Curso para Habilitação de Responsáveis Técnicos para Emissão de CFO/CFOC

2021

ADAPAR
Agência de Defesa Agropecuária do Paraná

AGRONOMIA
Universidade Estadual de Maringá

Departamento de Agronomia
Universidade Estadual de Maringá

William Mário de Carvalho Nunes

Engenheiro Agrônomo - UEM - 1984
Mestre *em Fitopatologia - ESALQ/USP - 1994*
Doutor *em Proteção de Plantas* - UNESP - 1999
Professor *de Fitopatologia do curso de graduação em Agronomia*
Professor *do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PGA)*
Chefe *do Departamento de Agronomia (DAG)*

ENADE NOTA 5 AGRONOMIA UEM

Programa de Pós-graduação em Agronomia PGA/UEM Conceito 6 Programa de Excelência CAPES

Parte 3

DIA 15/10/21 – SEXTA-FEIRA	
Aspectos sobre classificação taxonômica da praga, monitoramento, tipos de armadilhas, levantamento e mapeamento da praga em condições de campo, identificação, coleta, acondicionamento e transporte da amostra, bioecologia, sintomas, sinais, plantas hospedeiras, ações de prevenção e métodos de controle	
08:00 – 09:00 h	Praga Quarentenária Presente – Pinta Preta dos Citros *(Phyllosticta citricarpa)* **Eng. Agr. Dr. William Mário de Carvalho Nunes - UEM**
09:00 – 10:00 h	Praga Quarentenária Presente – Cancro Cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri)* **Eng. Agr. Dr. William Mário de Carvalho Nunes - UEM**
10:00 – 10:15 h	Intervalo
10:15 – 11:00 h	Praga Quarentenária Presente – Greening/HLB (*Candidatus* Liberibacter spp.) **Eng. Agr. Dr. William Mário de Carvalho Nunes - UEM**

HUANGLONGBING (HLB) OU GREENING

Fatores limitantes à produtividade

Doenças

Fúngicas e Bacterianas

I – Afetam os orgãos de reserva – 9

II – Danos em tecidos jovens – 3

III – Podridão de colos e raízes – 2

IV – Doenças vasculares – 4

V – Afetam a fotossíntese – 5

VI – Afetam o uso dos fotossintatos – 3

26

Vírus e Viróides

Vírus - 6

Viróides - 2

8

Fatores limitantes à produtividade

Doenças

Bacterianas

I – Afetam os orgãos de reserva

II – Danos em tecidos jovens

III – Podridão de colos e raízes

IV – Doenças vasculares – 1: **CVC***

V – Afetam a fotossíntese – 1: **Cancro cítrico**

VI – Afetam o uso dos fotossintatos – 3: **HLB***, **Stubborn***, **Galha lenhosa***

5

***agentes causais alojam-se nos vasos condutores das plantas**

Doença bacteriana relacionadas aos vasos condutores*

Grande desafio:

"Nós ainda só podemos prevenir"

Ainda não se desenvolveram produtos comerciais *EFICIENTES* e de caráter curativo



O Tetraedro de doenças transmitidas por insetos



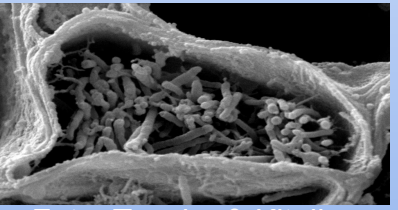


Foto: Tanaka & Kitajima

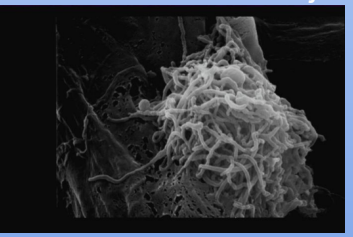


Foto: M. Davis

Bactéria



vetor





Hospedeiro



Greening / huanglongbing (HLB)

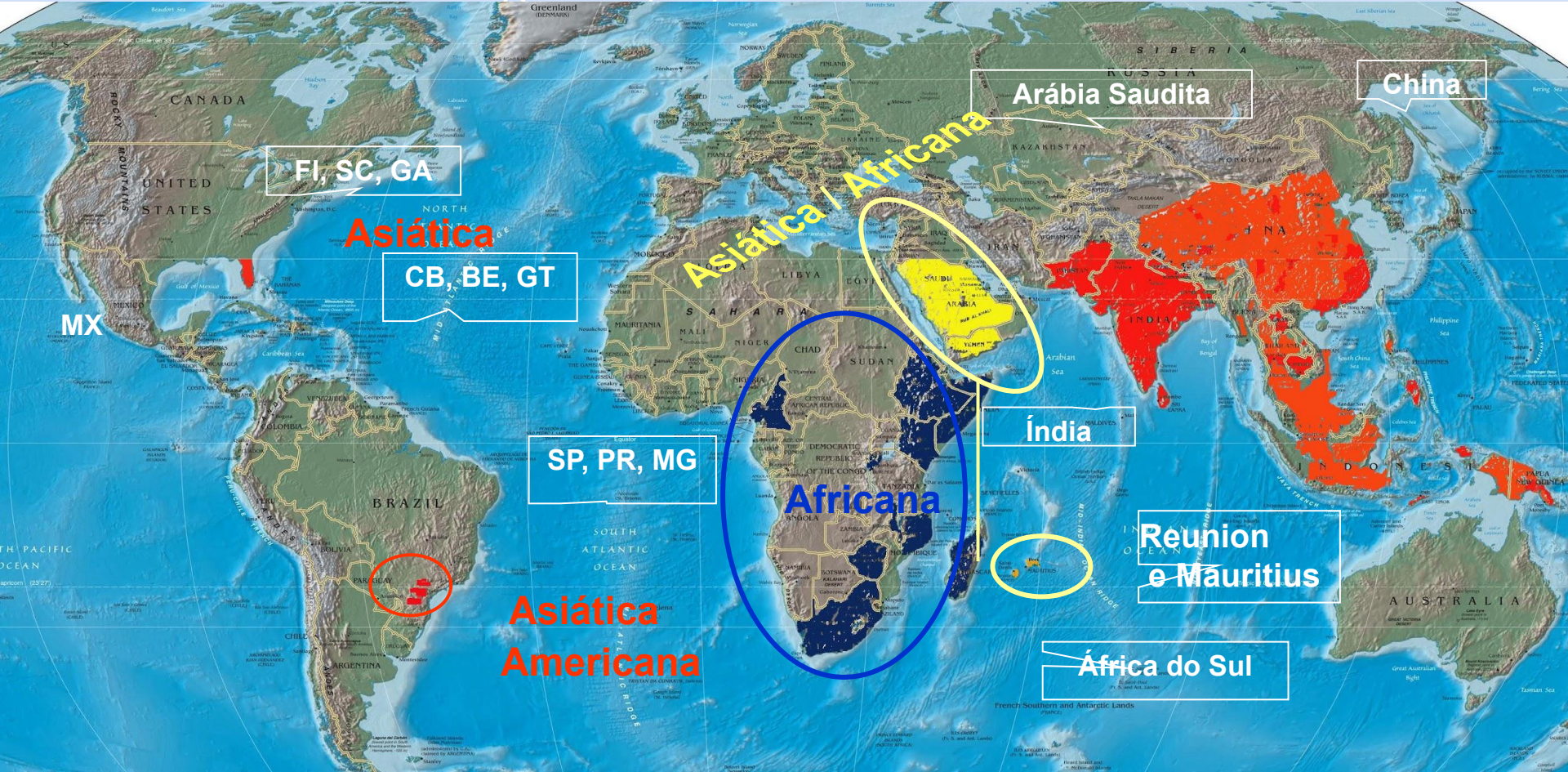


- China: “yellow shoot disease”, 1890
- Filipinas: “leaf mottle”, 1921
- India: “dieback”, 1929
- África do Sul: “**greening**”, 1937
- Taiwan: “likubin (decline)”, 1940
- Indonésia: “vein phloem degeneration”, 1940
- IOCV – 1995 : “huang long bing” – HLB “**黄龙病**”

↓

“yellow disease”

Ocorrência do HLB no mundo



HLB: Agente causal

Bactéria

- Gran negativa (ME - Garnier et al., 1984)
- Vasos de floema
- Não cultivada em meio de cultura



Microscopia transmissão floema – laranja doce (Kitajima & Tanaka)

***Candidatus* Liberibacter spp..**

***Ca*. Liberibacter asiaticus**

***Ca*. Liberibacter africanus**

***Ca*. Liberibacter americanus**

16Sr grupo IX (BR)

Fitoplasma

..... (China)

