



AUMENTO DA INCIDÊNCIA DE *Candidatus Liberibacter asiaticus* EM POMAR COMERCIAL NA REGIÃO NOROESTE DO PARANÁ

*Aline Vanessa Sauer*¹, *Thiago Rogério Braudaz*², *Vander Martinez Brumatt*², *William Mário de Carvalho Nunes*³

RESUMO: Huanglongbing (HLB) tem apresentado destaque e importância por ser considerada uma das mais devastadoras doenças da citricultura. Os sintomas caracterizam-se principalmente por ramos com folhas apresentando coloração amarelada, normalmente isolados na planta. As folhas apresentam-se com aparência mosqueada, de coloração alternada entre tons de verde claro, verde escuro e amarelo, não apresentando limites definidos nas tonalidades. É causada por uma bactéria gram negativa de crescimento limitado ao floema, denominada de *Candidatus Liberibacter* spp. O objetivo deste trabalho foi avaliar em pomar comercial na cidade de Paranaíba-Pr, o aumento da incidência de *Ca. Liberibacter asiaticus*. A coleta das amostras foi realizada semestralmente nos anos de 2008, 2009, 2010 e 2011. Estas foram encaminhadas ao laboratório para extração de DNA total e confirmação através de PCR convencional. Foram utilizados os pares de iniciadores LPAS/RPAS para as formas asiática doença. Observou-se que no decorrer dos anos, a incidência da doença aumentou. O significativo aumento da doença foi observado principalmente na Fazenda Araras e na Fazenda Estrela II. Este trabalho alerta para a necessidade do desenvolvimento de novas técnicas de manejo para atuar nas propriedades cítricas quando essa doença aparece.

PALAVRAS-CHAVE: Ciências agrárias, citricultura, huanglongbing (HLB), PCR.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como o maior produtor e exportador de citros, com uma produção em torno de 19 milhões de toneladas no ano de 2010 (IBGE, 2010). Na citricultura brasileira, grandes prejuízos têm sido constatados devido a introdução de pragas e doenças, trazendo preocupações ao setor no cenário nacional (Gravena, 1998).

Dentre as moléstias que atacam a citricultura mundial, Huanglongbing (HLB) tem apresentado destaque e importância por ser considerada uma das mais devastadoras doenças (Feichtenberger et al 2005). Os sintomas caracterizam-se, principalmente, por ramos ou galhos com folhas apresentando coloração amarelada, normalmente isoladas na planta. As folhas apresentam-se com aparência mosqueada, de coloração alternada entre tons de verde claro, verde escuro e amarelo, não apresentando limites definidos nas tonalidades (Bové, 2006; Feichtenberger et al 2005, Chung e Brlansky, 2005). Frutos sintomáticos são menores, defeituosos, assimétricos, com coloração externa

¹ Doutoranda bolsista CAPES do Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá (UEM) – PR, alinevanessasauer@hotmail.com

² Graduando em Agronomia, Bolsista CNPQ

³ Professor Doutor do do Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá (UEM) – PR

irregular, podendo apresentar inversão da maturação. Internamente é possível observar sementes abortadas, deslocamento da columela conferindo assimetria ao fruto, além de maturação interna desuniforme e coloração marrom a castanho dos os feixes vasculares (Bové, 2006).

A doença é causada por bactérias gram negativas de crescimento limitado aos vasos do floema (Jagoueix et al, 1996), denominada *Candidatus Liberibacter spp.* A doença causada por *Ca. Liberibacter* inclui as espécies *Ca. Liberibacter africanus*, *Liberibacter americanus* e *Liberibacter asiaticus*. Já *Ca. L. asiaticus* ocorre na Ásia, Península Arábica, Brasil e Estados Unidos (Da Graça, 1991). No Brasil, mais de 95% dos casos de HLB são causados por *Ca. L. asiaticus*. Os transmissores desta bactéria são duas espécies de psílídeos: *Diaphorina citri* e *Trioza erythrae*, vetores da doença na Ásia e África, respectivamente (Da Graça, 1991; Chung e Brlansky, 2005). Borbulhas contaminadas originando mudas doentes se constituem em um eficaz meio de disseminação da doença à longas distâncias. O controle é feito por medidas preventivas como uso de mudas sadias, medidas erradicativas de plantas contaminadas e combate rigoroso ao vetor, já que não existem plantas resistentes à doença (Chung e Brlansky, 2005; Feichtenberger et al 2005).

