

Fórum de apresentação de resultados de pesquisas: **avanços e oportunidades**

23 de setembro de 2014
Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna/SP

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS E APLICATIVOS PARA SISTEMAS QUARENTENÁRIOS EM APOIO À DEFESA AGROPECUÁRIA NAS CULTURAS DE CITROS, CANA-DE-AÇÚCAR, EUCALIPTO E FLORES/PLANTAS ORNAMENTAIS NO ESTADO DE SÃO PAULO

**Sá, L. A. N. de¹; Pessoa, M. C. P. Y.¹; Sawasaki, H. E.²; Tanaka, J. A. C. de S.²;
Veiga, R. F. de A.²; Wilcken, C. F.³; Dudienas, C.²; Rossi, C. E.⁴; Teixeira, E. P.²;
Deuber, R.²**

¹Embrapa Meio Ambiente/Laboratório de Quarentena Costa Lima (LQC); ²Apta/Instituto Agrônômico de Campinas; ³UNESP Campus de Botucatu/FCA e coordenador PROTEF/IPEF; ⁴APTA/Instituto Biológico

Problema abordado

A diversidade de agroecossistemas e de estratégias de manejo diferenciadas atreladas às características climáticas predominantes no território brasileiro e o incremento considerável no trânsito internacional de pessoas e no intercâmbio de produtos agrícolas entre diversos países, gerados por acordos comerciais internacionais dentro da globalização do agronegócio mundial, favorecem a ocorrência de grande gama de pragas e doenças, além da introdução e estabelecimento de outras que já se manifestam como de alto impacto negativo aos cultivos agrícolas no exterior. Nesse contexto, as atividades de quarentena de organismos vivos tornam-se cada vez mais fundamentais no contexto da defesa fitossanitária nacional. A complexidade das atividades de quarentena decorre da necessidade de se resgatar e avançar nos conhecimentos científico e técnico disponíveis para cada praga em cultura agrícola específica, visando à redução do grau de subjetividade na tomada de decisão sobre a introdução e/ou acompanhamento de organismos vivos exóticos. O registro do intercâmbio internacional desses organismos considera a origem e o destino de cada introdução e/ou exportação de bioagentes, assim como necessita utilizar técnicas mais eficazes para a correta identificação de sua chegada ao país,

além de avaliações de tendências de que essas pragas venham a acontecer a curto, médio e longo prazos. Assim, métodos e tecnologias que auxiliem a aumentar e organizar o conhecimento existente sobre as pragas exóticas e seus respectivos bioagentes exóticos, assim como a investigação, avaliação da informação existente e apoio à tomada de decisão sobre quais pragas exóticas são consideradas de interesse nacional, são imprescindíveis para efeito de quarentena e, conseqüentemente, para a defesa agropecuária brasileira. As culturas de citros e cana-de-açúcar, além de significativas para o agronegócio paulista, são de destacada importância para o valor da produção econômica brasileira; acrescenta-se ainda a importância desses cultivos para a geração de empregos no campo. Destaca-se também a participação da cadeia produtiva florestal no PIB nacional (cerca de 4%), com grande potencial de expansão de áreas desses cultivos no estado de São Paulo para a sua região oeste e de crescimento da demanda para o fornecimento de madeiras de florestas plantadas (eucalipto e pinus). Há que se considerar ainda que mais de 1% das áreas de pomares de laranja do estado de São Paulo vêm sendo cedidas para áreas de cana-de-açúcar, soja e eucalipto. Outro setor de grande crescimento previsto também para o país é o de flores/plantas ornamentais, onde São Paulo vem sendo responsável por cerca de 70% da produção (com área cultivada por categoria: 50% para plantas ornamentais, 29% para flores de corte e 13% para flores em vaso), com 85% do consumo ocorrendo na região Sudeste. Entretanto, os monocultivos extensivos atrelados às condições de clima e de manejo do estado de São Paulo, favorecem o aparecimento de pragas diferenciadas que incidem drasticamente nos custos de controle e de produção. Diante do cenário paulista e de outros encontrados no Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) vem destacando a importância de se acompanhar a expansão da agricultura brasileira por meio da apresentação de “medidas modernas e eficazes para detectar e reduzir a disseminação das pragas entre as regiões e unidades federativas, além de impedir a entrada de pragas exóticas”. Nesse contexto, a apresentação de medidas quarentenárias que antecipem a introdução de pragas, por meio da análise de risco quali-quantitativo, ou que auxiliem acompanhar aspectos favoráveis à introdução, agilizar alertas, propiciar aspectos estratégicos voltados ao monitoramento e à introdução de bioagentes exóticos, bem como subsidiar a regulamentação de danos em materiais vegetais propagativos baseados em uma única técnica e/ou protocolo de diagnose são imprescindíveis para ações mais efetivas voltadas à defesa fitossanitária das principais culturas do estado de São Paulo.