SINTOMAS

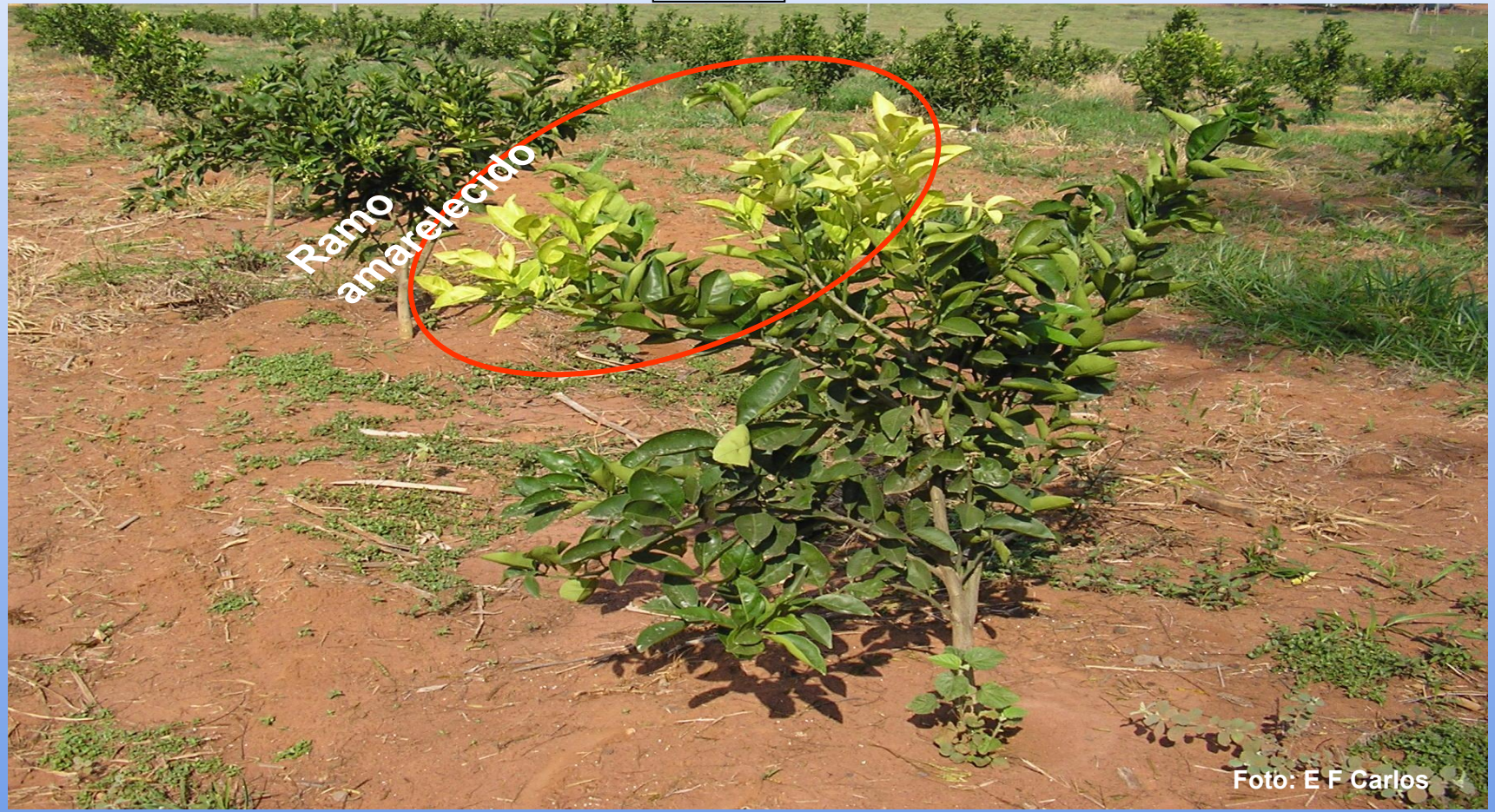


Laranjas doce

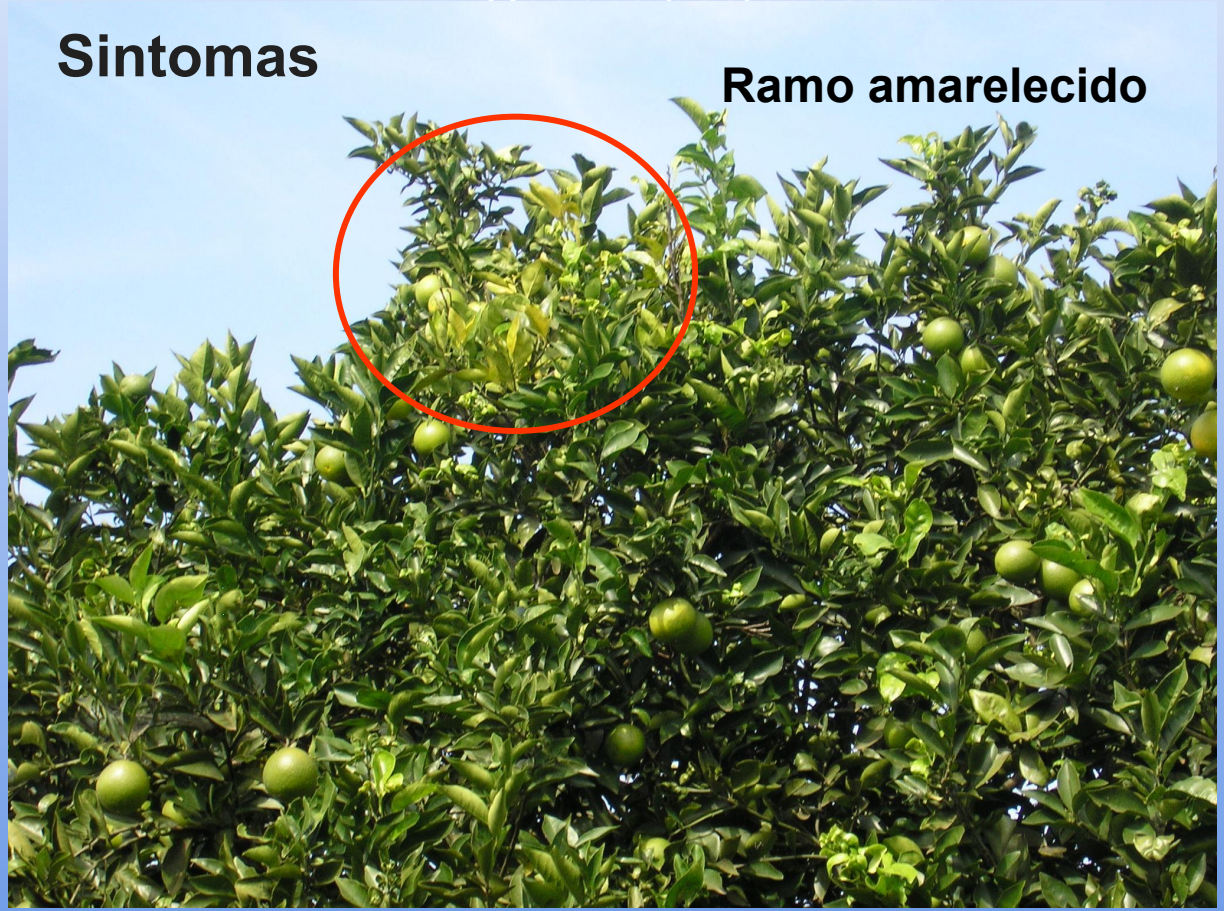
Foto: E F Carlos

Sintomas

HLB



HLB



HLB

Sintomas





HLB

Sintomas



HLB

Sintomas

Outros





Associados a folhas novas e temperaturas amenas

HLB

Sintomas

Sintomas que podem causar duvidas



Gomose





Foto: FUNDECITRUS

HLB



Sintomas

Sintomas não associados e que podem causar dúvidas

. Danos no tecido do floema





Rubelose

Sintomas

Sintomas não associados e que podem causar duvidas

Deficiência mineral: Zn





Sintomas

Sintomas não associados e que podem causar duvidas

Deficiência mineral: Zn





HLB

Sintomas

Passos para identificação



~~Gomose~~

~~Def. mineral~~

~~Atrofia de vasos do floema:~~
- . Rubelose
- . Insetos
- . Danos mecânicos

HLB

Sintomas



Passos para identificação



laranja doce

Sintomas em outras espécies

Tangerinas e Hibridos









Sintomas em outras espécies

Limas acidas

Sintomas não específicos

Problema Quebra-galho

viroides



DIAGOSTICO DO AGENTE CAUSAL





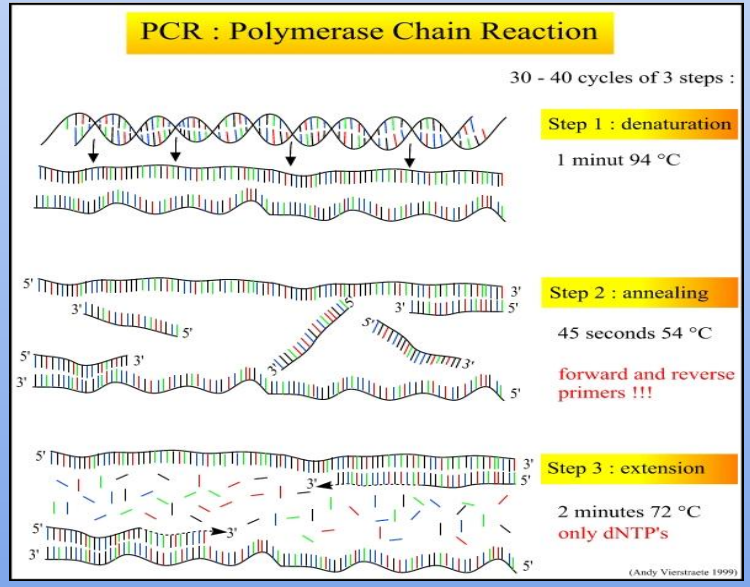
HLB

Diagnóstico

1. *Ca*. Liberibacter – não cultivada em meio de cultura !
2. *Ca*. Liberibacter – baixo título
3. *Ca*. Liberibacter – floema

PCR

***Metodologia* específica para cada espécie de Liberibacter.**



Diagnóstico

***Ca*. L. asiaticus e *Ca*. L. americanus**

Exemplificando ….

PCR



Plantas e Psilideos

Diagnóstico

PCR quantitativo em tempo real

Dragão amarelo



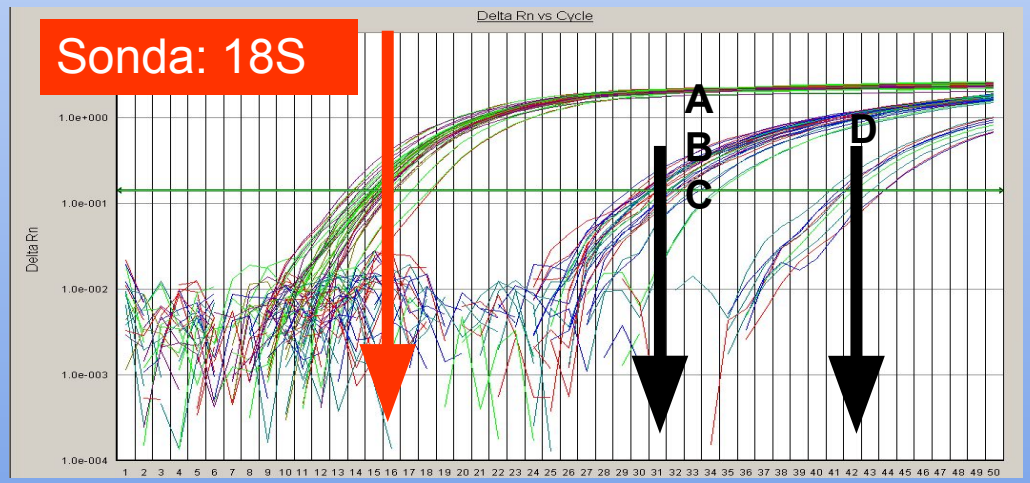
Clorose assimétrica



Sem sintoma



Exemplificando ….



Detecção em folhas sem sintomas

Desvantagem: $ 5+ → PCR conv.

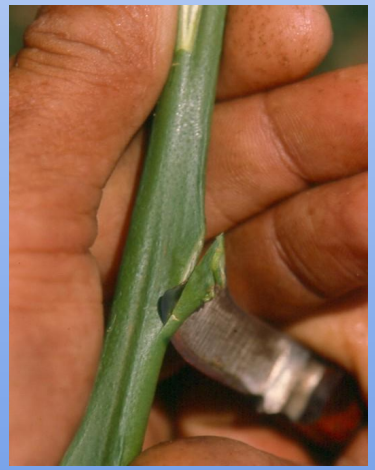
ΔCt = CtD – CtABC = 42 – 31 = 11 ciclos: ABC > D $2^{*11} = 2048$ x

Fonte: EF Carlos

Transmissão

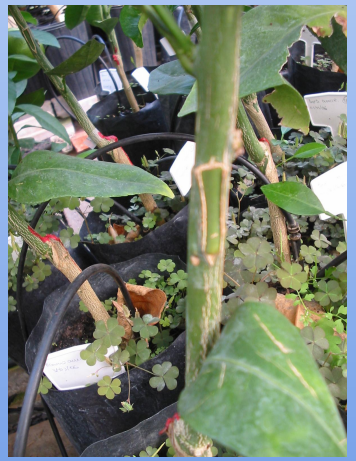
1. Borbulhas

A perpetuação / transmissão de Liberibacter através de borbulha de ramos sintomáticos já é conhecida de longa data.





perpetuação



transmissão

Transmissão

1. Borbulhas

- A frequência de plantas doentes varia de acordo com a espécie de Liberibacter, planta e época do ano!

Grafting season	No. plants diseased/ No. plants grafted	Percentage
Test 1		
1976 – Nov.	21/30	70.0
1977 – Jan.	6/14	42.9
Mar.	6/8	75.0
May	1/21	4.8
Jul.	0/22	0.0
Sep.	2/15	13.3
Test 2		
1979 – Feb.	29/30	96.7
Apr.	14/20	70.0
Jun.	1/9	11.1
Aug.	6/9	66.7
Oct.	18/19	94.7
Dec.	18/22	81.8
1980 – Feb.	24625	96.0
Jun.	4/27	14.8

CLas >>> CLaf

CLas >>> CLam

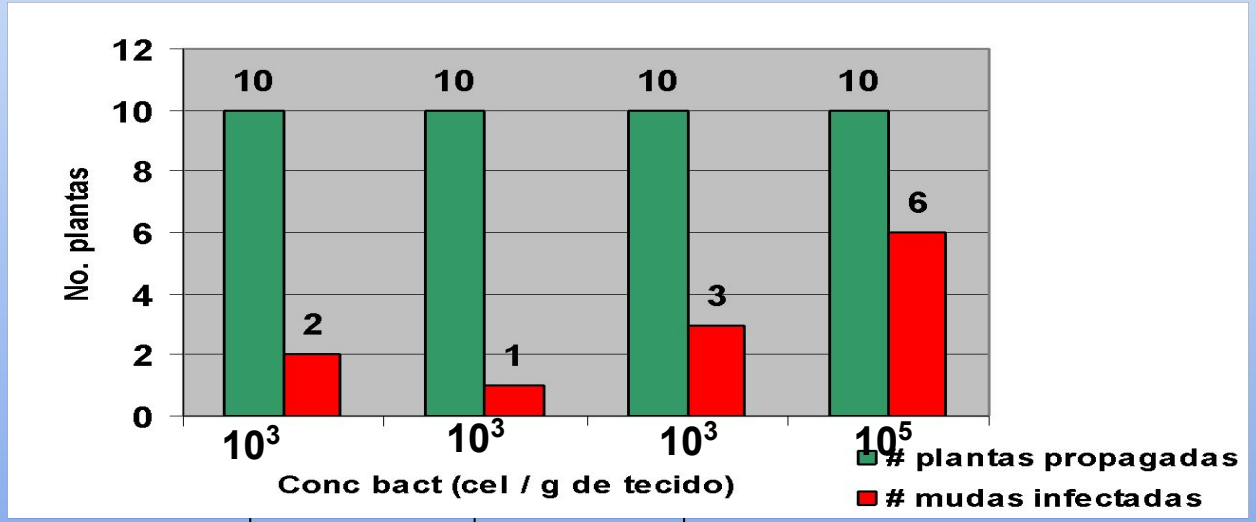
Transmissão

1. Borbulhas

- Liberibacter pode ser propagada por borbulhas de plantas infectadas, porém **sem** sintomas!







Coletta-Filho et al., 2010

30 60 90 120 dias de infec.

Transmissão

1. Borbulha

Termoterapia ?



Transmissão

1. Borbulhas !

Termoterapia ?

