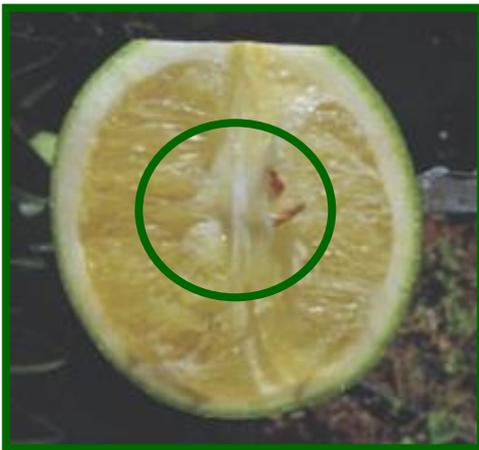
Sintomas - folhas

- Folhas com aspecto mosqueado
- Espessamento da nervura central
- Seca de ramos



Sintomas - frutos

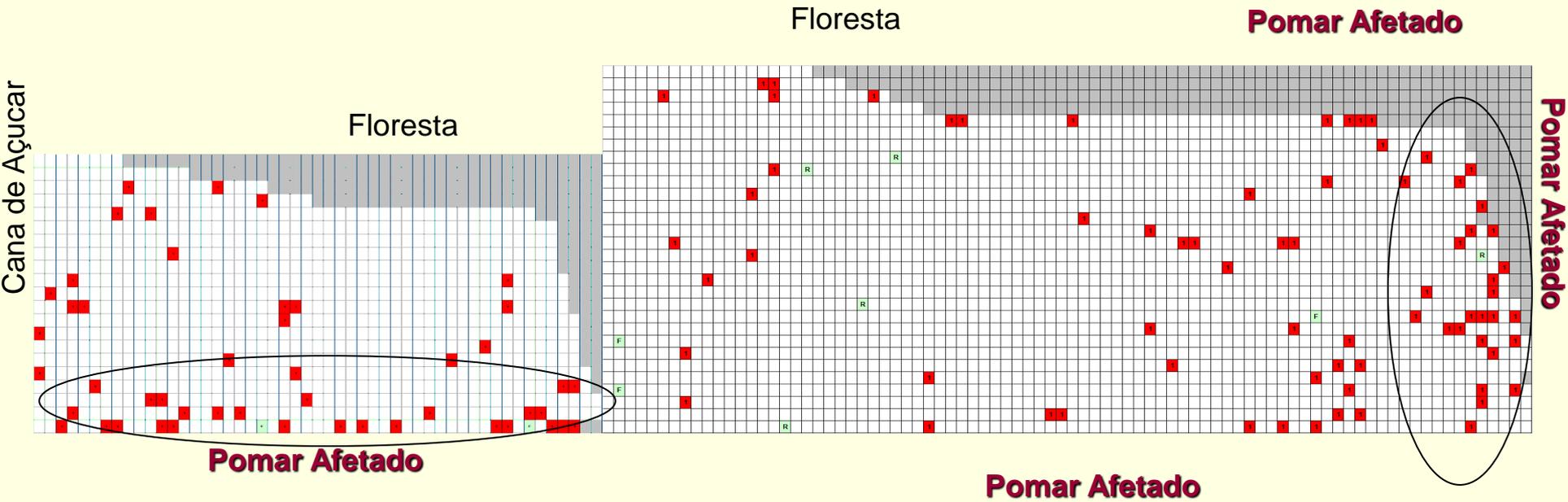
- Frutos pequenos
- Com aspecto mosqueado
- Deformados
- Coloração invertida
- Abortamento de sementes



Árvores adultas: HLB Evolução dos Sintomas



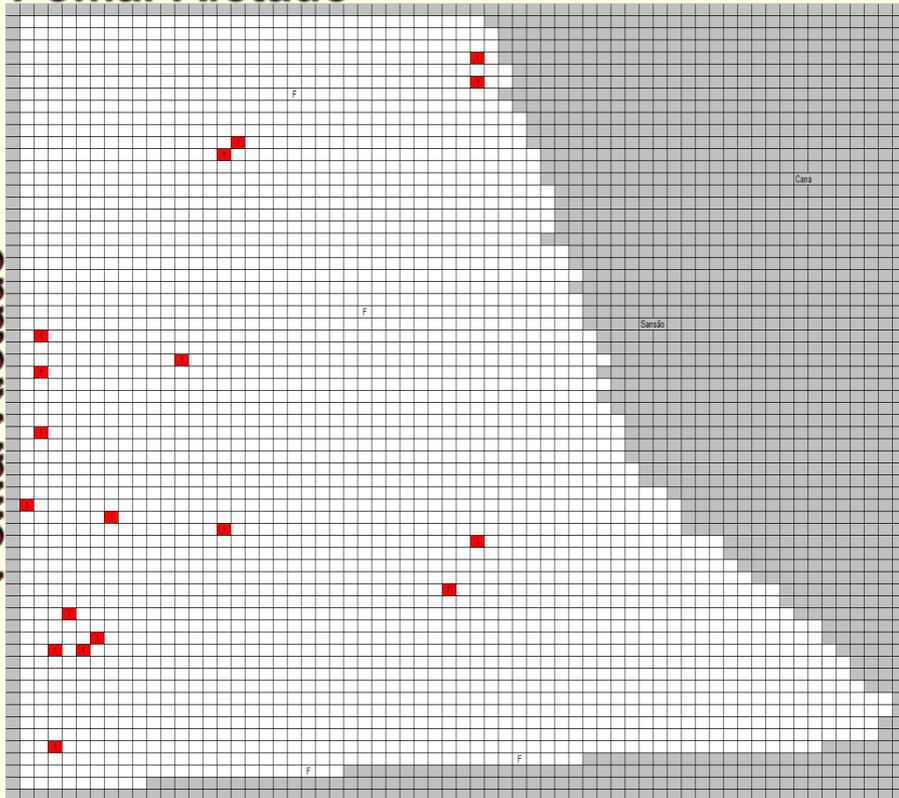
HLB - Dispersão



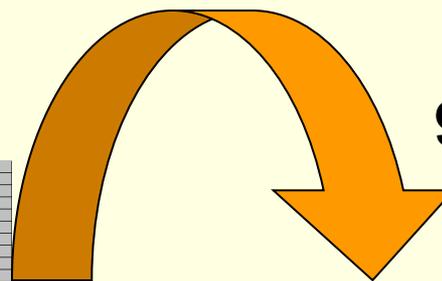
➤ **Efeito de Pomares Vizinhos Afetados**

HLB Progresso da Incidência

Pomar Afetado



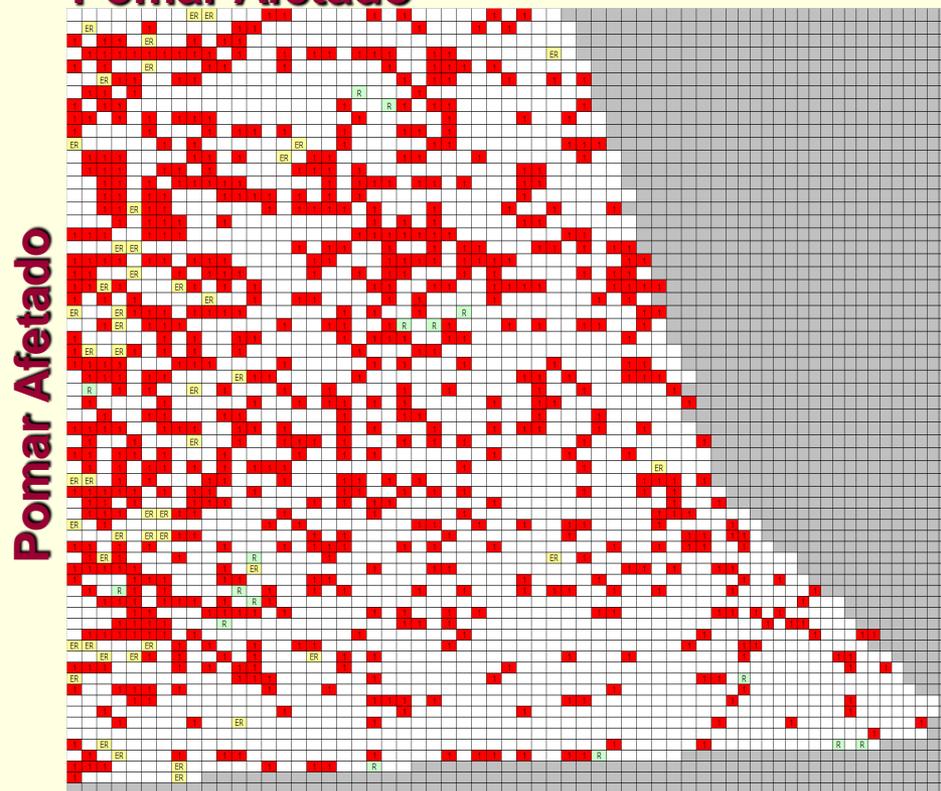
Agosto/2004 (0.6%)



9 Meses

Maio/2005 (27.4%)

Pomar Afetado



Source: Renato Bassanezi (Fundecitrus)

Etiologia do HLB

Bactéria limitada ao floema

Cultivável em meio de cultura específico (?)