Objetivo

Desenvolver métodos e aplicativos que contemplem formas de prevenção/controle/erradicação de pragas quarentenárias de citros, cana-de-açúcar, eucalipto e flores/plantas ornamentais e o intercâmbio internacional de plantas e de bioagentes de controle, em apoio à defesa agropecuária no estado de São Paulo.

Principais contribuições

- 1- Desenvolvimento de um sistema informatizado denominado SysRiskQuarantine, elaborado como método para integrar sistemas desenvolvidos no âmbito das atividades do projeto e disponibilizar acesso rápido aos resultados obtidos, a saber:
 - 1.1. Banco de dados de pragas quarentenárias A1 da MAPA IN nº 41 de 01/07/2008 – criado para a identificação de pragas A1 com potencial de provocar danos nas culturas de citros, cana-de-açúcar, eucalipto e flores/plantas ornamentais (dado que na IN nº 41 não foram listadas as culturas-alvo das pragas A1 e A2) e de se permitir a identificação de seus respectivos agentes de biocontrole em seus países de origem;
 - 1.2. Sistema de monitoramento em campo de pragas de eucalipto por cartão amarelo – Monitora Cartão (MonitCard);
 - 1.3. Sistema de Gerenciamento de processos de introdução e pesquisas de pragas quarentenárias e bioagentes de controle do LQC – GerProcQuarentena;
 - 1.4. Sistema de estimativa de fases ninfais do psilideo-de-concha por amostragens de tamanhos de concha - ContaConcha
 - 1.5. Bancos de dados bioecológicos com informações das principais pragas e inimigos naturais, bem como identificação de áreas de cultivo no estado de São Paulo, das culturas de citros, cana-de-açúcar, eucalipto e flores/plantas ornamentais, e de seus principais fatores abióticos municipais.
- 2- **Diagnose molecular:** foram otimizados os processos de extração de DNA e RNA de amostras, onde foram realizados o desenho e/ou síntese dos iniciadores. Foi realizada a purificação dos fragmentos amplificados para as principais doenças de cana de açúcar: **escaldadura, raquitismo, mosaico,**

amarelinho, carvão, ferrugem laranja, fijivirus, bem como a clonagem dos fragmentos amplificados em PGEM-T. O sequenciamento dos fragmentos amplificados e BLAST para certificação das doenças cujas sequências foram enviadas ao Genbank: **bactéria: *Leifsonia xyli* subsp. *Xyli* - JN869982 ? raquitismo; bactéria: *Xanthomonas albilineans* - JF699512 - escaldadura; vírus: Sugarcane yellow leaf virus - JN881345 - amarelinho; vírus: Sugarcane mosaic virus - JF699509 ? mosaico; vírus: Fiji disease virus- JF699508 – Fiji fungo: *Puccinia kuehnii* - JF699510 - ferrugem alaranjada e fungo: *Sporisorium scitamineum* JF699511 - carvão**. As sequências das mais recentes doenças, **Mancha da curvularia causada pelo fungo *Curvularia inaequalis* e a virose Sugarcane streak mosaic vírus** estão sendo submetidas ao Genbank. Para a validação das análises de PCR em tempo real com DNA de amostras de plântulas, no caso de fijivirus, foram realizados testes com DNA purificado de fragmento amplificado misturado com extração de DNA de cana-de-açúcar sadia. Foram desenvolvidos nove pares de iniciadores das regiões mais conservadas de regiões de genomas de plantas de cana-de-açúcar conhecidas pela literatura como sendo de marcadores para resistência à **ferrugem marrom**. O **DNA foliar de vinte variedades de cana-de-açúcar foi extraído** pela metodologia modificada de Doyle & Doyle (Focus, 12:13-15, 1990). O PCR foi feito para reações de 15 µl utilizando-se os primers desenvolvidos pelo laboratório. Para a cultura dos citros, foram iniciados estudos para avaliar Huanglongbing (HLB) e sua interação com o inseto vetor-psílideo, *Diaphorina citri*, e similaridades na diagnose e epidemiologia, visando métodos de controle.

