

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA
AGROPECUÁRIA**

DAVI FERREIRA DE AMORIM

**ESTRATÉGIAS DE VIGILÂNCIA DO HUANGLONGBING DOS CITROS NA
BAHIA: ROTAS SENTINELAS E ÁREA REGIONAL DE MANEJO**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
SETEMBRO – 2022**

DAVI FERREIRA DE AMORIM

**ESTRATÉGIAS DE VIGILÂNCIA DO HUANGLONGBING DOS CITROS NA
BAHIA: ROTAS SENTINELAS E ÁREA REGIONAL DE MANEJO**

Bacharel em Engenharia Agrônômica
Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Defesa Agropecuária na Área de Ciências Agrárias.

Orientadora: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

Coorientador: Dr. Eduardo Chumbinho de Andrade

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
SETEMBRO – 2022**

DEDICATÓRIA

Dedico esse projeto a minha mãe Andréa, uma guerreira, minha noiva Mykaella que desde o meu ingresso, foi uma batalhadora ao meu lado, nunca me deixando desanimar nas adversidades, meu saudoso pai, Raymundo Amorim (*in memoriam*), meus irmãos, acreditando que sem esse apoio e incentivo não teria o sucesso gradativo em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de tudo a Deus, acreditando que todo nosso esforço e crescimento, tem um propósito aqui na Terra, pois com fé e sabedoria, estaremos sempre evoluindo, tanto como pessoa quanto profissional.

À Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) por meio da minha Orientadora Dra. Suely Xavier Brito da Silva pela paciência, dedicação e ensinamentos diários, fazendo com que eu sempre buscasse a evolução.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) possibilitando a realização do curso de mestrado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) através do Centro Nacional de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMPF) pela disponibilização de sua infraestrutura de laboratórios.

Aos meus coorientadores Dr. Eduardo Chumbinho de Andrade e Dr. Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa, pesquisadores da EMBRAPA/CNPMPF, os quais compartilharam conhecimento científico e orientação na condução da pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, pelas sugestões e críticas para aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos amigos Adabianos, Antônio Lopes, Maria Aparecida, Marcos Humberto, Cleomenes Nunes, Lousane Lordelo, Carlos Vidal, Ricardo Motta, Jumara Santos, Paulo de Tarso, Edivan Conceição, Gerson Lobo e Aurino Soares.

Aos professores do curso de Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária, pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso, em especial a Profa. Dra. Marilene Fancelli.

E aos colegas do curso, pelo vínculo de amizade adquirido ao longo do curso, em especial a três amigos: Ruy Suzart, Ismael e Stenilson.

“Nós estudantes vivemos em busca da sabedoria, portanto devemos ter a sede do saber”!
Merari Tavares

AMORIM, D. F., **ESTRATÉGIAS DE VIGILÂNCIA DO HUANGLONGBING DOS CITROS NA BAHIA: ROTAS SENTINELAS E ÁREA REGIONAL DE MANEJO**

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

Professor/Advisor: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

RESUMO

A Bahia, 2º produtor de laranjas no ranking nacional de área plantada com cítricos, possui uma citricultura de base familiar e alicerçada em práticas tradicionais de cultivo. As ameaças fitossanitárias colocam em risco esta atividade, requerendo especial atenção dos segmentos da defesa agropecuária e da pesquisa para manter a área indene. O trabalho objetivou monitorar uma possível invasão da bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. (CLA's) a partir da coleta do inseto vetor, *Diaphorina citri*, em rotas sentinelas e avaliar a flutuação populacional do vetor *D. citri* em Área Regional de Manejo (ARMA), através do uso de armadilhas amarelas adesivas que permitiram a captura do inseto vetor, instaladas nos municípios de Cruz das Almas e Muritiba. As rotas candidatas a “positivas” se diferenciam das “negativas” pelos seguintes atributos: concentração de hospedeiros, presença de rodovias, intensidade no trânsito de pessoas, abundância do inseto vetor e sítios turísticos. A frequência de coleta foi trimestral, utilizando aspirador entomológico na coleta de adultos de *D. citri* hospedados em plantas cítricas e de murtas (*Murraya paniculata*). Ovos e ninfas também foram coletados, recolhendo parte das plantas. Foram estabelecidas quatro rotas candidatas a positivas: Oeste Baiano, Chapada Diamantina, Recôncavo e Litoral Norte; e três rotas candidatas “negativas”: Linha Verde, Baixo Sul e Estrada do Feijão. O material coletado foi acondicionado em microtubos com álcool 95% e encaminhado ao Laboratório de Virologia Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura para diagnose da bactéria mediante o teste de PCR em tempo real. Nos anos de 2019 a 2021, coletou-se nas rotas candidatas a “positivas” um total de 5.909 adultos e nas rotas candidatas a “negativas” 3.119 adultos. As amostras analisadas com tecido vegetal testaram negativas e as de inseto, 99% testaram negativas. Apenas duas coletas de psilídios no Oeste Baiano, em abril 2021, testaram positivas, o que não se confirmou na segunda coleta de insetos, nem de hospedeiros, realizada nos mesmos pontos. A Bahia permanece com o status de livre do HLB dos citros. Na ARMA, a flutuação populacional do vetor *D. citri* foi avaliada com base no número de adultos capturados em 41 armadilhas amarelas adesivas, dispostas de forma circular, compreendendo uma área de 12.79km² e raio de 4km, instaladas sobre plantas de citros e de murta. No período de março/2021 a abril/2022, a leitura bilateral das faces das armadilhas registrou 3.831 psilídeos. A detecção precoce da invasão de CLA's no território baiano é importante para o serviço de vigilância fitossanitária, permitindo celeridade nas estratégias de erradicação de focos, evitando assim a disseminação de uma enfermidade devastadora como o HLB dos citros.