O objetivo deste trabalho foi avaliar em pomar comercial no município de Paranavaí-PR, o aumento da incidência de *Ca. Liberibacter asiaticus*, nesta região.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em pomares comerciais de laranja doce na cidade de Paranavaí, na região noroeste do Paraná. Na fazenda Araras, o plantio foi realizado nos anos de 2003/2004, com plantas da variedade Pêra Rio sobre porta-enxerto Limão Cravo. Na fazenda Araraquara, o pomar foi instalado em março de 2004, com plantas da variedade Pêra sobre o porta-enxerto Limão Cravo. Na fazenda Estrela II, o pomar foi instalado em fevereiro de 2008, com plantas da variedade Valência, Pêra, Folha Murcha e Ponkân, sobre o porta-enxerto Limão Cravo. As avaliações nas propriedades Fazenda Araras e Araraquara foram realizadas semestralmente, nos anos de 2008, 2009, 2010 e 2011. Na propriedade Fazenda Estrela II, as avaliações foram realizadas semestralmente nos anos de 2010 e 2011.

Inicialmente, as plantas foram identificadas visualmente através da presença de sintomas. Destas plantas, foram coletadas dez folhas sintomáticas e estas acondicionadas em sacos de papel e transportadas até o Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada (NBA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá-PR. O limbo foliar foi retirado com auxílio de tesoura previamente esterilizada. As nervuras centrais das amostras foram maceradas com auxílio de nitrogênio líquido, para a extração de DNA total segundo Coletta-Filho et al (2000). A confirmação do diagnóstico foi realizada através de reação de polimerase em cadeia (PCR) com a utilização do par de iniciadores sintéticos específicos (LPAS/RPAS).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de avaliação, observou-se que nos primeiros anos, a quantidade de plantas diagnosticadas, por PCR, foi menor (Figura 1). Um número significativo de plantas doentes foi observado nos anos de 2010 e 2011 para a Fazenda Araraquara, e 2011 para a Fazenda Araras e Fazenda Estrela II (Tabela 1).

Na Fazenda Araras, das 17 plantas diagnosticadas como suspeitas da contaminação por *Ca. Liberibacter spp.*, 88,3% obtiveram o diagnóstico positivo para a presença da bactéria em sua forma asiática no segundo semestre de 2011. Na Fazenda

Estrela II, neste mesmo período, das 55 plantas amostradas 81,8% foram positivas para *Ca. Liberibacter asiaticus*.

HLB é uma doença de difícil manejo, devido à natureza não específica de seus sintomas, prolongada latência em plantas no campo, provável distribuição irregular do patógeno em árvores, efeito do ambiente (especialmente temperatura) sobre a expressão dos sintomas e possivelmente na multiplicação bacteriana, além de prováveis variações na tolerância da bactéria nas plantas hospedeiras e vetores, e a natureza fastidiosa da bactéria (Manjunath et al., 2008).

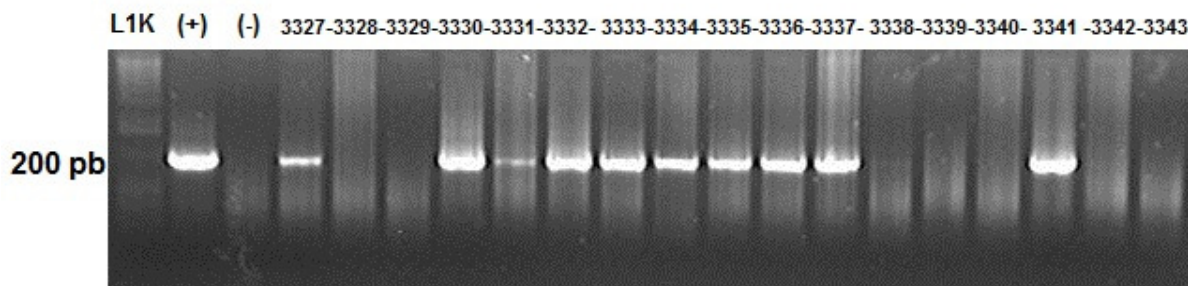


Figura 1. Eletroforese de PCR para *Ca. Liberibacter asiaticus*. A presença de bandas indica a presença do patógeno. L1K: *Leader*; (+): controle positivo; (-): controle negativo; 3327,3330 à 3337, e 3341: amostras positivas para *Ca. L. asiaticus*.