RESULTADOS

Porta-enxerto	Fonte borbulha	No. plantas enxertadas	No. plantas avaliadas*	No. plantas PCR positiva
Cravo	ET	3	3	3
Cravo	EN	9	7	7
Cravo	EN sem trat	10	5	5
Cleópatra	ET	3	1	1
Cleópatra	EN	9	1	1
Swingle	ET	3	1	0
Swingle	EN	9	1	1

ET - enxertia de tecido (sem lenho)

EN - enxertia normal, com lenho

EN sem trat - enxertia normal, com lenho porém sem tratamento de termoterapia

*As plantas avaliadas foram aquelas que apresentaram folhas suficientes para a coleta

Transmissão

2. Vetor



Foto: Fundecitrus e UF

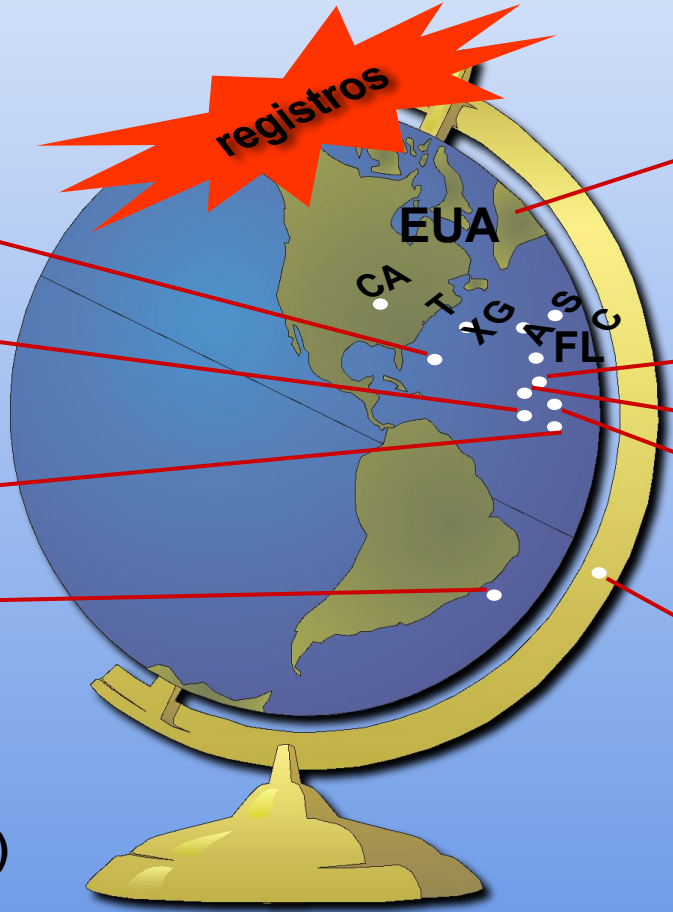
Diaphorina citri

***Ca*. Liberibacter asiaticus**

***Ca*. Liberibacter americanus**

Teixeira et al. 2005
P T Yamamoto

Diaphorina citri nas Américas



1998

México (2002)

Guadalupe (1998)

Venezuela (1999)

Argentina (1997)

Porto Rico (2002)

Cuba (2001)

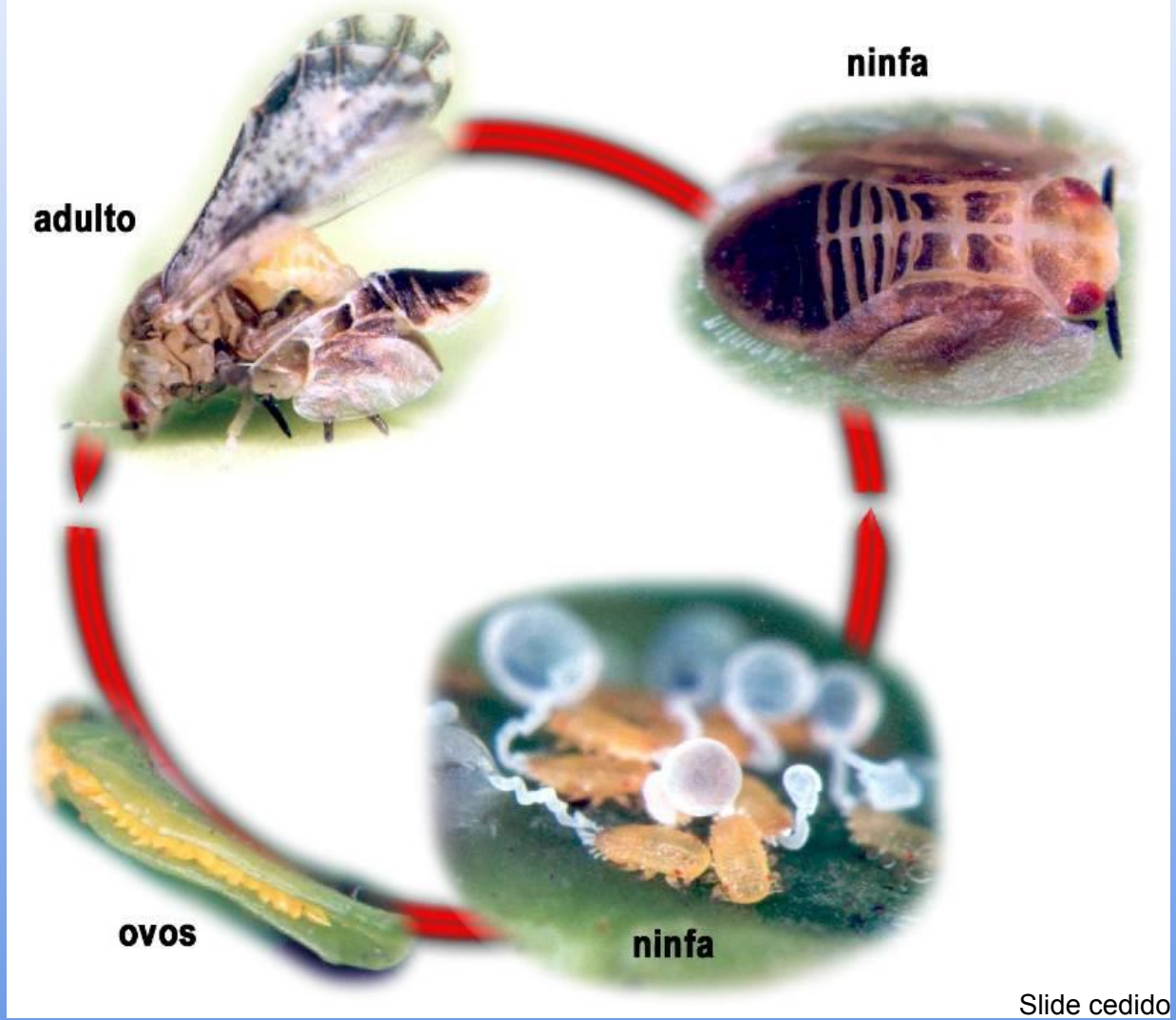
Rep. Dominicana (2001)

Brasil (1942)

(COSTA LIMA, 1942)
(SILVA et al., 1968)

Halbert & Nuñez (2004)

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq



Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

Influência do Ambiente *no desenvolvimento*

Duração média das fases de ovo e ninfa e do ciclo biológico (ovo-adulto) de *D. citri* criado em limão 'Cravo'. UR: 70% e fotofase de 14 h.

Temperatura (ºC)	Ovo	Ninfa	Ciclo biológico
	dias		
18	7,7 a	35,8 a	43,5 a
20	6,4 b	24,5 b	30,9 b
22	5,9 b	23,8 b	29,6 b
25	**4,5 c**	**12,6 c**	**17,1 c**
28	3,2 d	12,2 c	15,4 cd
30	2,9 d	9,4 c	12,4 d
32	2,6 d	9,4 c	12,1 d

Nava et al. 2008

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

Transmissão por formas imaturas e adultos de *Diaphorina citri*

- *Ca.* L. asiaticus é detectado por PCR em ninfas de 2º. e 3º. ínstares (Hung et al. 2004).

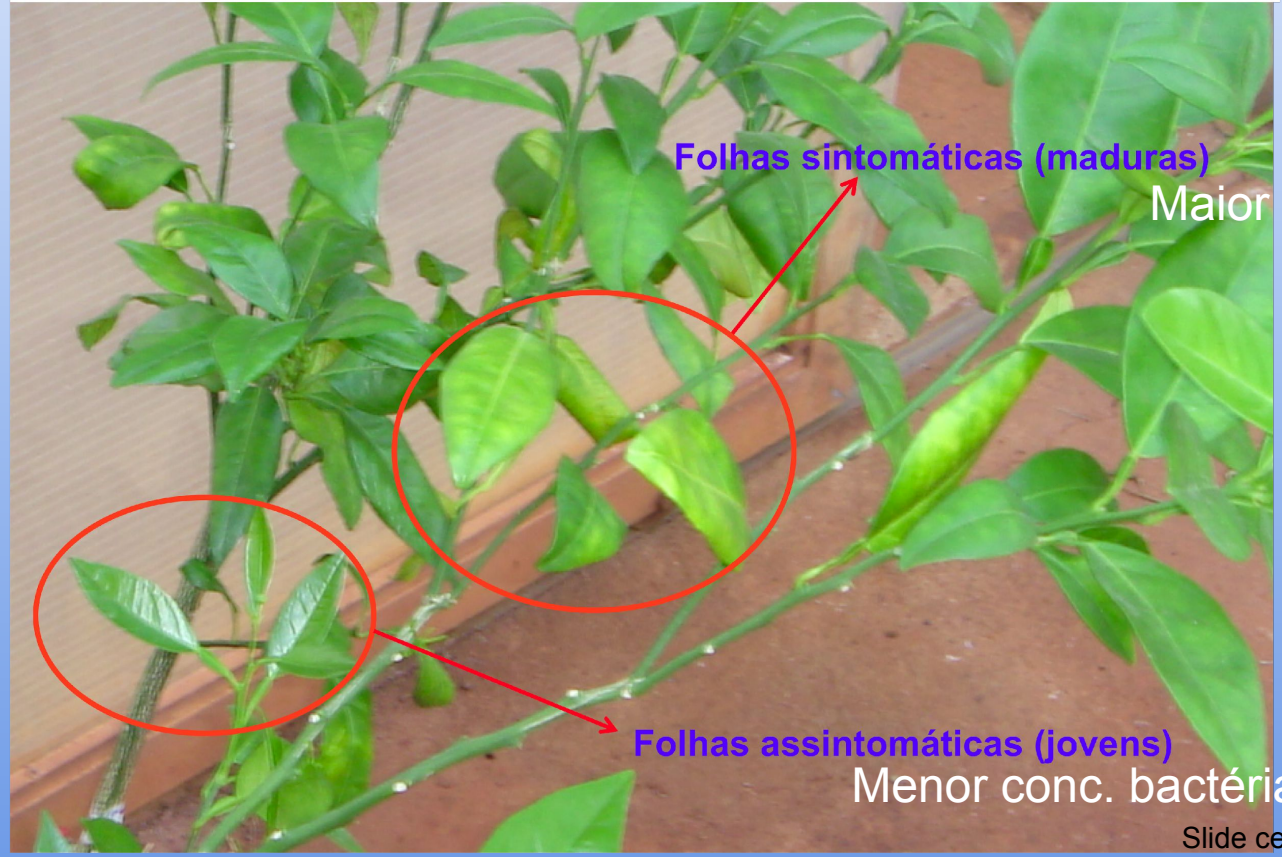
- Ninfas de últimos ínstares (4º. e 5º.) podem transmitir o patógeno (Capoor et al. 1974)

- Adultos podem transmitir patógeno adquirido na fase ninfal (**transmissão após edcise**) (Xu et al. 1988).

***No campo, adultos são mais importantes que ninfas na disseminação (maior mobilidade e longevidade).**

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

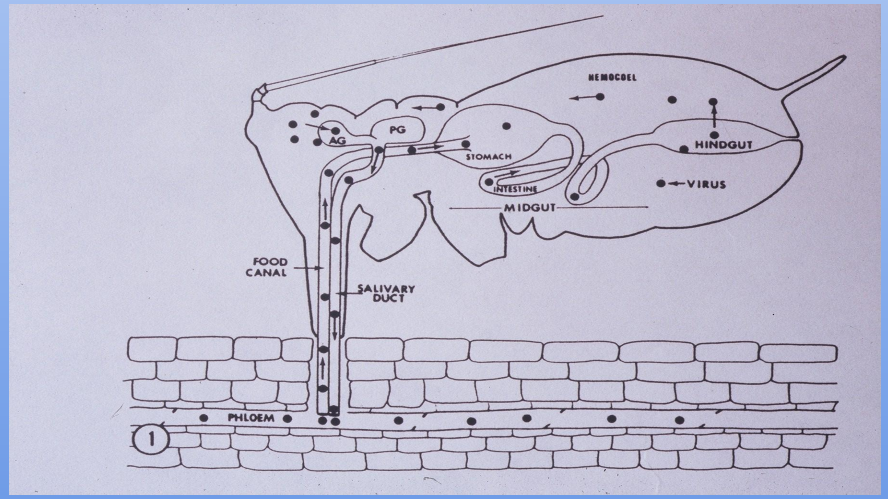
Idade das folhas em plantas infectadas com Ca. L. asiaticus



Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

Presença de brotações em plantas doentes aumenta probabilidade de aquisição de Liberibacter asiaticus

- Aquisição do patógeno é mais eficiente em folhas novas (teste com adultos de *D. citri*; PAA: 96 h)
- Psilídeo demora para localizar floema em folhas maduras (estudos de EPG)



Idade da folha x eficiência de aquisição

Idade da folha na planta-fonte	Proporção de psilídeos infectivos*
Nova	31/57 (54,4%)
Madura	4/40 (10%)

•Proporção de amostras positivas por PCR; 3 psilídeos/amostra
J.P. Bonani (2009)

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

Relação circulativa

Evidências indiretas:

- Existência de periodo latente.
- Retenção após ecdise (ninfa □ adulto)
- Aumento na eficiência de transmissão com o tempo após o término da aquisição (van Vuuren & van den Merwe 1992).