- 3- Atualização do Sistema Internacional de Informações sobre controle biológico – <http://www.cnpma.embrapa.br/biocontrol/> com informações obtidas e registradas nas bases de dados geradas pelo projeto.
- 4- Solicitações dos processos de introdução de bioagentes de controle de pragas de eucalipto via LQC/Embrapa Meio Ambiente: importação da Austrália de *Cleruchoides noackae* para o controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* (em 03/09/2010 e em 27/06/2011); importação de Israel dos parasitoides do complexo *Aprostocetus*, *Quadrastichus* e *Megastigmus* spp para o controle biológico *Leptocybe invasa* (em 03/09/2009).

Impactos

Sociais

Os resultados obtidos nas análises moleculares de bactérias e fungo em cana-de-açúcar, realizados em atividades desse projeto, recebeu o **Prêmio Victoria Rossetti**, pela contribuição social resultante da disponibilização das identificações do trabalho: SAWAZAKI, H. E.; GONÇALVES, C. R. N. C. B.; SÁ, L. A. N. de; VEGA, R. F. A.; RIBEIRO, C.; MARTINS, M. C.; CARVALHO, V. C.; SENGER, M. M. M. **Análises moleculares de bactérias e fungo em cana-de-açúcar**. XXXIII Congresso Paulista de Fitopatologia, Ituverava/SP, 2 a 4/2/2010. Os resultados dos bancos de dados do projeto subsidiaram ações coordenadas pelo MAPA/UTRA Campinas para o fortalecimento do sistema de Vigilância Fitossanitária do estado de São Paulo (VIGIFITO), iniciados no final de 2011, para a apresentação de planos de emergência para a área de quarentena vegetal voltados ao cultivo de citros (**subgrupo citros São Paulo**) - trabalho realizado em parceria com a Embrapa Meio Ambiente, Instituto Biológico, Apta/Centro de Citricultura de Sorocaba, Apta/Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Fundecitros, e ESALQ/USP, cujos resultados foram apresentados no sistema informatizado **QuarVeg**, desenvolvido nesse trabalho e apresentado em 12/12/2012 pela coordenadora no MAPA em Brasília/DF. Essa ação, elencou as principais pragas quarentenárias A1 com risco de entrada de curto prazo para afetar o cultivo de citros, relatando informações biológicas detalhadas, auxiliando sua identificação e sintomas, possibilitando identificar sua distribuição geográfica, subsidiando informações sobre partes dos cultivos afetados e de dispersão da praga, bem como outras relativas a procedimentos para sua detecção, contenção de áreas, materiais e formas de coleta, entre outras. Trata-se portanto, **de uma forma ágil de capacitar técnicos, fiscais e pesquisadores do MAPA para a identificação das pragas A1 de citros**, para saberem como agir em caso de suspeita de presença. Foram levantadas pragas A1 com potencial de entrada no país em cultivos de eucalipto, já relatadas ao Programa de Proteção Florestal -PROTEF/IPEF em 2011, parceiro desse trabalho, visando subsidiar a identificação em monitoramentos em curso nos hortos florestais. Houve capacitação de vários estagiários de graduação das áreas de Engenharia Ambiental e de Biologia, com apresentação de trabalhos com bolsas do CNPq ou estágio obrigatório.

Econômicos

As solicitações acompanhadas pelo LQC de introdução do parasitoide *Cleruchoides Noakae* para biocontrole do percevejo bronzeado (principal praga do cultivo do eucalipto) foram realizadas com sucesso, favorecendo a disponibilização desse parasitoide exótico para sua multiplicação em laboratórios da FCA/UNESP campus de Botucatu e Embrapa Florestas. Dessa forma, contribuiu para a redução do uso de agrotóxicos e, conseqüentemente, custos de controle da praga nos hortos florestais onde o inseto vem sendo liberado pelo PROTEF/IPEF, parceiro desse projeto. Informações disponibilizadas pelo banco de dados de pragas quarentenárias A1 foram utilizadas para agilizar a elaboração de uma nota técnica do LQC/Embrapa Meio Ambiente em 2013, identificando os principais bioagentes de controle de *Helicoverpa armigera* já utilizados em diferentes cultivos atacados no exterior. Essa ação identificou países com características climáticas mais próximas àquelas encontradas no Brasil, direcionando esforços para a importação, caso necessária, de bioagentes mais factíveis de sucesso. Desse modo, minimizou tempo na recuperação da informação como também custos atrelados à busca de bioagentes exóticos em locais pouco compatíveis às condições climáticas nacionais e, assim, com maior risco de insucesso. Foi possível, em curto período de tempo, disponibilizar trabalhos de estimativas de desenvolvimento de *H. armigera* em cultivos de São Paulo, fundamentadas em informações recuperadas do BD de pragas A1, que permitiram estimar comportamentos e dispersão do inseto, disponibilizadas em trabalhos apresentados em 2013 e 2014 (Caravana Embrapa).