Sintomas de HLB desenvolvem em aproximadamente 20% de plantas enxertadas dentro de 3 a 12 meses de inoculação de enxerto em casa-de-vegetação (Su & Huang, 1990; Van Vuuren, 1993), mas o mesmo não pode ser assumido para árvores grandes em situação de campo. O período de latência para a doença antes da expressão de sintomas, sob condições de campo não é claro e informação sobre o intervalo entre inoculação de psilídeo de '*Ca. L. asiaticus*' em uma árvore de campo e o tempo quando outro psilídeo pode adquirir as bactérias de HLB daquela árvore não é disponível (Manjunath, 2008).

Tabela 1. Número de plantas com diagnóstico positivo para *Candidatus Liberibacter asiaticus*, em pomares comerciais no município de Paranavaí-PR.

Propriedade	Plantas Doentes (Semestre/Ano)							
	1/2008	2º/2008	1º/2009	2º/2009	1º/2010	2º/2010	1º/2011	2º/2011
Fazenda Araras	4	4	1	3	1	2	11	15
Fazenda Araraquara	16	12	2	5	39	10	34	3
Fazenda Estrela II	-	-	-	-	1	1	37	45

4 CONCLUSÃO

O aumento da incidência da doença pode estar relacionado ao período de latência e demonstra a necessidade de inspeções diárias em pomares comerciais, alertando para a necessidade de técnicas que convivam com o HLB a campo e a busca por medidas de controle que não seja a erradicação.

REFERÊNCIAS

- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Patholog.** v.88, p.7-37, 2006.
- COLETTA FILHO H.D., HLB (ex- greening) no Brasil: situação atual. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, 2007.
- DA GRAÇA, J. Citrus greening disease. **Annual Review Phytopathology.** v.29, p.109-136. 1991.
- CHUNG K.R.; BRLANSKY R.H. **Citrus Diseases exotic to Florida: Huanglongbing (citrus greening)**. Fact Sheet PP-210. University of Florida: 2005. Disponível em: <http://www.edis.ifas.ufl.edu>. Acesso em: 27 jun 2011.
- FEICHTENBERGER, E.; BASSANESI, R.B.; SPÓSITO, M.B.; BELASQUE JR, J. Doenças do Citrus. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, p. 239-269. 2005.
- GRAVENA, S. Manejo ecológico de pragas dos citros- aspectos práticos. **Laranja**, v.19, p.61-78, 1998.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201009_2.shtm>. Acesso em: 25.jun.2011
- JAGOEIX, S.; BOVE, J.M. & GARNIER, M. PCR detection of the two ‘Candidatus’ liberobacter species associated with greening disease of citrus. **Molecular and Cellular Probes**, v. 10, p. 43-50, 1996.
- MANJUNATH, K. L., HALBERT, S. E., RAMADUGU, C., WEBB, S., LEE, R. F. Detection of ‘Candidatus Liberibacter asiaticus’ in Diaphorina citri and its importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. **Phytopathology.** v.98, p.387-396. 2008.
- SU, H. J., HUANG, M. D. The nature of likubin organism, life cycle, morphology and possible strains. Pages 106-110 in: Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region. **Proc. Asia Pacific International Conference on Citriculture**. B. Aubert, S. Tontyaporn, and D., Buangsuwon, eds. UNDP, FAO, Rome. Chiang Mai, Thailand. 1990.
- VAN VUUREN, S. P. Variable transmission of African greening to sweet orange. p. 264-268. In: **Proc. 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists**. P. MORENO, J. V. DA GRACA, L. W. TIMMER, eds. University of California, Riverside. 1993.