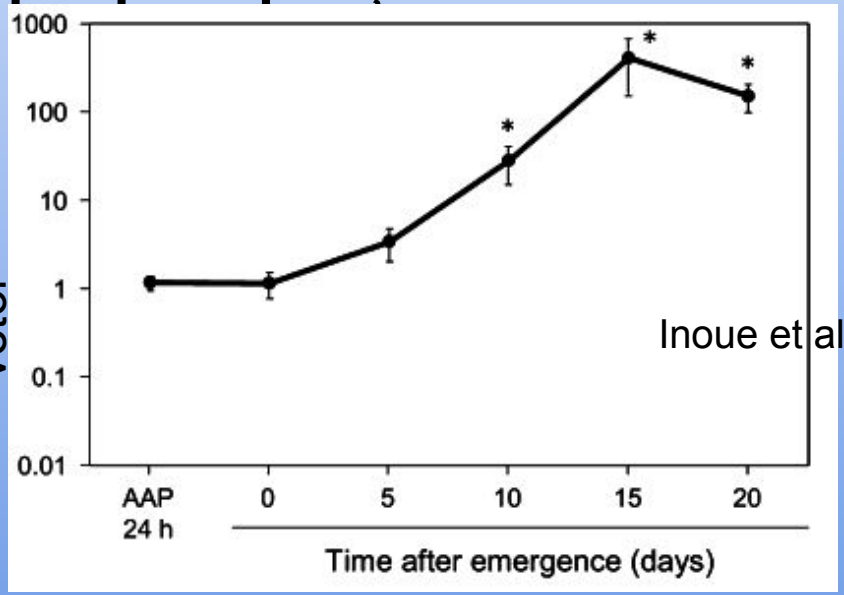
- Longa persistência (3 meses) de *Ca.* L. asiaticus em *Diaphorina citri* (Hung et al. 2004).

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

Relação Propagativa

Evidência direta:

aumento na concentração de Ca. L. asiaticus no vetor (ninfas) com tempo após aquisição



Inoue et al. (2009)

Tempo após emergência (dias)

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

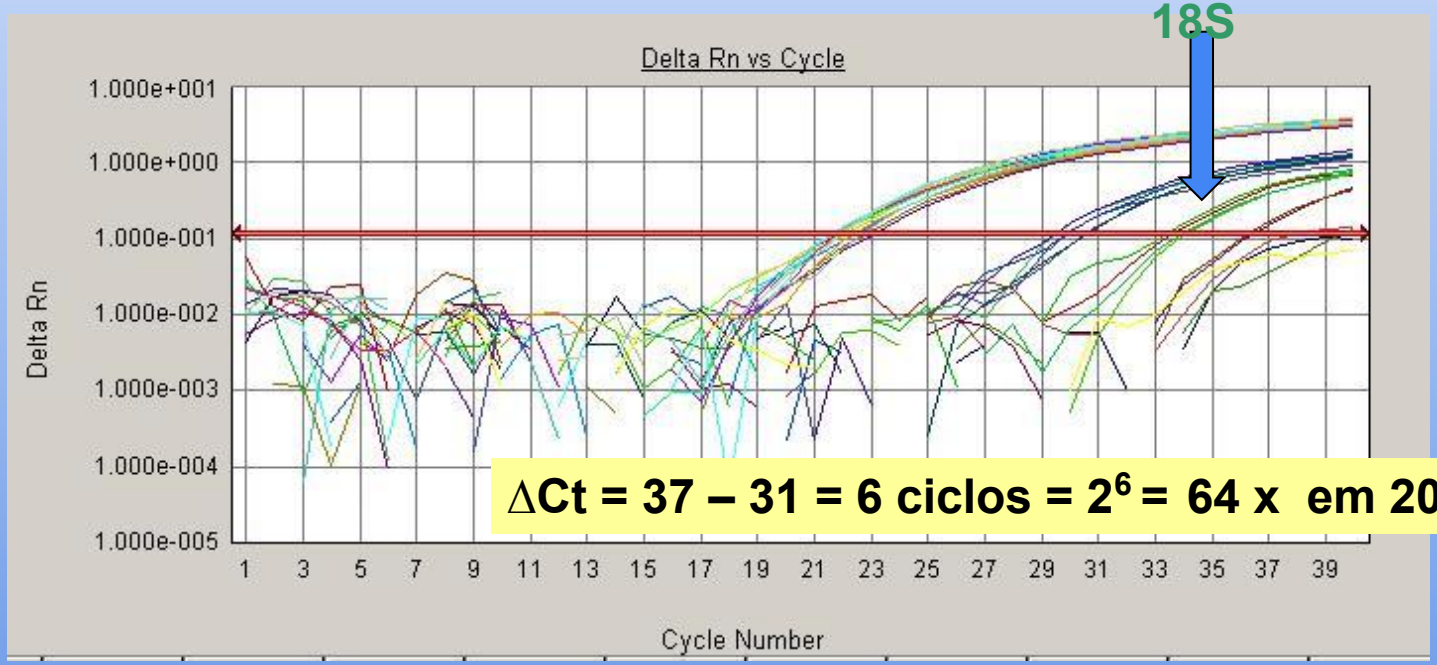
Transmissão

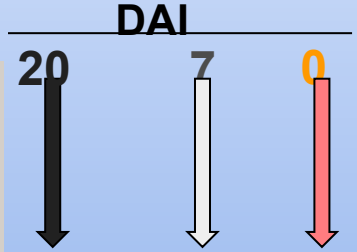
2. Vetor

Multiplicação persistente no vetor

Evidência direta

aumento na concentração de Ca. L. asiaticus no vetor (adulto) com tempo após aquisição

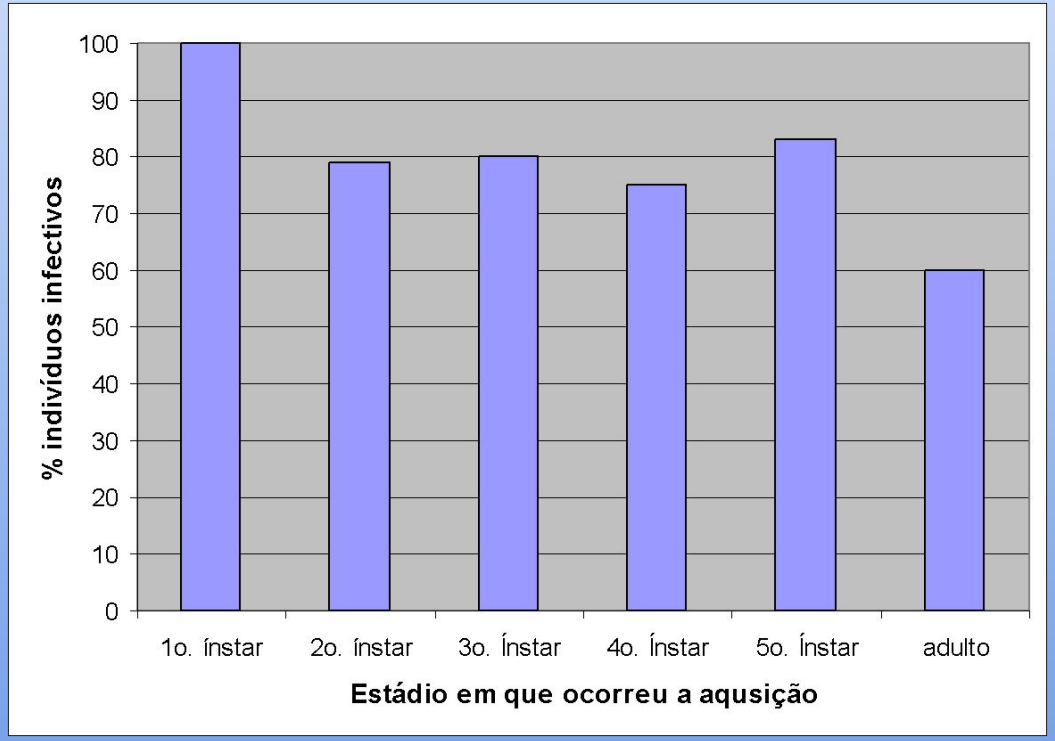




ΔCt = 37 – 31 = 6 ciclos = 2^6 = 64 x em 20 dias

Pslideos adultos: 96 hr de PAA em plantas com CLas

Eficiência de aquisição de *Ca*. L. asiaticus em 48 h por diferentes estádios ninfais e adultos de *D. citri*



PAA: 48 h

Slide cedido – Prof. JS Lopes/Esalq

Pesquisas do NBA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Monitoramento de *Huanglongbing* (HLB) em pomares comerciais do noroeste paranaense

Dra.Bruna Rafaela Barbieri Galbiate
Orientador: Prof. Dr. William Mário de Carvalho Nunes

Maringá, 2021

Objetivo geral

- Analisar dados dos relatórios de HLB;
- Realizar uma inspeção de pesquisa para verificar a incidência de HLB a campo;

A inspeção na propriedade é efetuada por equipe	Própria ☐	Terceirizada ☐
Presença de murta na propriedade (planta hospedeira de greening)?	Sim ☐	Não ☐
Houve eliminação de murta?	Sim ☐	Não ☐

Total de Plantas Inspecionadas	
1º TRIM	2º TRIM

Declaro com a finalidade de atender a Instrução Normativa- MAPA n° 53 de 16/10/2008 – art.7° caput e seu § 1º, que vistoriei todas as plantas cítricas e de murta desta propriedade e eliminei as sintomáticas de Huanglongbing-HLB-(Greening), conforme os dados aqui apresentados.

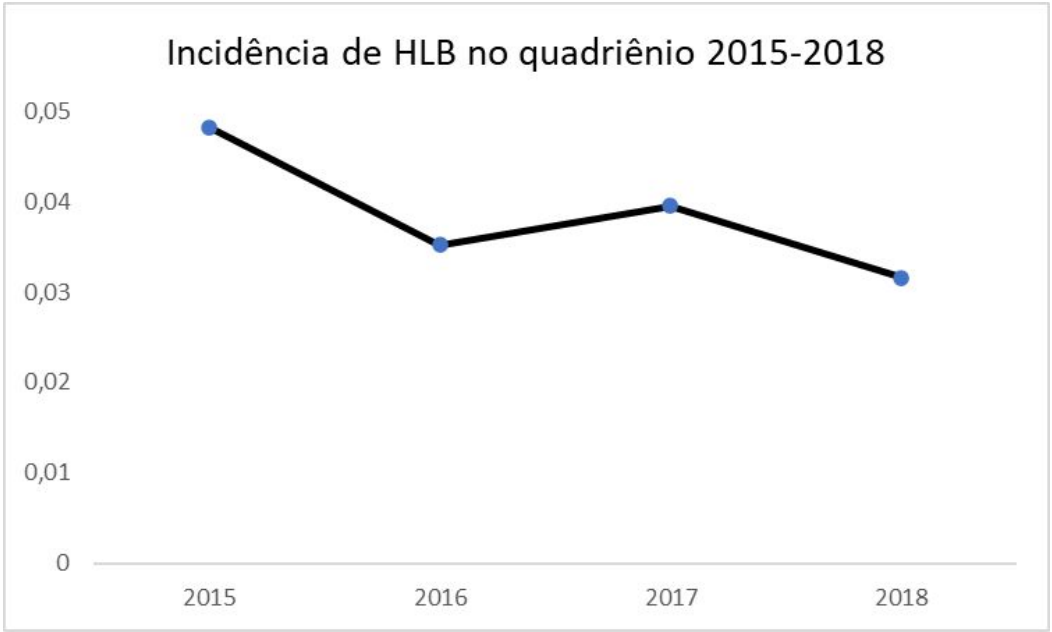
Local e data _____ RG _____

☐ Proprietário ☐ Arrendatário _____

Assinatura

Observações:- (1) Se o declarante for arrendatário, deverá se identificar nesse campo e identificar o proprietário da terra.
Protocolar na Unidade Regional da Agência de Defesa Agropecuária do Paraná – ADAPAR, no qual está localizada a propriedade, sendo o do primeiro semestre até 15 de julho do ano em curso e o do segundo semestre até 15 de janeiro do ano seguinte.

Gráfico 1. Incidência de HLB nos pomares de Nova Esperança – Paraná no quadriênio 2015 a 2018.