Células pleomórficas (variável na forma)

Distribuição lenta na planta, mas com movimento decendente rápido



- ***Candidatus Liberibacter asiaticus* – Asiático**
- *Ca. L. africanus* - Africano
- *Ca. L. americanus* - Americano

Estudo da Diversidade da Bactéria do HLB no Paraná

Primers	Patógeno	Sequência	Programa	Amplicon
HP1/Lp1c Gene <i>omp</i>	Ca. L. asiaticus	5'-GATGATAGGTGCATAAAAGTACAGAAG-3' 5'-AATACCCTTATGGGATACAAAAA-3' (BASTIANEL et al., 2005)	40 ciclos 92°C - 40s 55°C - 40s 72°C - 3min e 72°C - 10min	2400pb
A2/J5 Gene Gene <i>rplAJ</i>	Ca. L. asiaticus Ca. L. africanus	5'-TATAAAGGTTGACCTTTCGAGTTT-3' 5'-ACAAAAGCAGAAATAGCACGAACAA-3' (HOCQUELLET et al., 1999)	35 ciclos 94°C - 30s 62°C - 30s 72°C - 60s	703pb 669pb
OMP1F/ OMP1R Gene <i>omp</i>	Ca. L. asiaticus	5'-GATGATAGGTGCATAAAAGTACAGAAG-3' 5'-AATATTAAGCGTTGTCGGAG-3' (AHMAD et al., 2009)	40 ciclos 92°C - 40s 55°C - 40s 72°C - 3 min e 72°C - 10min	600pb

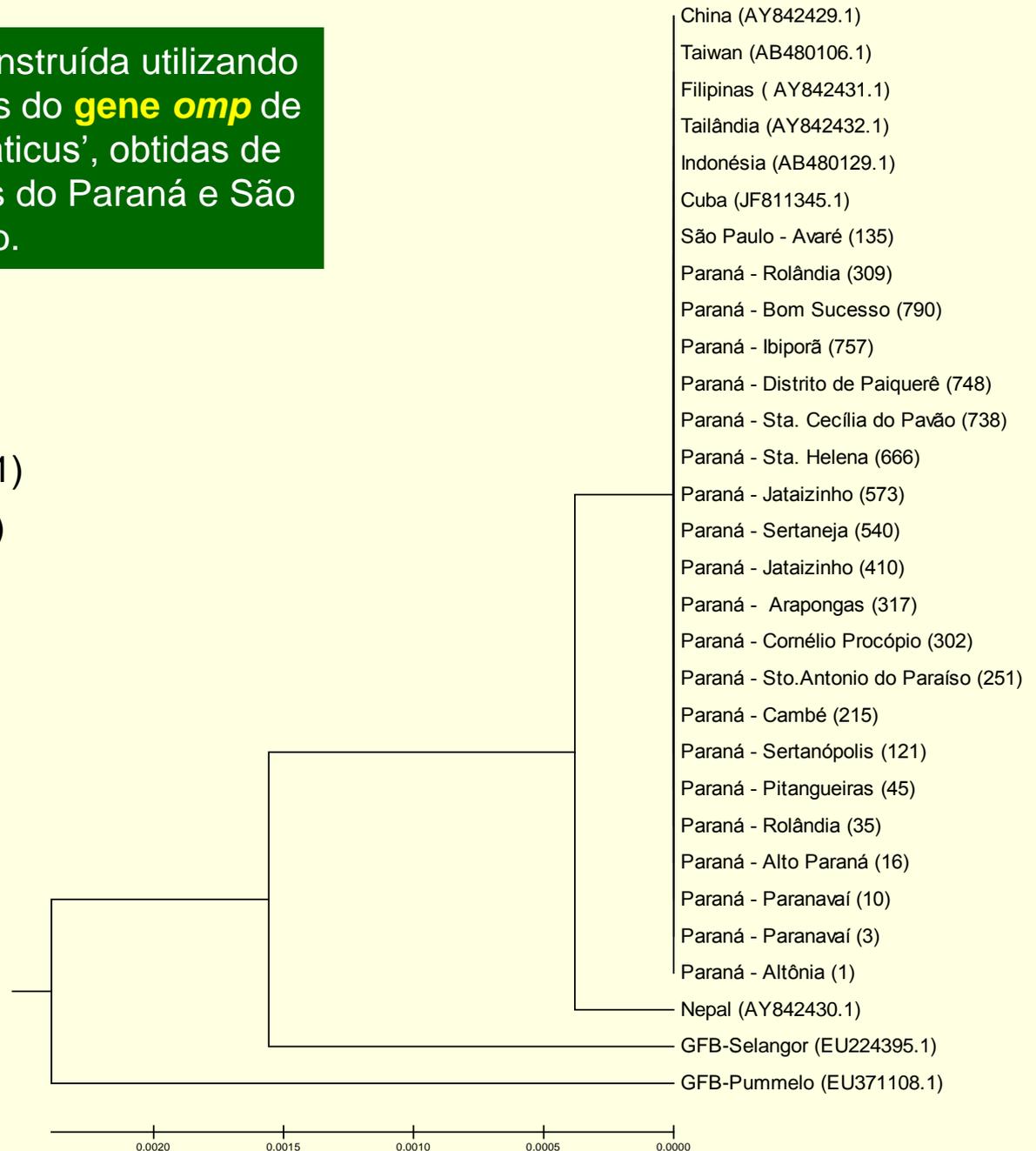
Árvore filogenética construída utilizando as sequências parciais do **gene omp** de 'Ca. Liberibacter asiaticus', obtidas de amostras dos estados do Paraná e São Paulo.

100% de identidade:

- Cuba (JF811345.1)
- Indonésia (AB480132.1)
- Tailândia (AY842432.1)
- Vietnã (AB480114)
- Filipinas (AY842431.1)
- China (AY842429.1)
- Japão (AB48010.1)

99% de identidade:

- Nepal (AY842430.1)
- Irã (HQ267229.1)
- Malásia (EU224395.1; EU371108.1)
- Índia (AY642159.1)



Árvore filogenética construída utilizando as sequências parciais do **gene *rpIAJ*** de '*Ca. Liberibacter* spp.' obtidas de amostras dos estados do Paraná e São Paulo.

100% de identidade:

- Guangdong na China (JN211015.1)
- Flórida (EU265648.1)
- Indonésia (AB490691.1)
- São Paulo (DQ471904)

99% de identidade:

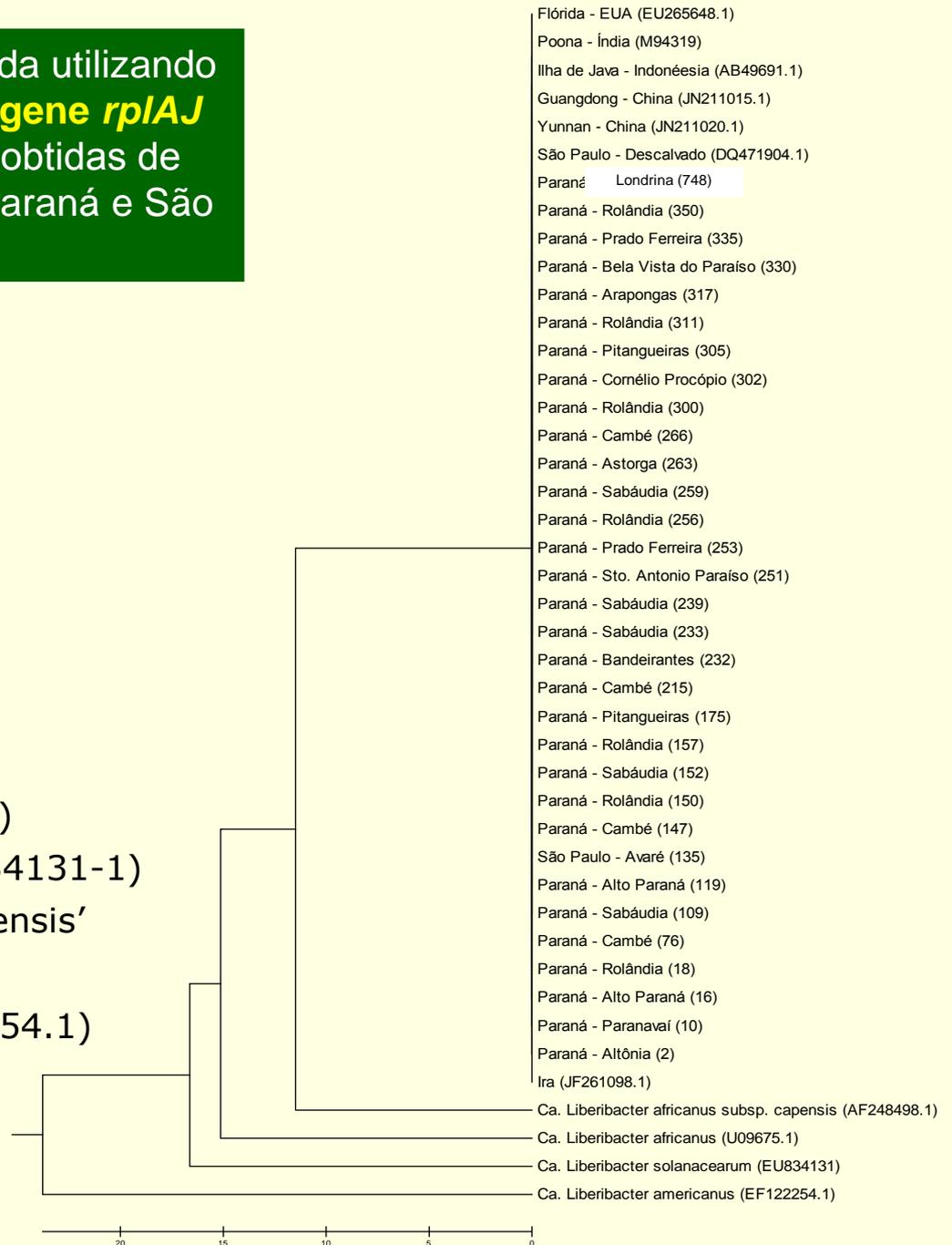
- Yunnan na China (JN211020.1)
- Irã (JF261098)

80% com '*Ca. L. africanus*' (U09675.1)

78% com '*Ca. L. solanacearum*' (EU834131-1)

76% com '*Ca. L. africanus* subsp. *capensis*' (AF248498.1)

72% com '*Ca. L. americanus*' (EF122254.1)



Hospedeiros da Bacteria do HLB

Todas as espécies cítricas são susceptíveis/hospedeiras

Altamente susceptíveis: laranjas, **tangerinas e híbridos de tangerinas**

Moderadamente susceptíveis: pomelos, limões e laranja azeda

Tolerantes: limas, toranja, poncirus

Diversas espécies da família Rutaceae, envolvendo pelo menos 14 diferentes gêneros, são hospedeiras da bactéria

Plantas Hospedeiras

Murta

(Murraya paniculata)