Ecológicos

Os resultados disponibilizados pelo sistema ContaConcha, mesmo que não totalmente finalizado, como inicialmente pretendido, já fornecem subsídios para identificar momentos mais propícios ao uso de bioagentes de controle do psilideo-de-concha, por fornecer subsídios quanto a presença de estádios ninfais preferenciais ao parasitoide exótico *Psyllaphegus bliteus* a partir da medida das conchas fotografadas. Desse modo, orienta a liberação do parasitoide em momentos mais propícios à eficiência do biocontrole, visto que este tem preferências por estádios ninfais específicos. As solicitações acompanhadas pelo LQC referente à introdução do parasitoide *Cleruchoides Noakae* para biocontrole do percevejo bronzeado (principal praga do cultivo do eucalipto), realizada com sucesso, favoreceu a disponibilização do parasitoide exótico contribuindo para a redução do uso de agrotóxicos para controle de

Thaumastocoris peregrinus em hortos florestais onde o inseto vem sendo liberado pelo PROTEF/IPEF, parceiro desse projeto.

Literatura recomendada

GIRALDI, B.; PESSOA, M. C. P. Y.; SA, L. A. N. de; HALFELD-VIEIRA, B. de A.; MARINHO-PRADO, J. S. Banco de dados de pragas de flores e plantas ornamentais - Apoio à análise de risco de pragas quarentenárias no Estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., 2011, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Entomológica do Brasil, 2011. PT.02.56.

GIRALDI, B.; PESSOA, M. C. P. Y.; SA, L. A. N. de; HALFELD-VIEIRA, B. de A.; MARINHO-PRADO, J. S. Banco de dados de pragas quarentenárias A1: apoio ao sistema de análise de risco de introdução e estabelecimento de pragas quarentenárias do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5., 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2011. 1 CD ROM. N. 11414.

LAZARIN, D. F.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; MARINHO-PRADO, J. S. Avaliações preliminares da dinâmica populacional do percevejo bronzeado em *Eucalyptus camaldulensis* em condições de criação laboratorial – estudo por simulação numérica. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5., 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2011. 1 CD ROM. N. 11405.

MAZUCHI, T.; PESSOA, M. C. P. Y. **Desenvolvimento de sistema computacional para apoiar à análise de risco de introdução e estabelecimento de pragas de eucalipto, citros e cana-de-açúcar no estado de São Paulo.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2010. 17 p. Relatório final de estágio bolsa CNPq.

MAZUCHI, T.; PESSOA, M. C. P. Y.; SA, L. A. N. de. Desenvolvimento de banco de dados bioecológicos para apoio à análise de risco de introdução de pragas quarentenárias dos cultivos de citros, eucalipto e cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 4., 2010, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC: ITAL: APTA: Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2010. 1 CD-ROM.

PESSOA, M. C. P. Y.; MAZUCHI, T.; SA, L. A. N. de. Banco de dados bioecológico para apoiar a análise de risco de introdução e estabelecimento de pragas quarentenárias no estado de São Paulo In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 23., 2010,

Natal. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Entomologia: Emparn, 2010. 1 CD-ROM. Pôster P1617.

PESSOA, M. C. P. Y; MAZUCHI, T; SÁ, L. A.N. de. **Organização de informações das bases de dados de principais municípios produtores e das principais pragas e agentes de controle biológico da cultura de citros do estado de São Paulo.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2010. 17 p. Relatório Técnico LQC nº842/2010.

PESSOA, M. C. P. Y; MAZUCHI, T; SÁ, L. A.N. de **Organização de informações das bases de dados de principais municípios produtores e das principais pragas e agentes de controle biológico da cultura de cana-de-açúcar do estado de São Paulo.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2010. 17 p. Relatório Técnico LQC nº841/2010.