Inspeção de pesquisa

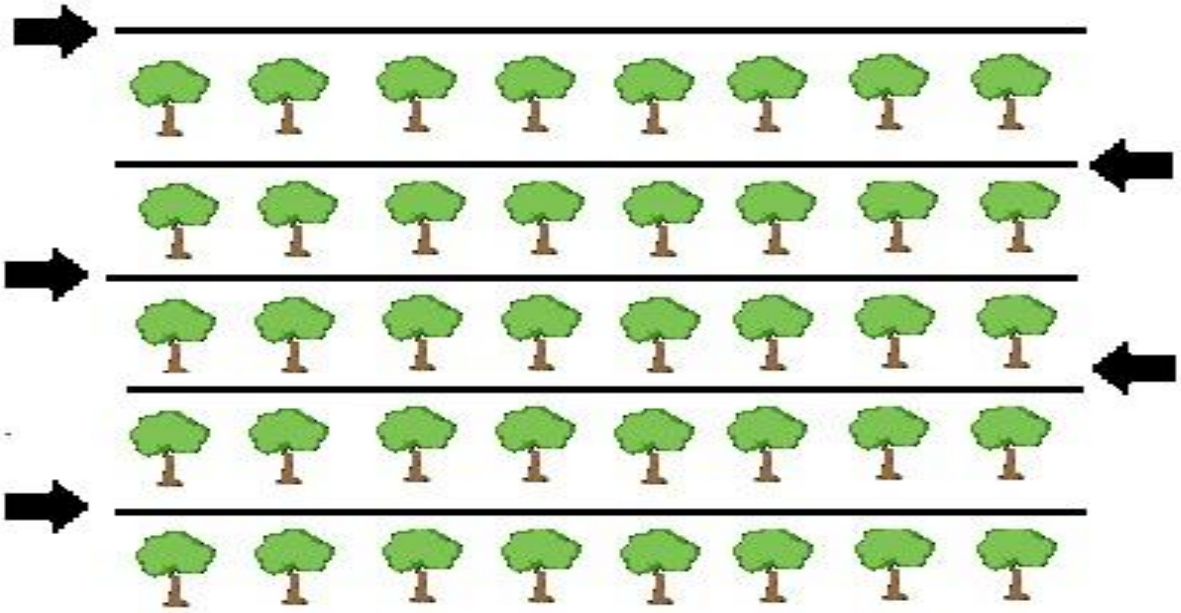


Figura 1. Exemplo de caminhamento realizado no pomar. Fonte: Acervo Pessoal

Tabela 1. Incidência de HLB de acordo com os relatórios entregues à ADAPAR (2015 a 2018) e incidência obtida através da inspeção realizada pessoalmente (INSPEÇÃO).

PROPRIEDADE	2015	2016	2017	2018	INSPEÇÃO
2	2.51 a	2.40 a	3.30 a	1.46 a	4,79
4	3.24 a	2.55 a	2.38 a	2.29 a	45,23
5	2.32 a	2.03 a	2.02 a	2.55 a	36,59
6	2.83 a	2.02 a	2.42 a	2.44 a	37,48
7	2.36 a	2.93 a	2.71 a	3.36 a	55,08
8	5.64 a	4.05 a	4.35 a	4.62 a	31,24
11	3.55 a	2.93 a	2.88 a	1.68 a	19,64

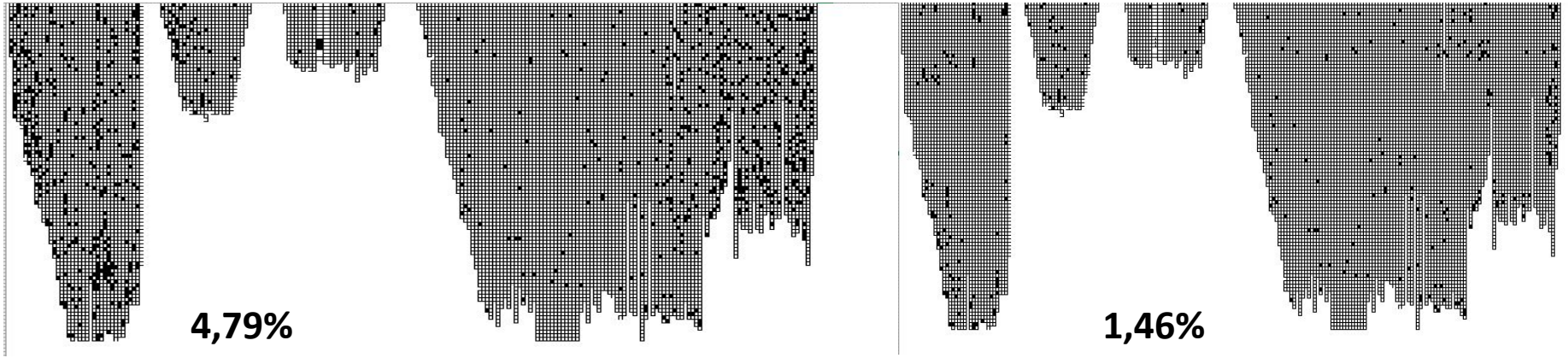


Figura 2. Mapa de incidência da propriedade 2.

Fonte: Acervo Pessoal

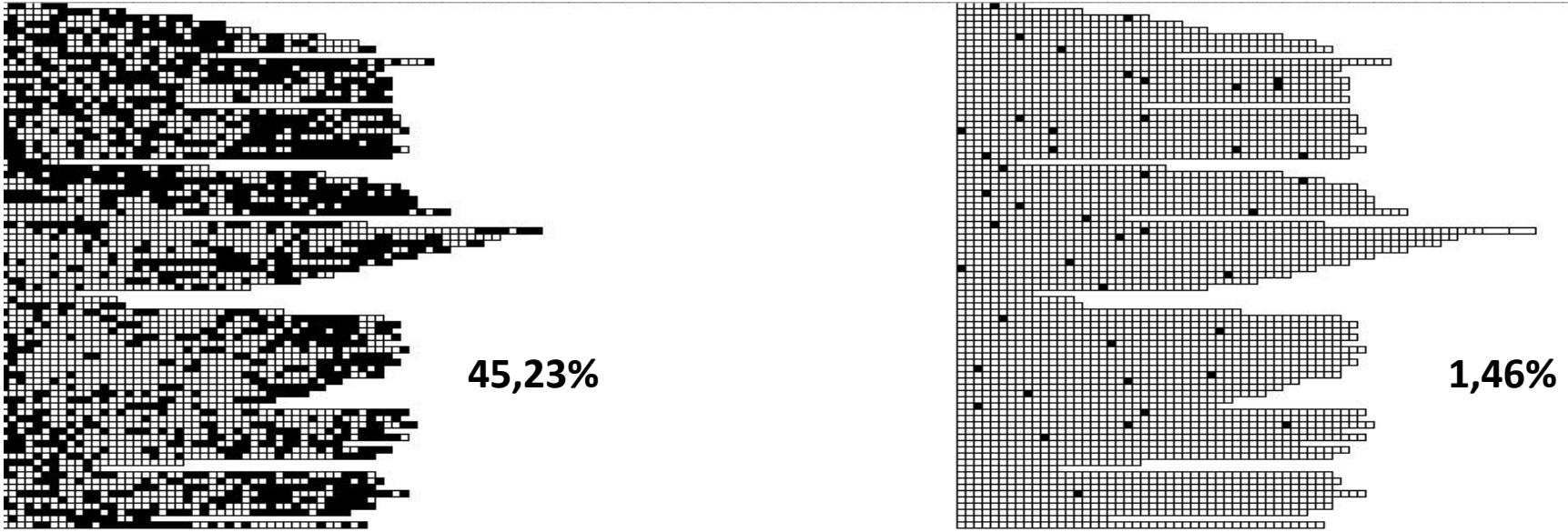


Figura 3. Mapa de incidência da propriedade 4.

Fonte: Acervo Pessoal

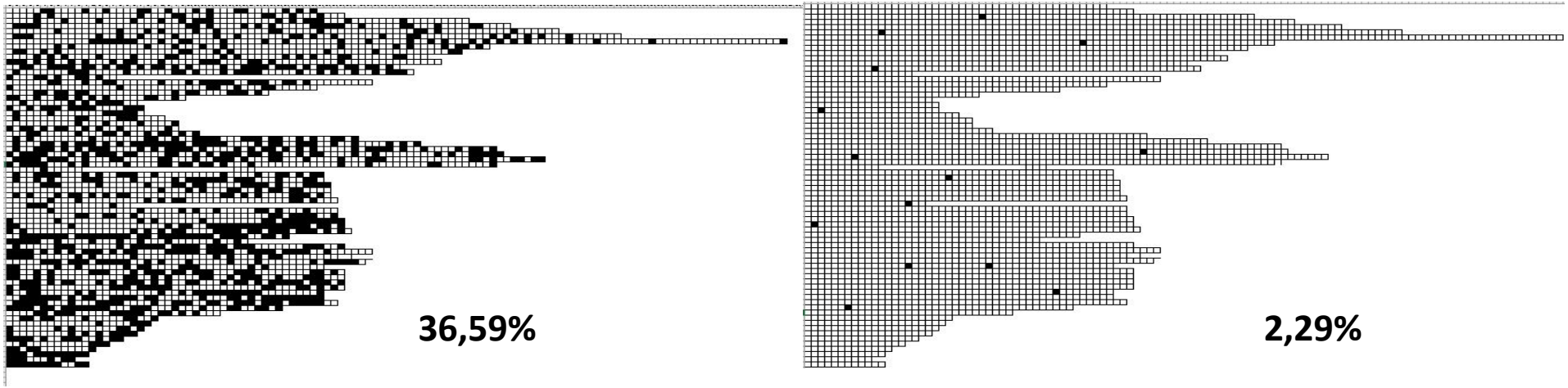


Figura 4. Mapa de incidência da propriedade 5.

Fonte: Acervo Pessoal

Importância do estudo...

- Situação alarmante sobre o HLB a campo!!!!
- Muitos pomares com incidência subestimada e consequentemente maior fonte de inóculo para a doença
- Pomares com incidência próximo de 100% devido ao período de latência da bactéria na planta

NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

Programa de Pós-graduação em Agronomia
PGA/UEM

Monitoramento do Psilídeo dos Citros (*Diaphorina citri)* no Estado do Paraná

Doutorando: Engenheiro Agrônomo Msc. Eduardo Lima Nunes
Orientador: Prof. Dr. Dauri José Tessmann
Mestranda: Engenheira Agrônoma Nayara Nascimento Souza
Orientador: Prof. Dr. William Mário de Carvalho Nunes

Departamento de Agronomia
Universidade Estadual de Maringá


UEM
Universidade Estadual de Maringá


PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Agricultura
e Abastecimento