- hospedeiro preferencial para o psilídeo



Plantas Hospedeiras

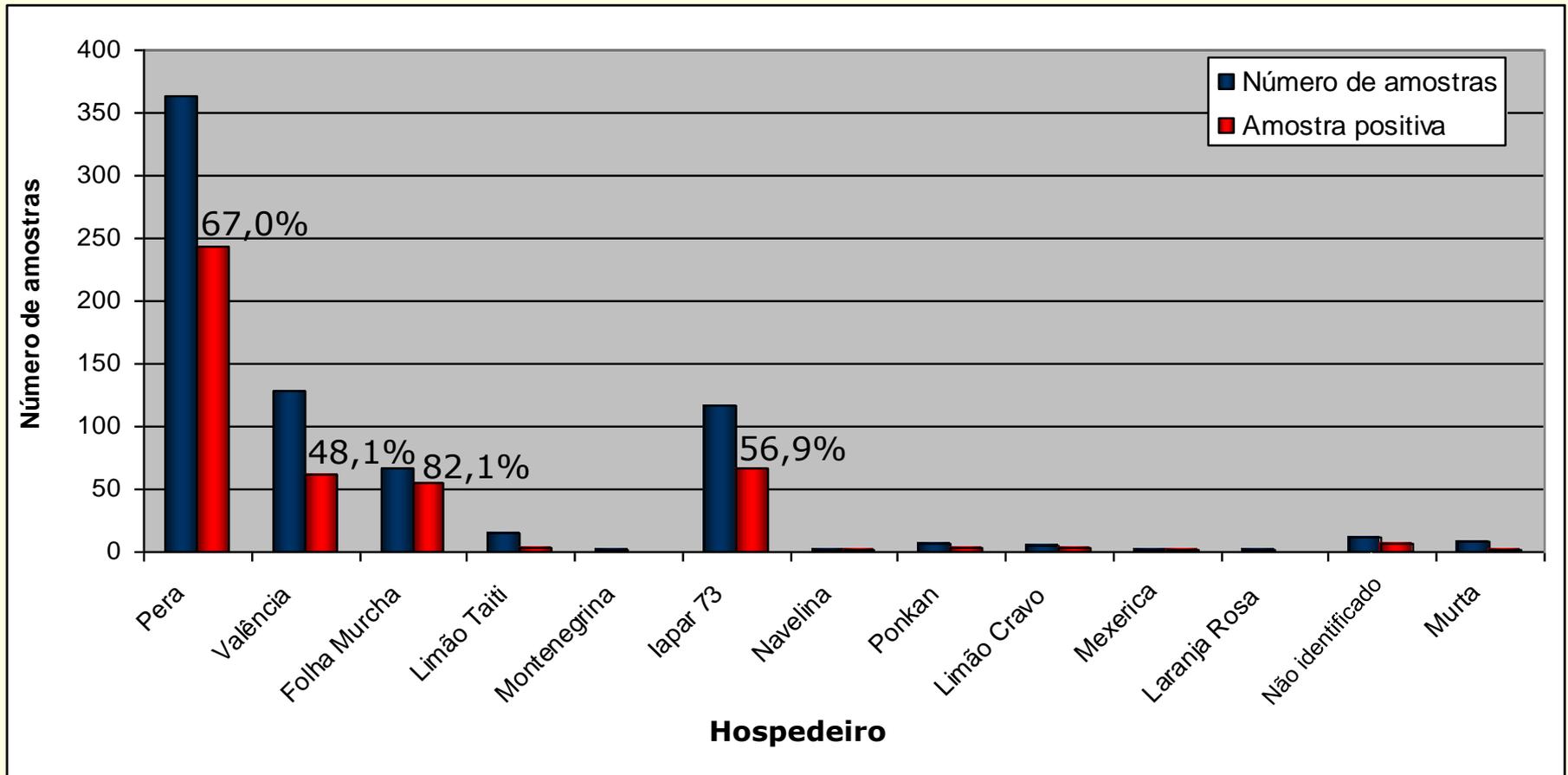
Severinia buxifolia

- hospedeiro para a bactéria e para o psilídeo Asiático

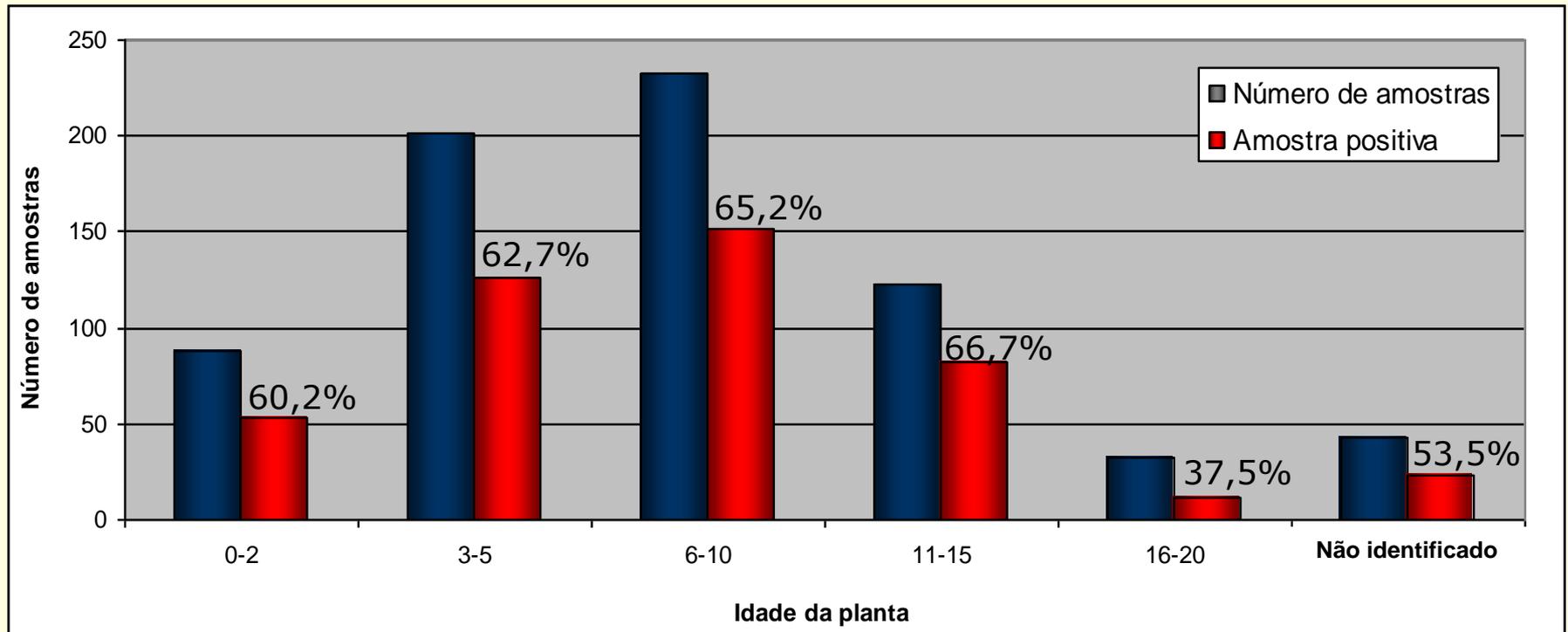


Amostras de citros por hospedeiro submetidas para análise de PCR para diagnóstico de 'Ca. Liberibacter spp.' durante o período de agosto de 2007 a agosto de 2011 – Laboratório Diagnóstico/IAPAR

➤ **Total de amostras examinadas: 728**



Idade das plantas de citros submetidas à análise de PCR para diagnóstico de 'Ca. Liberibacter spp'. e incidência da doença, durante o período de agosto de 2007 a agosto de 2011 – Laboratório Diagnóstico/IAPAR



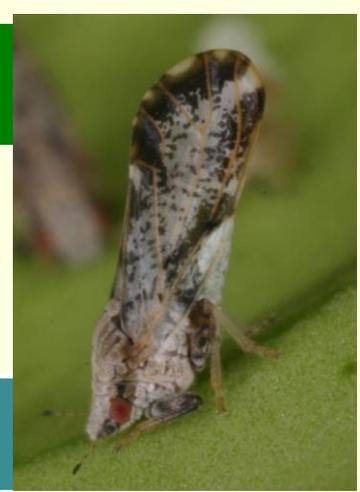
Transmissão e Disseminação

A bactéria somente é transmitida por **inseto vetor** (*Diaphorina citri*) ou **material propagativo** na enxertia (gemas ou borbulhas).

A disseminação se dá por meio de **mudas contaminadas**, de citros ou de murta.



Diaphorina citri



Pouco eficiente na transmissão da bactéria

Fases que adquire: 4^o e 5^o instares ninfais e adultos

Aquisição: 30 minutos

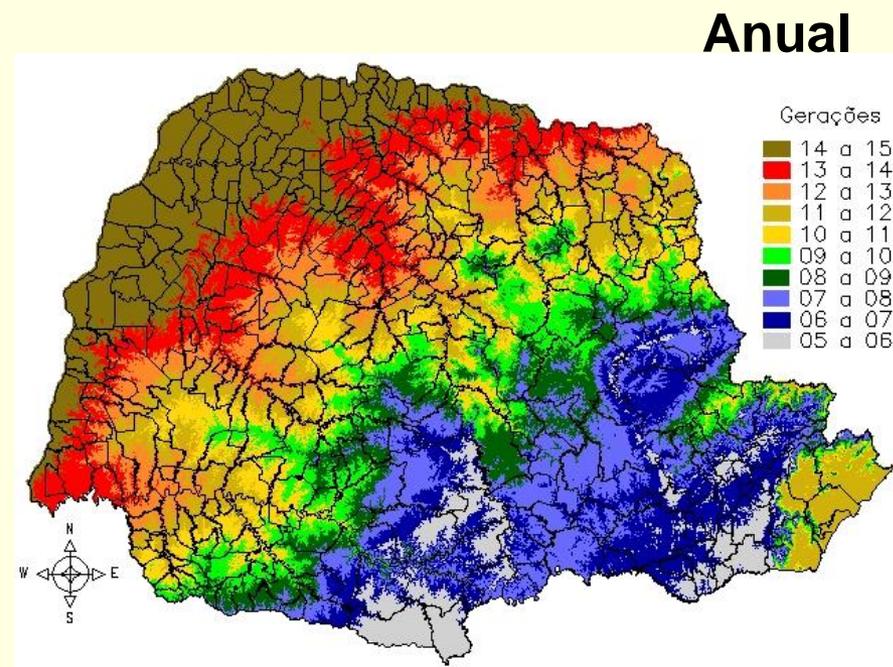
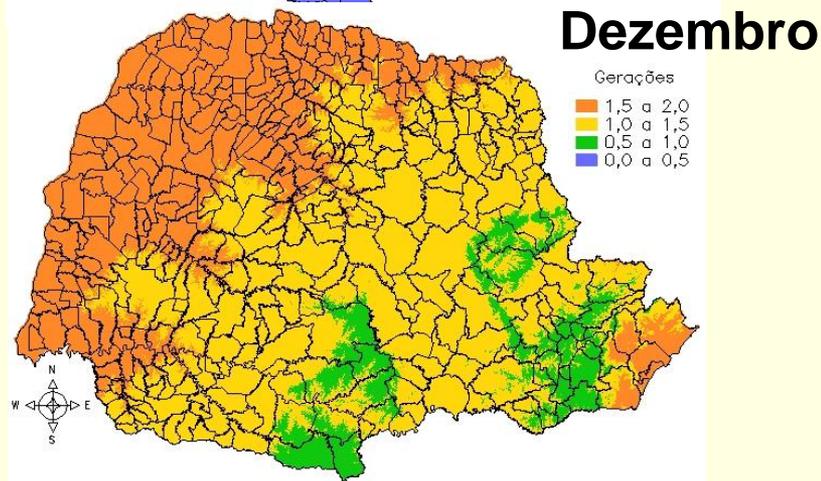
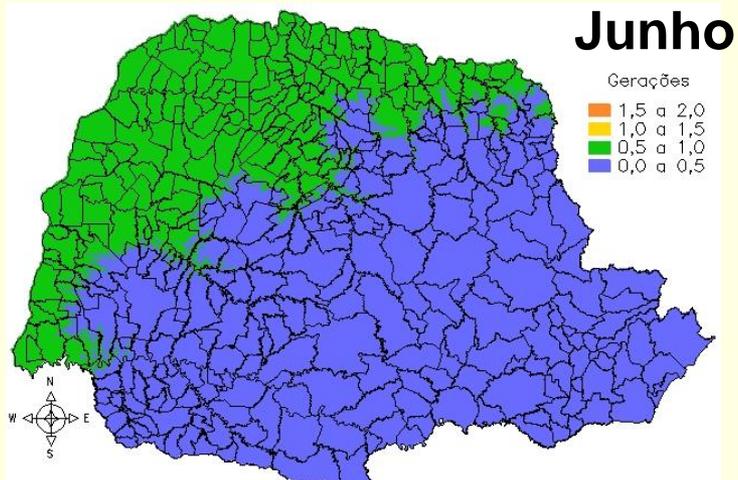
Latência: 8 a 12 dias (21 dias)

Somente adultos transmitem (até o final da vida)

Transmissão: 1 hora ou mais

Não ocorre transmissão transovariana

Zoneamento de *D. citri*



MANEJO DO HLB NO PARANÁ

**MUDA SADIA
PRODUZIDA EM TELADO**
(Em área de baixa pressão de inóculo)

INSPEÇÕES DE POMARES

CONTROLE DO VETOR

ELIMINAÇÃO DE PLANTA DOENTE

MANEJO DO HLB

1. Plantio de Mudas Sadias

Produção de mudas somente em ambiente protegido (em área de baixa pressão de inóculo)