SÁ, L. A. N. de; TORDIN, M. C. **Controle biológico da praga do eucalipto.** Rio de Janeiro: Rádio Nacional, 2010. Duração: 14 min. Programa de rádio.

SA, L. A. N. de; PESSOA, M. C. P. Y.; PRADO, J. S. M.; HALFELD-VIEIRA, B. de A.; PRADO, S. de S.; WILCKEN, C. F. Possibilities on technical-cooperation between "Costa Lima" quarantine laboratory of EMBRAPA environment (Brazil) and worldwide research institutions promoting biological control programs overseas. In: IUFRO FOREST PROTECION JOINT MEETING, 2011, Colonia Del Sacramento. **Proceedings...** Colonia del Sacramento: INIA; IUFRO; Universidad de la Republica, 2011. Nº PDE36

SAWAZAKI, H. E.; GONÇALVES, C. R. N. C. B.; POLEZ, V. L. P.; SA, L. A. N. de; VEIGA, R. F. A.; GRANDI, S.H.R. Caracterização molecular do sugarcane streak mosaic virus (SCSMV). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 38, supl. resumo 256, 2012. Edição dos resumos do 35º Congresso Paulista de Fitopatologia, 2012, Jaguariúna.

SAWAZAKI, H. E.; GONÇALVES, C. R. N. C. B.; SA, L. A. N. de; VEGA, R. F. A.; RIBEIRO, C.; MARTINS, M. C.; CARVALHO, V. C.; SENGER, M. M. M. Análises moleculares de bactérias e fungo em cana-de-açúcar. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 33., 2010, Ituverava. **Resumos...** Ituverava: Grupo Paulista de Fitopatologia, 2010.

STIVANELLI, A.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N. de. **Informática aplicada à catalogação de informações para os cultivos de citros, eucalipto, cana-de-açúcar e flores/plantas ornamentais em apoio à análise de risco potencial de sua introdução e estabelecimento no Estado de São Paulo.** Jaguariúna: Embrapa Meio

Ambiente, 2009. 30 p. Relatório Final de Estágio Supervisionado com Bolsa ITI-A CNPq.

WILCKEN, C. F.; DIAS, T. K. R.; ZACHÉ, B.; PEREIRA, R. A. A.; LIMA, A. C. V.; SA, L. A. N. de; BARBOSA, L. R.; ZANÚNCIO, J. C. **Vespa-da-galha do eucalipto (*Leptocybe invasa*) no Brasil. Projeto Cooperativo de Monitoramento e Manejo de Pragas Exóticas do Eucalipto (PROTEF/IPEF)**. [S.l.]: IPEF, 2011. 1 Folder.

WILCKEN, C. F.; SÁ, L.A.N. de; BERTI FILHO, E.; FERREIRA FILHO, P. J.; OLIVEIRA, N. C. de; DAL POGETTO, M. H. F. A.; SOLIMAN, E.P. Plagas exóticas de importância en Eucalyptus en Brasil. In: JORNADAS FORESTALES DE ENTRE RIOS, 23., 2008, Concórdia, Argentina. **Anales..** Concórdia: INTA, 2008. 5p.

WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E.P.; SA, L. A. N. de; BARBOSA, L. R.; DIAS, T. K. R.; FERREIRA FILHO, P. J.; OLIVEIRA, R. J. R. Bronze bug *thaumastocoris peregrinus* carpintero and dellapé (hemiptera: thaumastocoridae) on eucalyptus in Brazil and its distribution. **Journal of Plant Protection Research**, Poznań, v. 50, p. 201-205, 2010.

WILCKEN, C. F.; SA, L. A. N. de; POGETTO, M. H. F. A. D.; COUTO, E. B. do; FERREIRA FILHO, P. J.; WINCKLER, D. C. F. Sistema de criação do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus*. **Documentos Técnicos IPEF**, Piracicaba, v. 2, p. 1-23, 2010.

WILCKEN, C. F.; BARBOSA, L.R.; SÁ, L. A. N. de; SOLIMAN, E. P.; LIMA, A. H. V.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; DIAS, T. C. R. Manejo de pragas exóticas em florestas de eucalipto. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SILVICULTURA, 2, 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: [s.n.], 2011. p. 130-134.