ADAPAR
Agência de Defesa Agropecuária do Paraná


NBA
Núcleo de Pesquisa em
Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

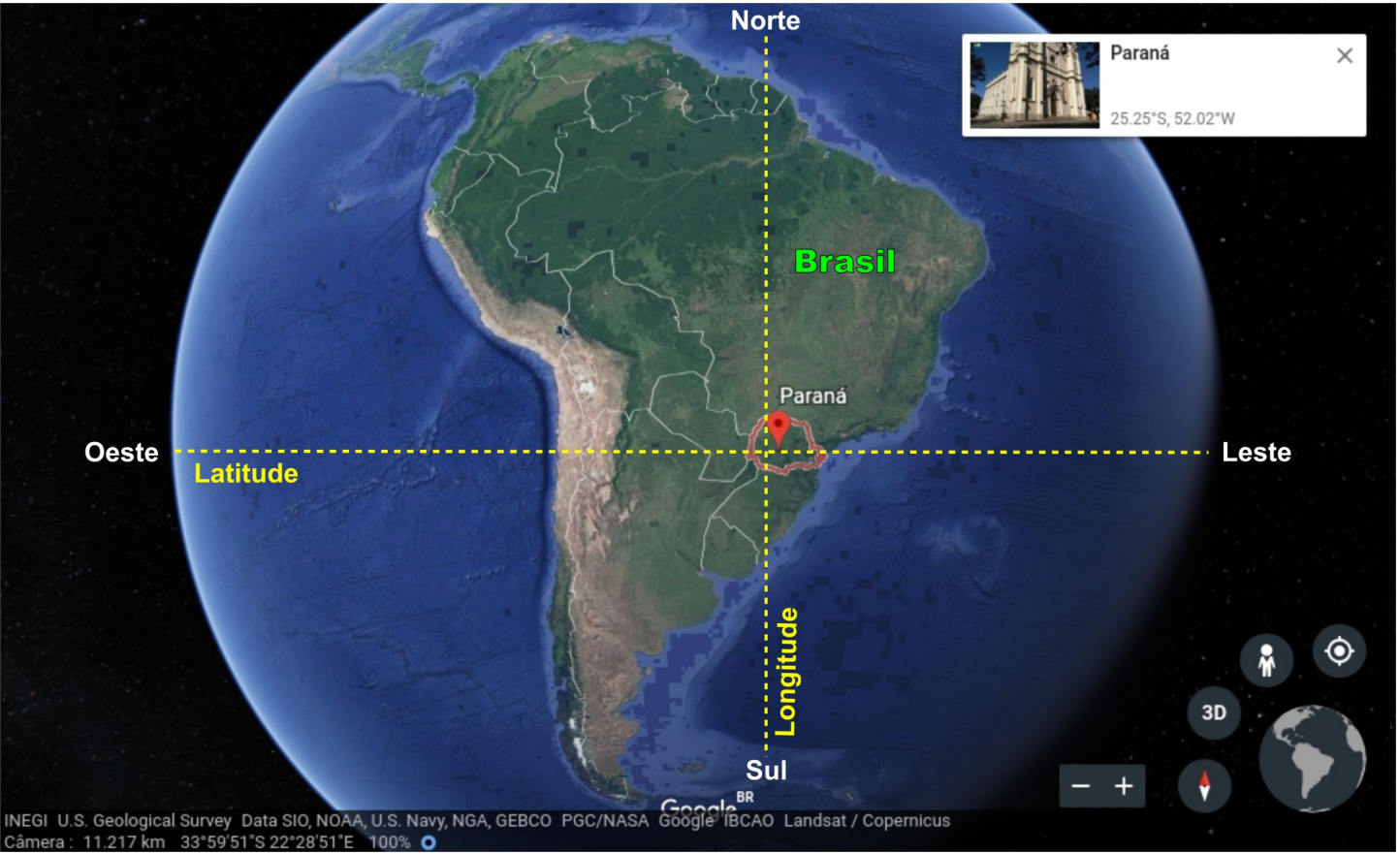

Programa de Pós-graduação em Agronomia
PGA/UEM

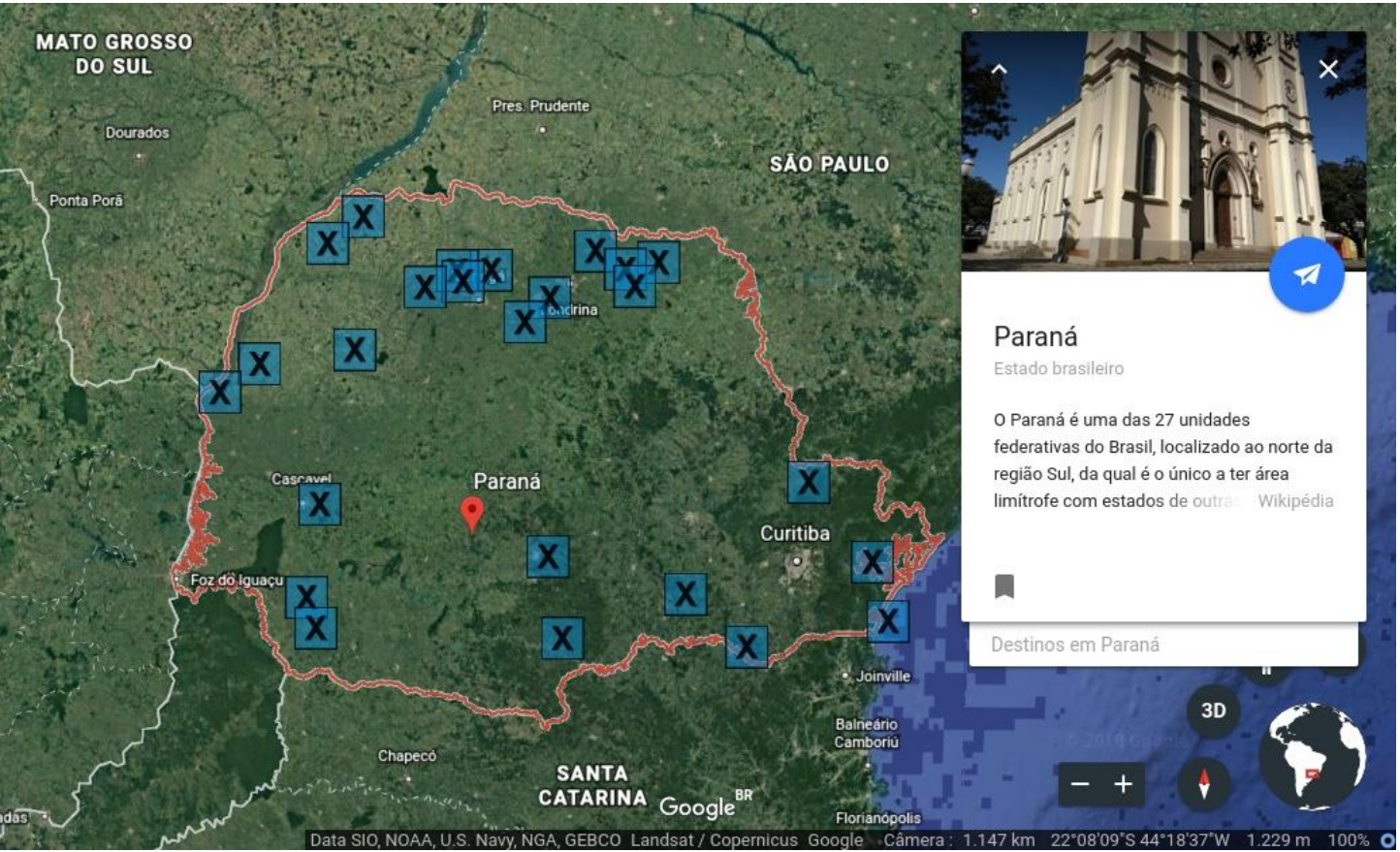
PROJETO
Anos: 2018/2019 (Eduardo)
Anos: 2020/2021(Nayara)

Visita e Treinamento na ESALQ – USP

Laboratório de Insetos Vetores de Fitopatógenos




Norte
Paraná
25.25°S, 52.02°W
Brasil
Paraná
Oeste
Latitude
Leste
Longitude
Sul
3D
INEGI U.S. Geological Survey Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO PGC/NASA Google IBCAO Landsat / Copernicus
Câmera : 11.217 km 33°59'51"S 22°28'51"E 100%



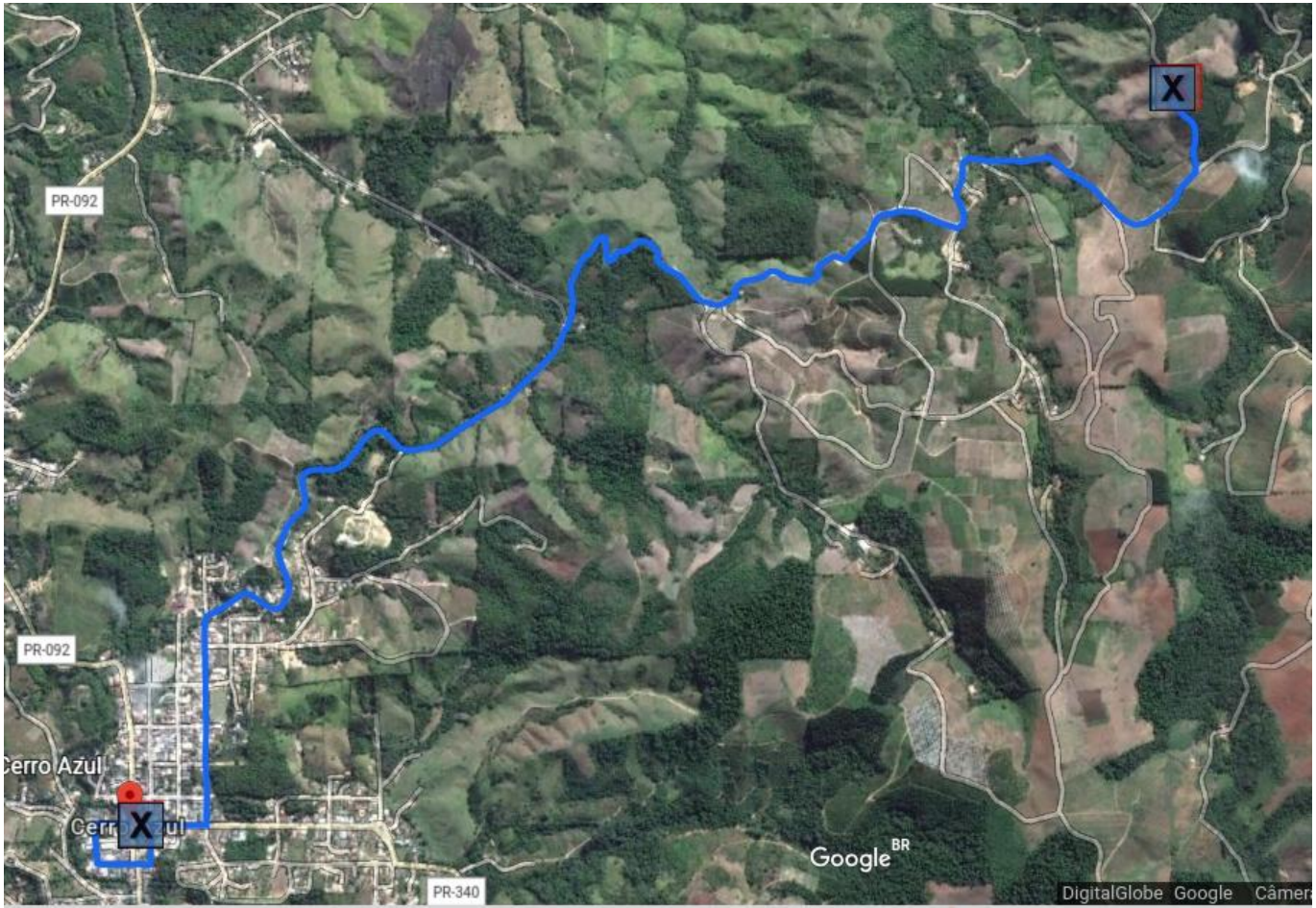
NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

CERRO AZUL



NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR


Ribeira
PR-092
Descampado
Cerro Azul
476
PR-340
Tunas
Açungui
PR-092
São Silvestre
Curriola
Google
476



NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR



NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR



NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM, Maringá-PR

EXEMPLO DE ARMADILHA RETIRADA DE UM PONTO EM CERRO AZUL



NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

CERRO AZUL

armadilha/15 dias	A6.1
datas de retirada	05/04/2018
município	Cerro Azul S 24º 93' 34.7" W 49º 51'56"
Diaphorina citri MACHO	0
Diaphorina citri FÊMEA	0
Psylloidae	0
Outros hemipteras	18
Hymenópteras	8
Aleyrodidae (mosca-negra)	0
Tamarixia radiata	0
Tripes	1
Outros insetos	54
total	81

A6.2	A6.3
05/04/2018	05/04/2018
Cerro Azul S 24º 56' 46" W 49º 18' 24"	Cerro Azul S 24º 48' 16" W 49º 13' 47"
0	0
0	0
0	0
4	4
54	6
0	0
0	0
7	0
212	288
277	298

PSILÍDEO

Diaphorina citri



NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

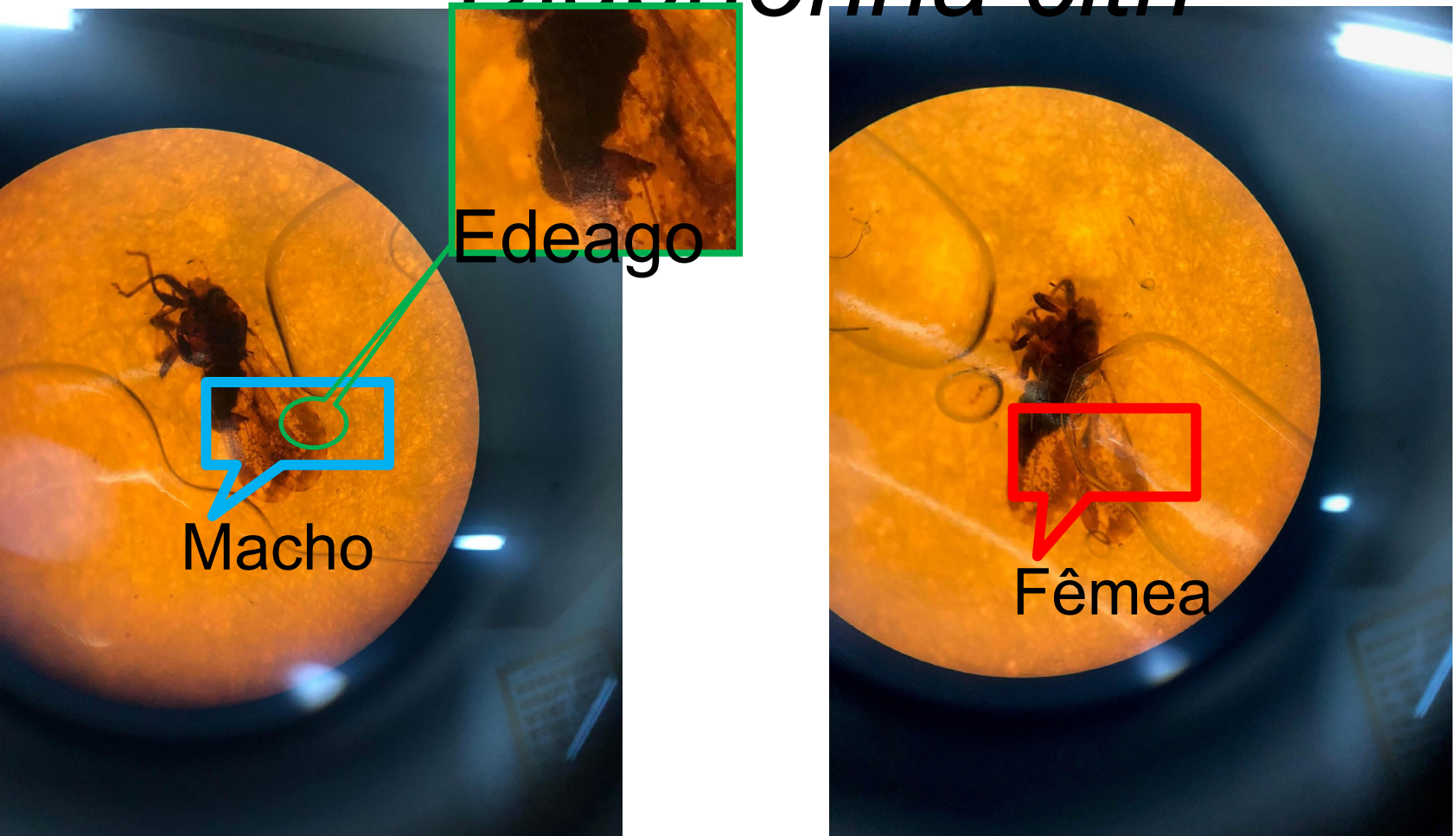




Diaphorina citri
Psilídeo do citros

NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

Diaphorina citri



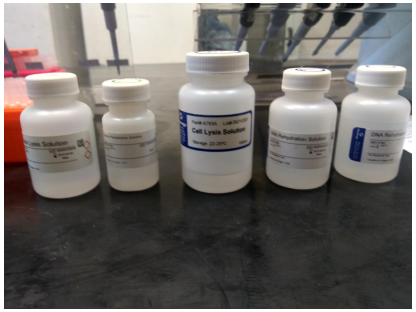
D. citri (NBA)