Instrução Normativa Nº 10,
de 18/03/2005

Instrução Normativa Nº 32,
de 29/09/2006

**Instrução Normativa Nº 53,
de 16/10/2008**



2. Inspeção de pomares

Inspeção de Chão



HLB Inspeção

Número de Árvores

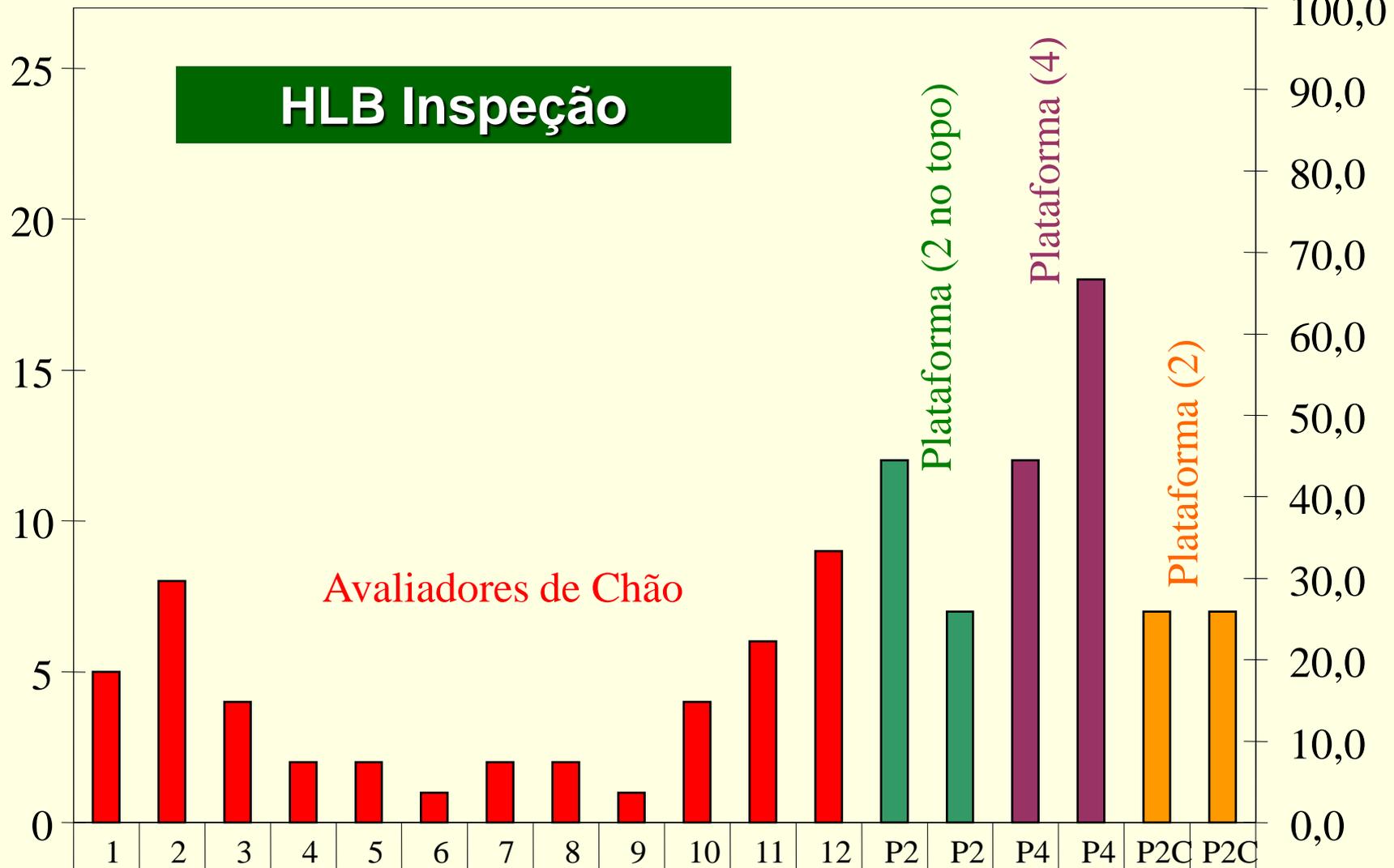
Avaliadores de Chão

Plataforma (2 no topo)

Plataforma (4)

Plataforma (2)

Deteção (%)



■ N	5	8	4	2	2	1	2	2	1	4	6	9	12	7	12	18	7	7
%	18,5	29,6	14,8	7,41	7,41	3,7	7,41	7,41	3,7	14,8	22,2	33,3	44,4	25,9	44,4	66,7	25,9	25,9

MANEJO DO HLB

3. Controle do vetor



4. Eliminação de plantas doentes

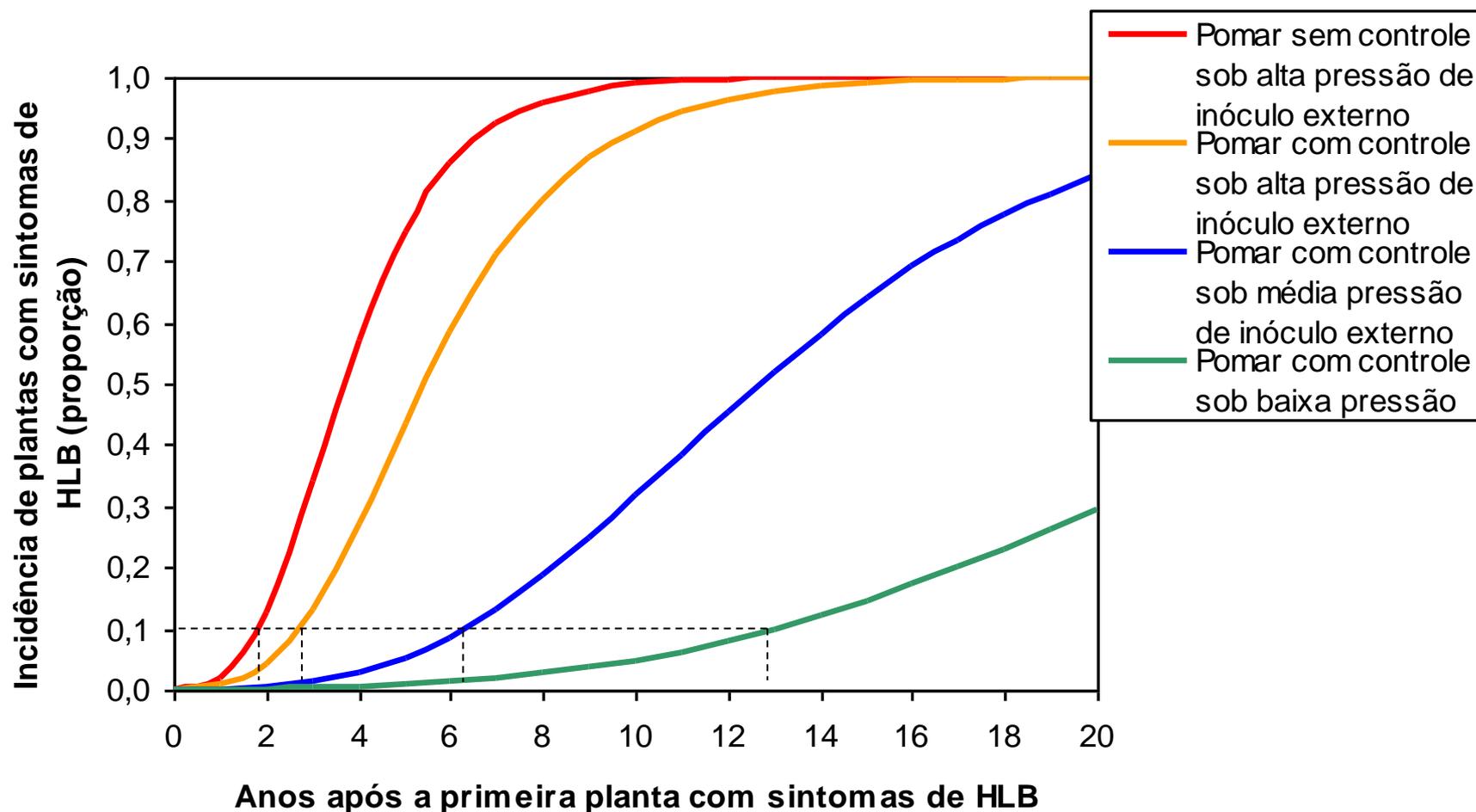
Instrução Normativa Nº 53,
de 16/10/2008