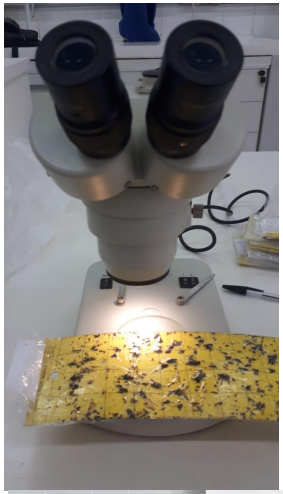


Foto: Bruno Almeida, 2019

Extração de DNA







Metodologia de extração DNA de *D. citri*

(Método Deng et al., 2006 modificado por Heivesio Delacoleta Filho)

1. Colocar os insetos em tubos de 1,5 ml (para 1 inseto);
2. Adicionar 30ul de STE (10mM Tris HCl, 1mM EDTA, 25mM NaCl);
3. Macerar o inseto com a ajuda de uma ponteira ou pistilo;
4. Adicionar 10µl de Proteinase K na concentração de 200 µg/ mL, vortex por 10"
5. Manter a 56°C durante 30 minutos;
6. Centrifugar brevemente (spin) 3000 rpm por 1minuto;
7. Retirar fase superior (35µl) e transferir para um novo tubo de 1,5 ml

Etapa adicional – Kit Wizard Promega:

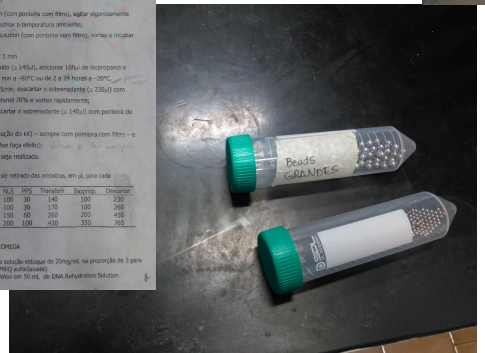
8. Adicionar 100 µl de Nuclei Lysis Solution (com ponteira com filtro), agitar vigorosamente (vortex), manter a 80°C durante 5 min e resfriar a temperatura ambiente;
9. Adicionar 30ul de Protein Precipitation Solution (com ponteira com filtro), vortex e incubar em gelo por 5 min;
10. Centrifugar a 10000 rpm (13000xg) por 3 min
11. Transferir fase superior para um novo tubo (± 145µl), adicionar 100µl de isopropanol e inverter os tubos com as mãos. Colocar 10 min a –80°C ou de 2 a 24 horas a –20°C.
12. Centrifugar a 11700rpm (>4000xg) por 5min, descartar o sobrenadante (± 230µl) com auxílio de uma pipeta, adicionar 150µl de etanol 70% e vortex rapidamente;
13. Centrifugar a 11700rpm por 5 min, descartar o sobrenadante (± 140µl) com ponteira de filtro e secar o tubo a 50 °C (± 20 min);
14. Adicionar 50µl de 1/10 TE + RNAse (solução do kit) – sempre com ponteira com filtro – e incubar a 37°C por 30 min (para que a RNAse faça efeito);
15. Armazenar em geladeira até que a PCR seja realizada.

Tabela: Volume de cada reagente e volume a ser retirado das amostras, em µl, para cada quantidade de insetos

Nº Insetos	STE	PK	Transferir	NLS	PPS	Transferir	Isopropp.	Descartar
1	30	10	35	100	30	140	100	230
3	50	10	55	100	30	170	100	260
6	100	15	80	150	60	260	200	450
10	150	30	160	200	100	430	350	765

Observações

- DNA Purification Kit Wizard Genomic PROMEGA
  Cat # A1125
- Proteinase K (200 µg/ mL) - Diluir nossa solução estoque de 20mg/mL na proporção de 1 para 100 (µl de solução em 1ML: de água MilQ autoclavada)
- TE + RNAse -> acrescentar 100µl de RNAse em 50 mL de DNA Rehydration Solution





Google





Diversidade







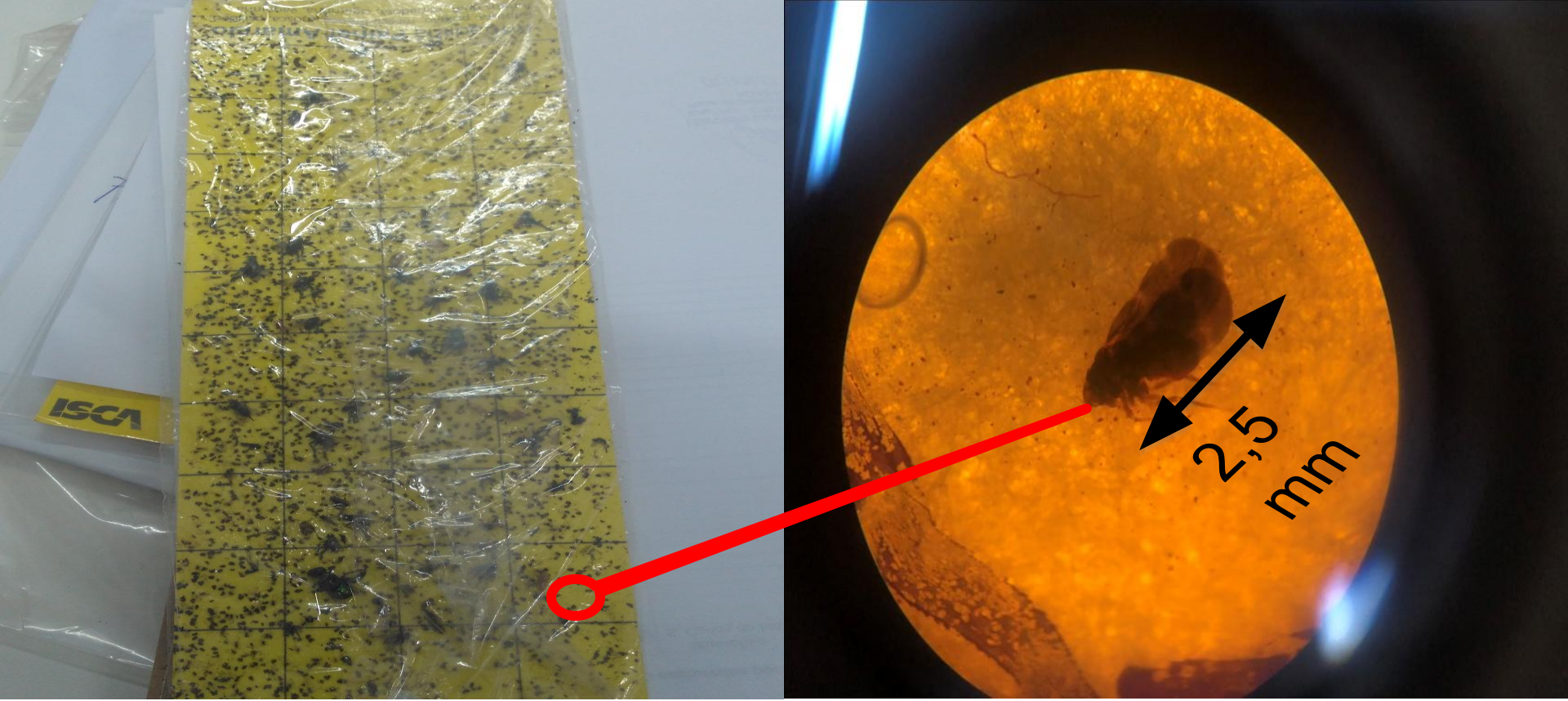




Mosca negra do citros
Aleurocanthus woglum







Mosca negra do citros (*Aleurocanthus woglum*)

NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

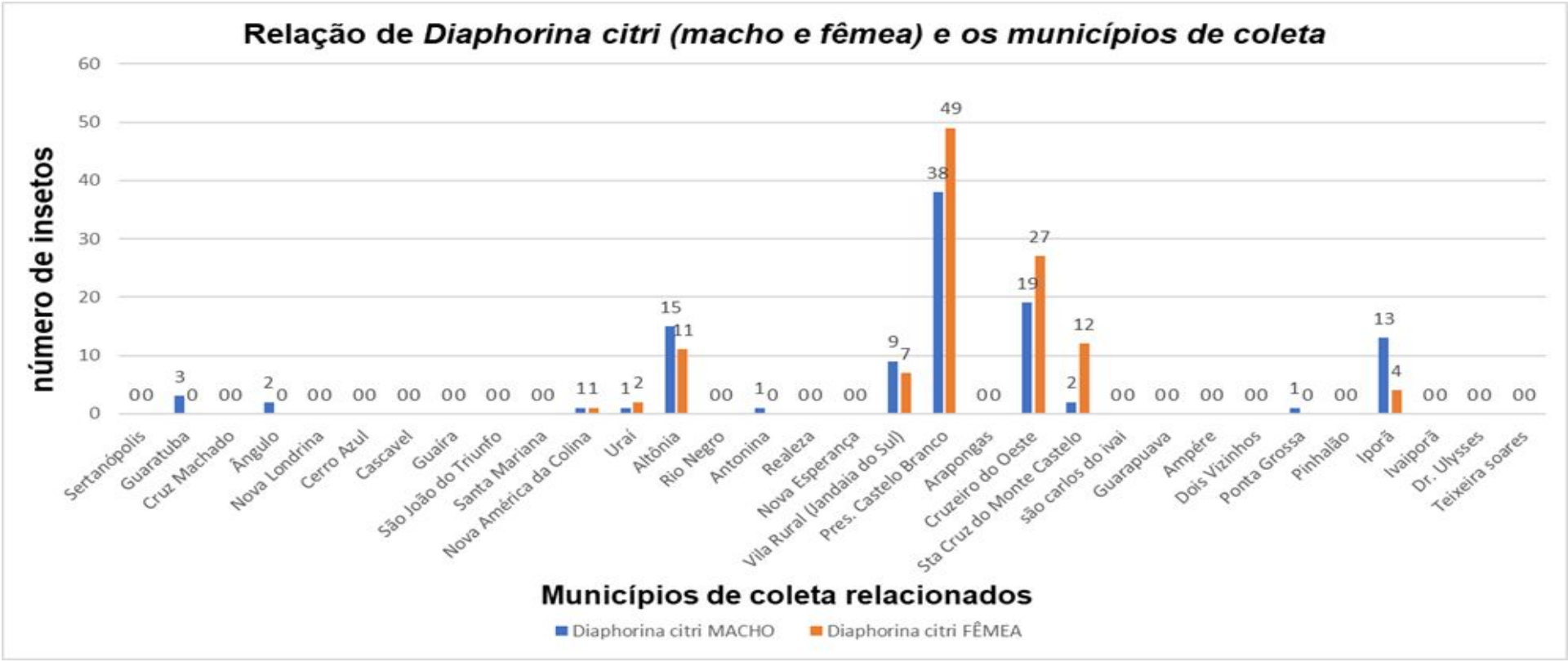
Tamarixia radiata

- *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae)
- Ectoparasitóide idiobionte (impedem que seu hospedeiro tenha qualquer desenvolvimento depois de parasitado)
- É nativo da Índia e são específicos IN de *D. citri*
- São pequenos himenópteros de coloraão escura
- Medem de 0,92 a 1,04 mm
- (Chien 1995 e Onagbola et al, 2009)

Tamarixia radiata



Foto: Eduardo Nunes, UEM/NBA


Relação de Diaphorina citri (macho e fêmea) e os municípios de coleta
número de insetos
60
50
40
30
20
10
0
0 0
3 0
0 0
2 0
0 0
0 0
0 0
0 0
0 0
0 0
11 1
1 2
15 11
0 0
1 0
0 0
0 0
9 7
38 49
0 0
19 27
2 12
0 0
0 0
0 0
0 0
1 0
0 0
13 4
0 0
0 0
0 0
Sertanópolis
Guaratuba
Cruz Machado
Ângulo
Nova Londrina
Cerro Azul
Cascavel
Guaíra
São João do Triunfo
Santa Mariana
Nova América da Colina
Uraí
Altônia
Rio Negro
Antonina
Realeza
Nova Esperança
Vila Rural (Jandaia do Sul)
Pres. Castelo Branco
Arapongas
Cruzeiro do Oeste
Sta Cruz do Monte Castelo
são carlos do ivai
Guarapuava
Ampére
Dois Vizinhos
Ponta Grossa
Pinhalão
Iporã
Ivaiporã
Dr. Ulysses
Teixeira soares
Municípios de coleta relacionados
Diaphorina citri MACHO
Diaphorina citri FÊMEA

Relatório de Armadilhas ADAPAR/UEM/NBA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada – NBA

Agência de Defesa Agropecuária do Paraná - ADAPAR

Relatório do Monitoramento de *Diaphorina citri* com Armadilhas Adesivas Amarelas no Estado do Paraná

Maringá

Fevereiro/2019

Relatório das armadilhas

Foram colocadas armadilhas em 32 municípios para o monitoramento do psilídeo asiático dos citros, *Diaphorina citri*, vetor de um importante fitopatógeno de uma doença de grande expressividade em pomares de citros no Brasil e nos principais estados produtores, dentre eles o Paraná. A Agência de Defesa Agropecuária do estado do Paraná, ADAPAR juntamente com o IAPAR e a UEM/NBA estão juntos desenvolvendo o monitoramento do inseto vetor a *D. citri*, de regiões próximas a produções de citros e ou regiões estratégicas como Ponta Grossa que reserva um banco de germoplasma e viveiro de mudas comerciais de citros.

Contudo, foram georreferenciados pontos aleatoriamente em várias cidades do estado do Paraná, dentre elas estes 32 municípios onde foram instaladas “armadilhas adesivas amarelas” e até a presente data avaliadas e ou transportadas até ao especialista em entomologia agrícola da UEM/NBA. E durante esta avaliação destas armadilhas amarelas, estamos identificando além do inseto alvo a *Diaphorina citri,* as categorias de Psylloidae que são outros psilídeos da mesma superfamília da *D. citri,* outros hemíptera, hymenopteras, moscas negras, importante praga de citros, *Tamarixia radiata,* parasitoide específico de *D. citri,* tripés, devido a abundância de aparições neste monitoramento e outros insetos que englobam todos os outros insetos de outras ordens.

O município onde se avaliou maior número de armadilhas foi Cerro Azul, com 18 armadilhas avaliadas, e contados 6.858 insetos e nenhuma *Diaphorina citri* foi detectada, importante região produtora de citros (Poncan). No município de Presidente Castelo

NBA
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada
UEM Maringá-PR

Fotos e identificação: Engenheiro Agrônomo, MSc. Eduardo Lima Nunes
Wérica Valim, Geógrafa e Mestranda no PGA/UEM
Ana Flávia Pedrão Graduanda em Agronomia, Bolsista do PIBIC
Bruno Cesar Almeida Graduando em Agronomia, Bolsista do PIBIC
Maria Andressa Galvão Graduanda em Agronomia
Vitor Henrique Gonçalves Lopes Graduando em Agronomia
Imagens mapas: Prof. Dr. Hudson Sérgio de Souza

Orientador: Prof. Dr. William Mário de Carvalho Nunes

Literatura

Tropical Plant Pathology
https://doi.org/10.1007/s40858-020-00348-7

ORIGINAL ARTICLE

Revisiting seed transmission of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' in different citrus species and hybrids

Thiago Z. Bagio[1] · Marcelo G. Canteri[2] · Rui P. Leite Júnior[1]

Received: 11 November 2019 / Accepted: 6 April 2020
© Sociedade Brasileira de Fitopatologia 2020

Abstract
Huanglongbing (HLB) caused by '*Candidatus* Liberibacter spp.' is the most destructive disease for citrus production. These bacteria are disseminated naturally by insect vectors, such as the psyllid *Diaphorina citri*. However, the transmission of the bacteria vertically from seeds to seedlings has been controversial. Therefore, the objective of this study was to re-investigate the vertical transmission of the bacterium '*Ca.* Liberibacter asiaticus' (CLas) from seeds to seedlings. Seeds of 'Rangpur' lime, 'Swingle' citrumelo, 'Ponkan' mandarin and the sweet oranges 'Folha Murcha', 'IAPAR-73', 'Pera Rio', 'Shamouti' and 'Valencia' were included in the study. Besides the seeds, 3493 citrus seedlings were also examined for the presence of the bacterium and for the development of HLB symptoms. The presence of the bacterium in different parts of the seeds and in citrus seedlings was examined by standard PCR. CLas was detected in all parts of the seeds, including seed coat or testa, tegmen, and endosperm plus embryos of all citrus cultivars, except for 'Shamouti' sweet orange. Although transient, the presence of the HLB bacterium was also detected in seedlings of 'Ponkan' mandarin and 'Folha Murcha' sweet orange obtained from seeds of HLB-infected trees up to 18 months after seedlings transplanting. However, no typical symptoms of HLB were observed in the citrus seedlings. Although CLas may infect the citrus seeds, the results of this study do not support the vertical transmission of viable cells of CLas from seeds to seedlings.

Keywords Bacteria · *Citrus* spp. · Huanglongbing · Vertical transmission

Introduction

Huanglongbing (HLB) is the most destructive disease for citrus production in the major citrus producing areas around the world (Bové 2006). The disease is associated with the fastidious, Gram negative and phloem-inhabiting bacteria '*Candidatus* Liberibacter asiaticus', '*Ca.* Liberibacter africanus' and '*Ca.* Liberibacter americanus' (Bové 2006; Coletta-Filho et al. 2004; Teixeira et al. 2005). In Brazil, HLB was first reported in citrus growing areas in the state of São Paulo in 2004 (Coletta-Filho et al. 2004; Teixeira et al. 2005). Further, the species '*Ca. L. asiaticus*' and '*Ca. L. americanus*' have been reported in Brazil (Coletta-Filho et al. 2004; Teixeira et al. 2005). Currently, the disease is also present in the Brazilian states of Mato Grosso do Sul, Minas Gerais and Paraná (Belasque Júnior et al. 2009; Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegeta 2020).

The HLB bacteria are transmitted by contaminated propagative material and by insect vectors, such as the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*, Kuwayama (Bové 2006). Vertical transmission of '*Ca.* Liberibacter spp.' through seeds and the consequent development of HLB symptoms in the citrus trees has been controversial. Citrus seedlings obtained from seeds of fruits from diseased trees may develop symptoms similar to HLB, supporting the possible transmission of '*Ca. L. asiaticus*' through seeds, but with no detection of bacteria, probably due to the absence of sensible enough diagnosis tools (Tirtawidjaja 1981). Graham et al. (2008) also reported the potential presence of '*Ca. L. asiaticus*' in citrus seedlings produced from seeds obtained from HLB symptomatic trees, but the results were inconclusive. Although the HLB bacteria have been detected in seedlings obtained from seeds extracted

✉ Rui P. Leite Júnior
ruileite@iapar.br

[1] Área de Proteção de Plantas, Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR, Londrina, PR 86047-902, Brazil

[2] Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR 86057-970, Brazil

Published online: 14 May 2020

Revisiting_seed_transmission_Candidatus_Liberibacter_asiaticus_different_citrus_species.pdf

Gasparotoetal2021FirstLook-Repositrio(1).pdf

APS Publications

Phytopathology Home About Submit Journals Books Publisher's Home

Previous Next

Prevalent transmission of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' over '*Ca*. Liberibacter americanus' in a long-term controlled environment

Maria Cândida de Godoy Gasparoto, Isabela Vescove Primiano, Renato Bassanezi , Silvia Afonseca Lourenço, Luiz Montesino, Nelson Arno Wulff, Elaine Cristina Martins , Armando BERGAMIN Bergamin Filho, and Lilian Amorim

Published Online: 19 Aug 2021 | https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-21-0239-FI

PDF PDF PLUS TOOLS SHARE

Abstract

In Brazil, citrus huanglongbing (HLB) is associated with '*Candidatus* Liberibacter americanus' (CLam) and '*Ca*. Liberibacter asiaticus' (CLas). However, there are few studies about HLB epidemiology when both Liberibacter spp. and its insect vector, the Asian citrus psyllid (ACP, *Diaphorina citri*), are present. The objective of this work was to compare the transmission of HLB by ACP when both CLam and CLas are present as primary inoculum. Two experiments were performed under screenhouse conditions from April 2008 to January 2012 (experiment 1) and from February 2011 to December 2015 (experiment 2). The experiments were carried out with sweet orange plants infected with CLam or CLas as inoculum source surrounded by sweet orange healthy plants. One hundred Liberibacter-free adult psyllids were monthly confined to the source of inoculum plants for 7 days with subsequent free movement inside the screenhouse. Fortnightly, nymphs and adults of psyllids were monitored. Psyllid and leaf samples were collected periodically for Liberibacter detection by PCR or qPCR. CLas was detected more frequently than CLam in both psyllid and leaf samples. No mixed infections were detected in the psyllids. A clear prevalence of CLas over CLam was observed in both experiments. The final HLB incidences were 16.7 and 14.5% of Liberibacter-positive test plants, and CLas was detected in 92.3 and 93.1% of these infected plants. Mixed infection was observed only in 3.8% of infected test plants in

Prevalent transmission of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' over '*Ca*. Liberibacter americanus' in a long-term controlled environment

M. C. G. Gasparoto[1,2], I. V. Primiano[3], R. B. Bassanezi[3], S. A. Lourenço[1], L. H. Montesino[3], N. A. Wulff[3], E. C. Martins[3], A. Bergamin Filho[1], L. Amorim[1*]

[1]University of São Paulo (USP), Luiz de Queiroz College of Agriculture, Piracicaba, SP, Brazil.

[2]São Paulo State University (UNESP), Campus of Registro, SP, Brazil.

[3]Fund for Citrus Protection- Fundecitrus, Department of Research and Development, 14.807-040, Araraquara, São Paulo, Brazil.

[*] Corresponding author: L. Amorim; E-mail: lilian.amorim@usp.br.

ABSTRACT

In Brazil, citrus huanglongbing (HLB) is associated with '*Candidatus* Liberibacter americanus' (CLam) and '*Ca.* Liberibacter asiaticus' (CLas). However, there are few studies about HLB epidemiology when both Liberibacter spp. and its insect vector, the Asian citrus psyllid (ACP, *Diaphorina citri*), are present. The objective of this work was to compare the transmission of HLB by ACP when both CLam and CLas are present as primary inoculum. Two experiments were performed under screenhouse conditions from April 2008 to January 2012 (experiment 1) and from February 2011 to December 2015 (experiment 2). The experiments were carried out with sweet orange plants infected with

Pesquisa Agrotóxicos



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Julho de 2004 • Edição Especial

Reconheça o *Greening* dos Citros

O *greening* é uma doença que afeta a citricultura de vários países da Ásia e da África. O nome da doença está associado ao fato dos frutos das plantas doentes apresentarem manchas de coloração verde, mesmo após o período de maturação. No entanto, seu nome oficial é huanglongbin (HLB), que significa "amarelecimento dos ramos", tendo sido dado por pesquisadores chineses que primeiro descreveram a doença.

No Brasil, o *greening* era considerado uma doença quarentenária A1, isto é, não havia relato da presença do agente causal. No entanto, a partir de informações de citricultores de várias regiões do Estado, o Centro APTA Citros Sylvio Moreira do IAC demonstrou que, em plantas com sintomas muito semelhantes ao *greening*, poderia ser detectada a presença da bactéria causadora da doença. Em função dos sintomas apresentados em ramos e folhas, a doença foi classificada inicialmente como "amarelão".

Sintomas

Como em muitas doenças de sistema vascular que afetam a copa, o *greening* desenvolve sintomas gerais de deficiência nutricional na folhas, ramos e frutos. Os principais são:

- clorose leve a severa (Foto A) com sintomas semelhantes a deficiência de N, Zn ou Fe (Foto F);
- amarelecimento ao longo dos vasos em folhas normais, com mosqueamento de manchas amarelas pontuadas com manchas verdes (Foto D);
- em ramos velhos mais afetados pode ocorrer redução do tamanho da folhas (Foto B);
- frutos de tamanho reduzido (Foto E), deformados (Foto C), com um lado maior que outro;
- frutos tendem a apresentarem manchas verdes e amarelas na casca;
- columela (parte branca no eixo do fruto) também deformada, com presença de vasos amarelados (Foto C);
- sementes abortadas e pequenas (Foto C);
- podem ocorrer manchas no albedo (parte branca da casca) do fruto;
- severa perda de folhas e frutos;
- os sintomas podem se agravar na presença de outras doenças.

Em uma primeira avaliação, os sintomas podem ser confundidos com gomose, severo ataque de rubelose, brocas, ou deficiência nutricional aguda. No entanto, os sintomas nos frutos não deixam muitas dúvidas. Na ausência de frutos, recomenda-se o parecer de um especialista na área.







12-06002-Reconheça o Greening dos Citros.pdf

Obrigado!!

Prof.Dr. William M. C. Nunes

Contatos:

wmcnunes@uem.br

fone: 44 - 3011 - 8916

NBA

Departamento de Agronomia
Universidade Estadual de Maringá