RECOMENDAÇÕES GERAIS PARA PREVENÇÃO E CONTROLE

- **Produção de material propagativo em telado**
- **Plantio de mudas sadias produzidas em telado**
- **Inspeções periódicas dos pomares**
- **Eliminação de plantas doentes**
- **Controle do vetor**
- **Não aplicar produtos que possam mascarar os sintomas de HLB (coquetel de nutrientes)**
- **Não podar plantas doentes**
- **Eliminação de murta e outras plantas hospedeiras da propriedade ou vizinhança**

Padrão temporal das plantas com sintomas de HLB



Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência ao HLB

APP/IAPAR

Não existe resistência ao HLB entre as variedades comerciais de citros

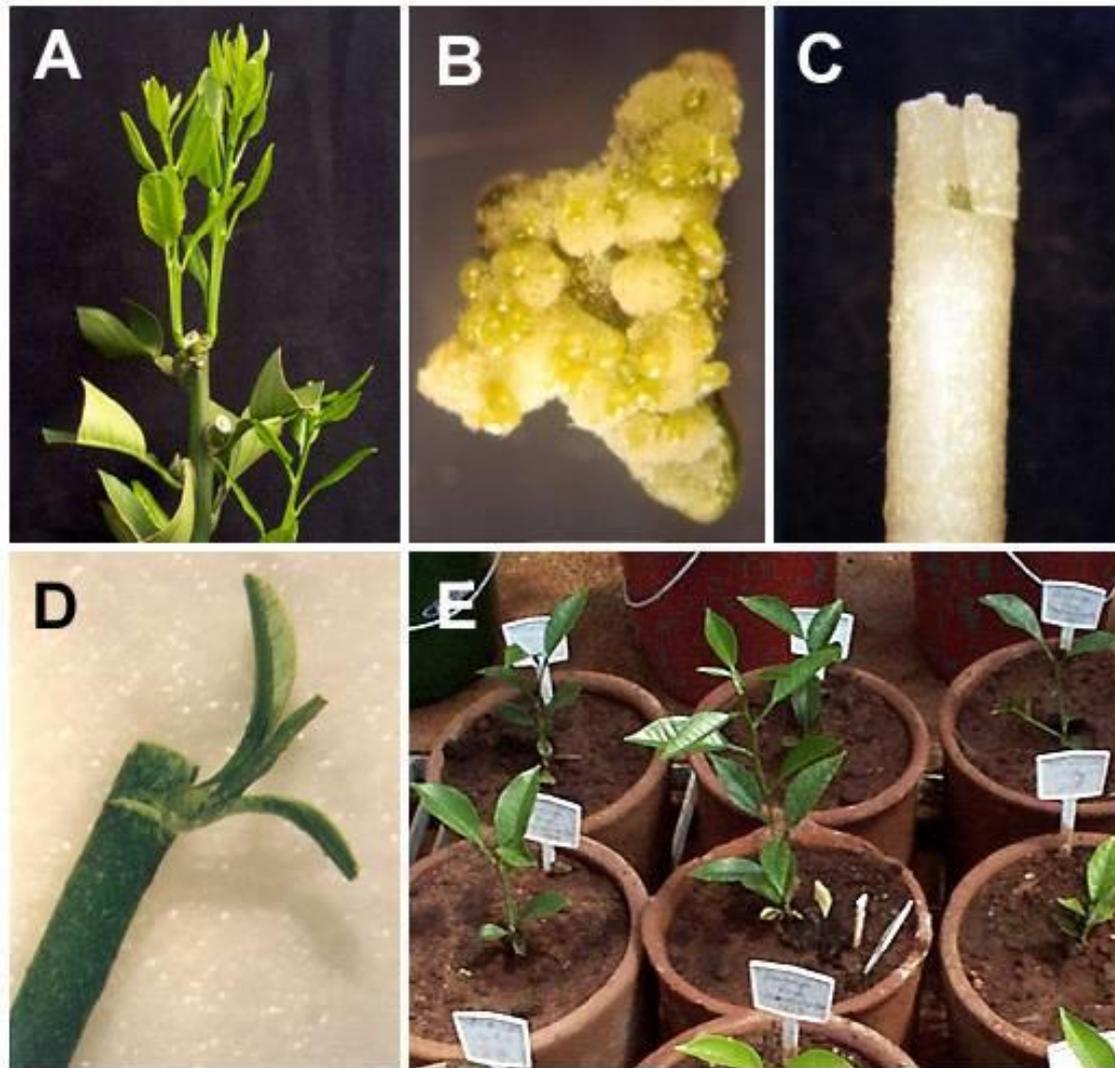
Desenvolvimento de plantas transgênicas seria a única forma de obter plantas de variedades comerciais de citros com resistência ao HLB

Projetos financiados pelo FINEP, FUNDECITRUS e CNPq



Trabalhos de transformação de plantas iniciados em 1998 para resistência ao cancro cítrico

Protocolo de regeneração de planta



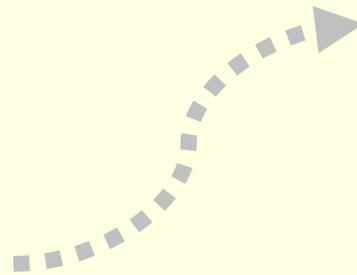
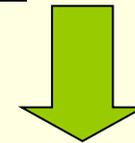
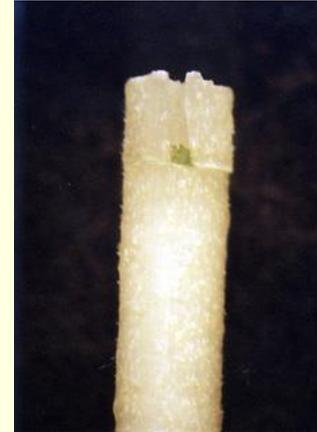
APP/IAPAR

Sistema de obtenção de planta transformada

Seleção de transformante



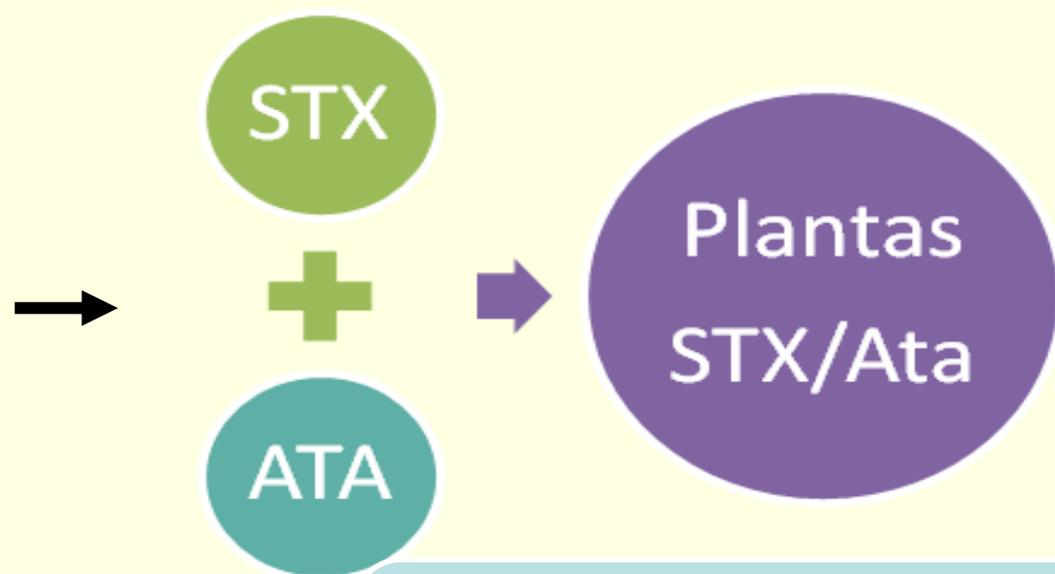
Microenxertia



enraizamento



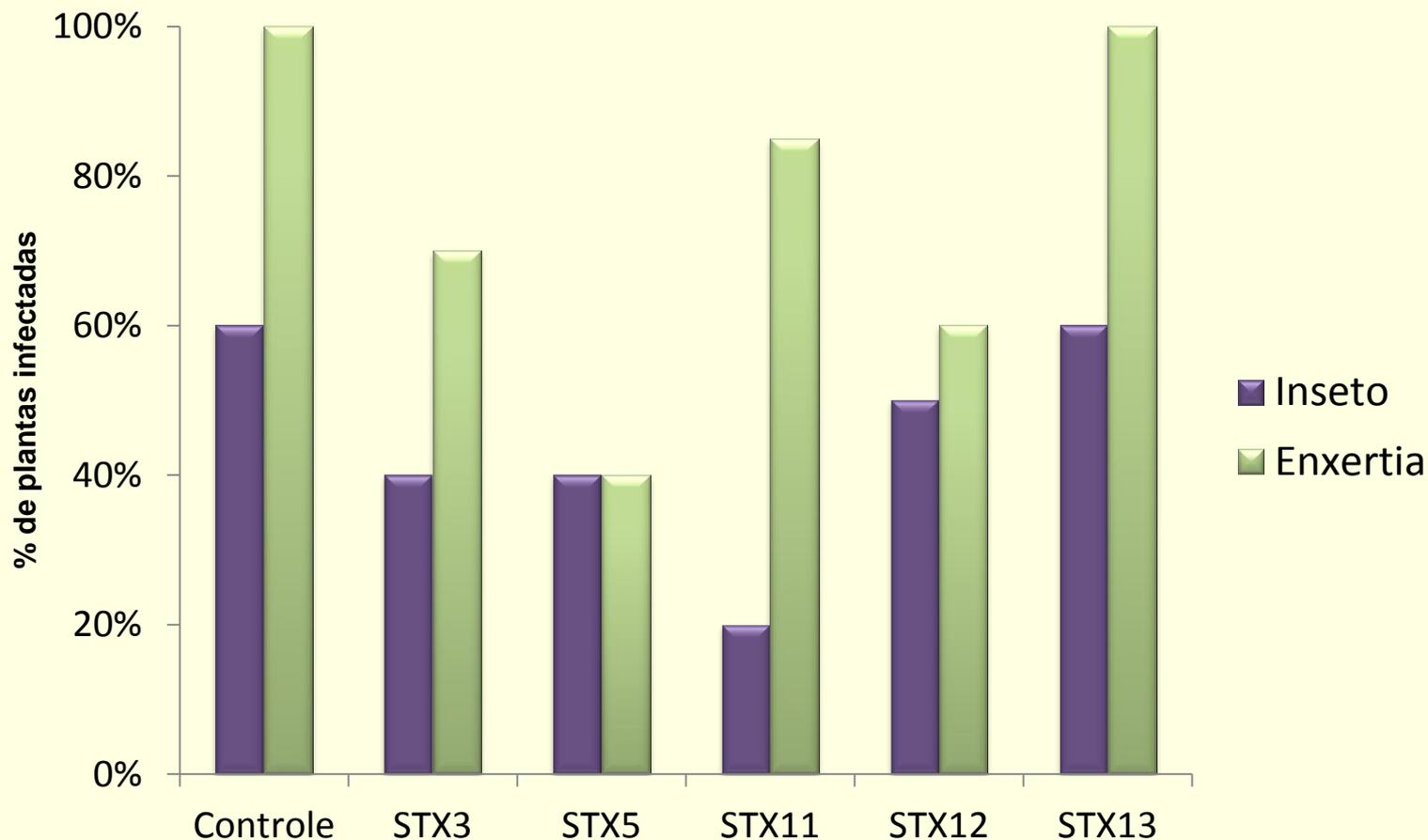
Transformação



+ de 100 eventos de copa e porta-enxerto transgênicos estão em teste

Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência ao HLB

APP/IAPAR



Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência ao HLB

APP/IAPAR

Laranja Pera inoculada com bactéria do HLB



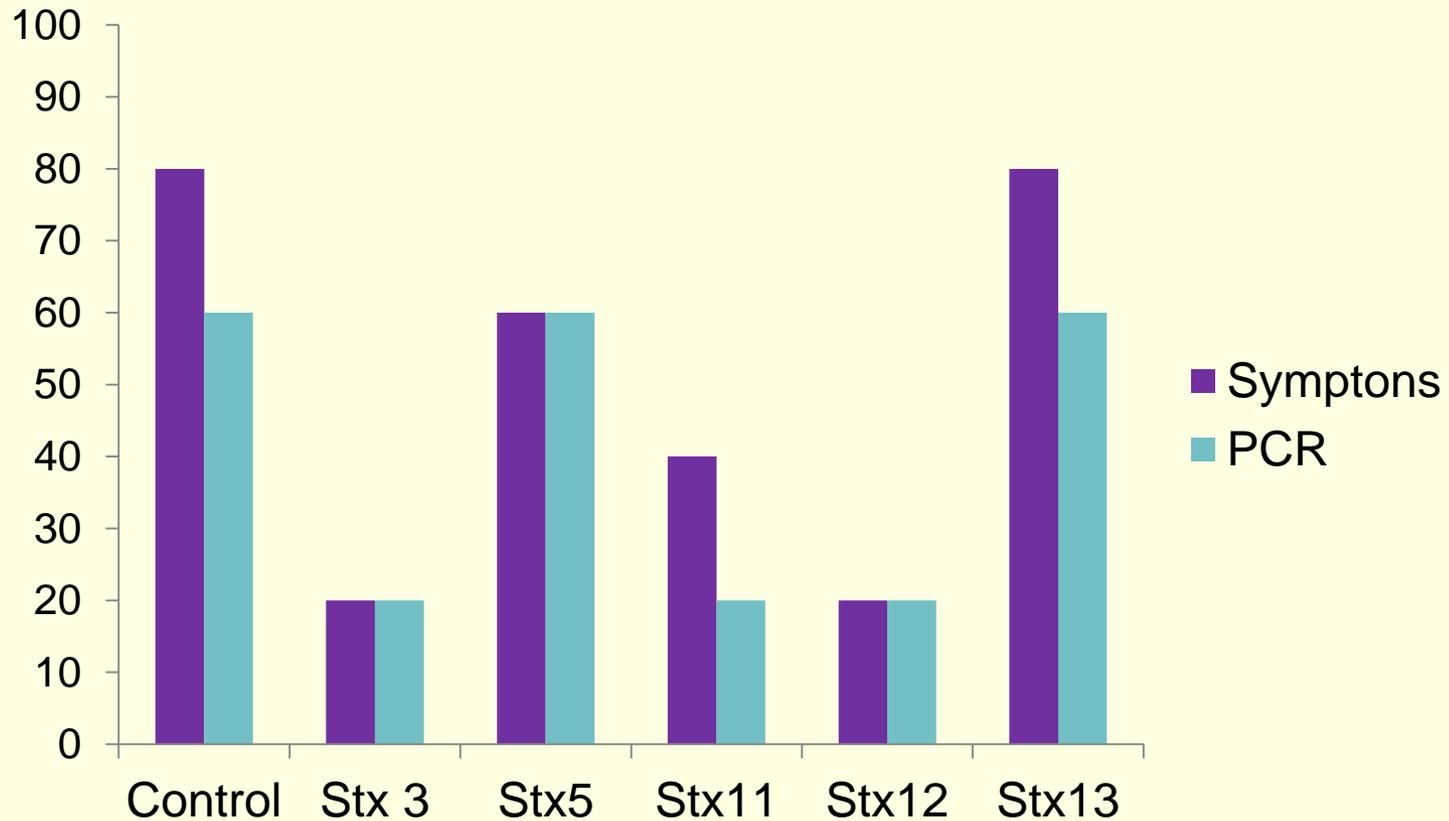
Transgênicas - stx



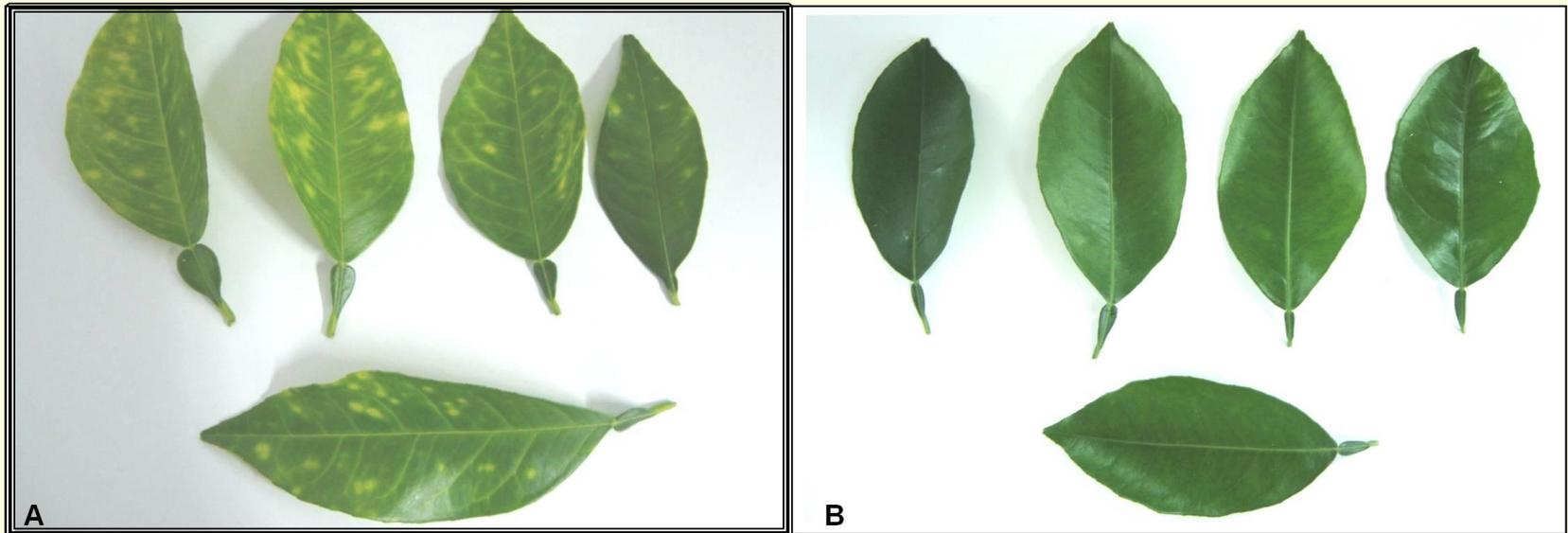
Não transgênica

Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência à CVC

APP/IAPAR

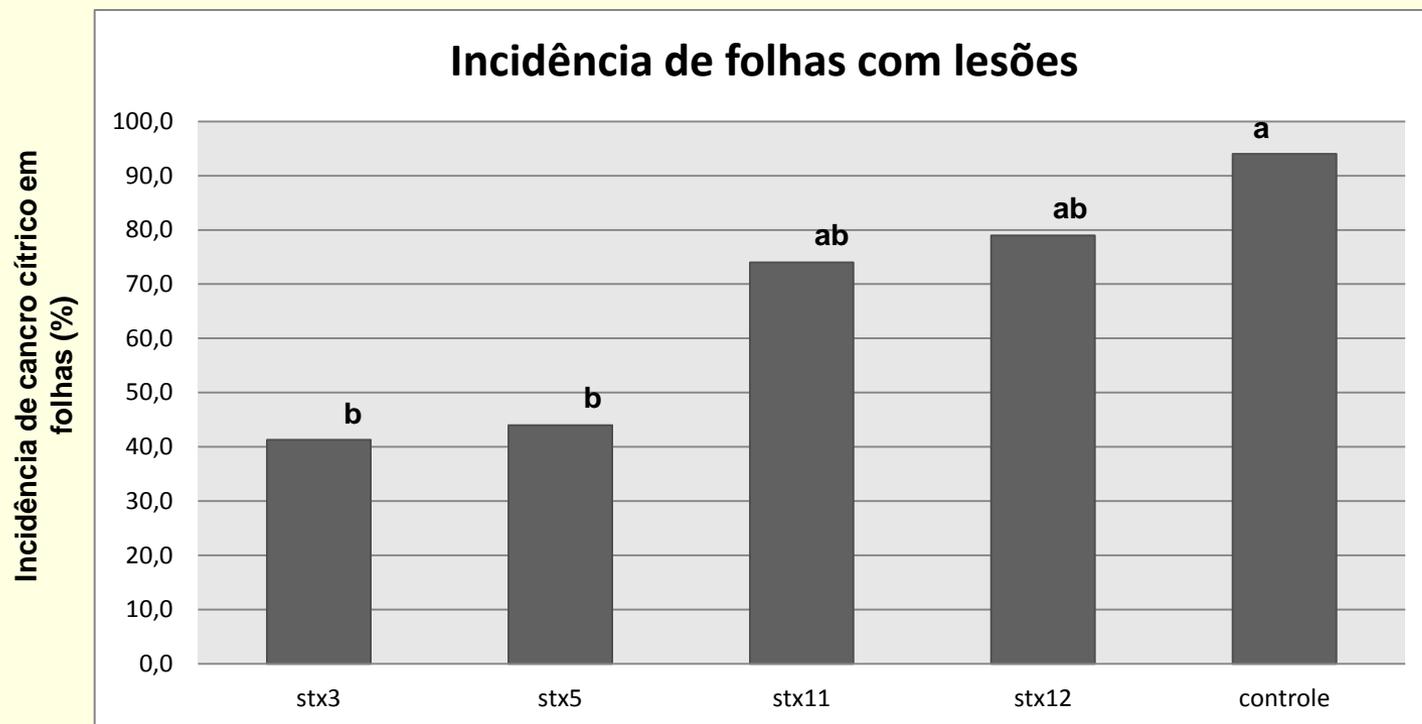


Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência à CVC



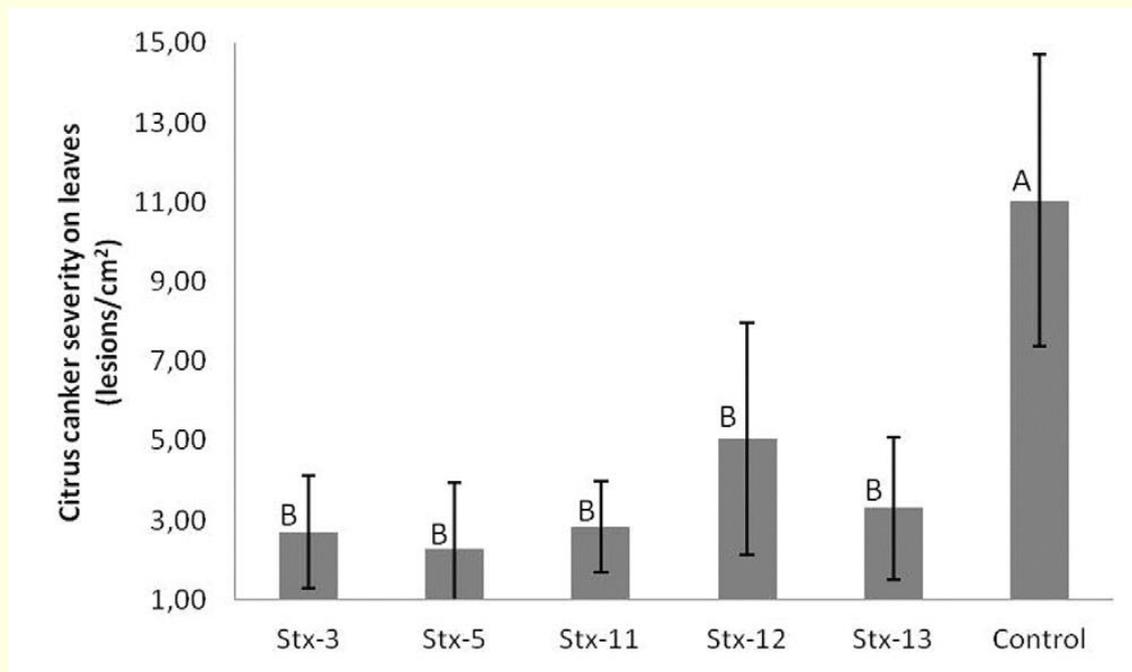
Symptoms of CVC in leaves of citrus plants inoculated with *Xylella fastidiosa*. A) Non-transformed control plants and B) transgenic plants (STX-12).

Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência ao Cancro Cítrico



Incidência de cancro cítrico em folhas de plantas transformadas com o gene *STX-IA* e não transformadas (controle), 32 dias após a inoculação. Cada valor equivale a valores médios obtidos de 20 folhas de sete plantas por tratamento. *Médias com o mesma letra não são significativamente diferentes a ($P \geq 0,05$) pelo teste de Duncan. Dados transformados em "Log x" na base 10. CV: 14,58%

Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência ao Cancro Cítrico



Severidade de cancro cítrico (média de lesões/folha) em plantas transformadas com o gene *STX-IA* e não transformadas (controle). *Médias com o mesma letra não são significativamente diferentes a ($P \geq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Desenvolvimento de plantas transgênicas para resistência ao Cancro Cítrico

Controle



STX-3





MUITO OBRIGADO!!!