Palavras-Chave: Defesa Vegetal, Inseto vetor, Vigilância fitossanitária, *Candidatus Liberibacter* spp.

AMORIM, D. F., SURVEILLANCE STRATEGIES FOR CITRUS HUANGLONGBING IN BAHIA: SENTINEL ROUTES AND REGIONAL MANAGEMENT AREA

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

Professor/Advisor: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

ABSTRACT

The Bahia State, Brazil, is 2nd producer of oranges in the national ranking of area planted with citrus, and has a family-based citrus industry with traditional cultivation practices. Phytosanitary threats put this activity at risk, requiring special attention from the agricultural defense and research segments to keep the area unharmed. The work aimed to monitor a possible invasion of *Candidatus Liberibacter* spp. (CLA's) from the collection of the insect vector, *Diaphorina citri*, in sentinel routes and to evaluate the vector fluctuation population at the Regional Management Area (ARMA), through the use of yellow sticky traps that allowed the capture of the vector insect, installed at the municipalities of Cruz das Almas and Muritiba. Candidate routes for “positive” are distinguished from “negative” by the following attributes: hosts concentration, presence of highways, intensity in the traffic of people, abundance of the vector insect and tourist sites. The collection frequency was quarterly, using an entomological vacuum to collect *D. citri* adults hosted on citrus plants and myrtles (*Murraya paniculata*). Eggs and nymphs were also collected and part of the plants. Four candidate routes for “positive” were established: Oeste Baiano, Chapada Diamantina, Recôncavo and Litoral Norte; and three “negative” candidate routes: Linha Verde, Baixo Sul and Estrada do Feijão. The material collected was placed in microtubes with 95% alcohol and sent to the Laboratory of Plant Virology at Embrapa Cassava and Fruticulture for diagnosis of the bacteria by real-time PCR test. In the years 2019 to 2021, a total of 5,909 adults were collected on the “positive” candidate routes and 3,119 adults on the “negative” candidate routes. The samples analyzed with plant tissue tested negative and those of insect, 99% tested negative. Only two psyllid collections in Oeste Baiano, in April 2021, tested positive, which was not confirmed in the second collection of insects, nor of hosts, carried out at the same points. Bahia remains with the free status of the Citrus HLB. In ARMA, the population fluctuation of the vector *D. citri* was evaluated based on the number of adults captured in 41 yellow sticky traps, arranged in a circular shape, comprising an area of 12.79km² and a radius of 4 km, installed on citrus plants and of myrtle. In the period from March/2021 to April/2022, the bilateral reading of the trap faces recorded 3,831 psyllids. The early detection of CLA's invasion in the Bahian territory is important for the phytosanitary surveillance service, allowing celerity in the strategies to eradicate outbreaks, thus preventing the spread of a devastating disease such as citrus HLB.

Keywords: Plant Defense, Insect vector, Phytosanitary surveillance, *Candidatus Liberibacter* spp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Status de ocorrência do HLB dos citros no Brasil.....	16
Figura 02 – Comparativo de área de citros entre a Bahia e o Recôncavo Baiano.....	22
Figura 03 – Ciclo de vida de <i>Diaphorina citri</i> , vetor do HLB	23
Figura 04 – Sintomas do HLB em folhas e frutos de plantas de citros	25
Figura 05 – Parasitismo de <i>Diaphorina citri</i> e estágios do parasitismo de ninfa de <i>D. citri</i>	27
Figura 06 – Regiões produtoras de citros classificadas quanto ao risco de introdução do HLB.....	39
Figura 07 – Equipe EMBRAPA/ADAB/UFRB.....	41
Figura 08 – Mapas das rotas candidatas a Positivas (A) e candidatas a Negativas (B).....	42
Figura 09 – Mapas das rotas candidatas positivas e negativas.....	44
Figura 10 – Adultos de <i>Diaphorina citri</i> coletados por meio de aspirador entomológico...46	
Figura 11 – Comparativo entre nº de amostras realizadas 2019x2020x2021	50
Figura 12 – Comparativo de insetos coletados 2019x2020x2021.....	51
Figura 13 – Total de insetos coletados nas rotas sentinelas estabelecidas no Estado da Bahia, compreendido no período de 2019 a 2021, por ocasião do monitoramento da invasão da bactéria do HLB dos citros.....	52
Figura 14 - Quantificação de hospedeiros mapeados nas rotas sentinelas estabelecidas na Bahia, compreendidos no período de 2019 a 2021, por ocasião do monitoramento da invasão da bactéria do HLB dos citros.....	54
Figura 15 - Esquema ilustrativo da análise de PCR quantitativo em tempo real com os amplicons das amostras provenientes da rota sentinela Oeste – 8ª coleta.....	55
Figura 16 - Delimitação das áreas foco, conforme estabelecimento de circunferência de raio de 4km, nas zonas urbanas de Bom Jesus da Lapa (à direita) e São Félix do Coribe (à esquerda)	56
Figura 17 – Esquema ilustrativo da análise de PCR quantitativo em tempo real com os amplicons de novas amostras de material vegetal e de insetos coletados, provenientes da rota Sentinela Oeste.....	57
Figura 18 – Mapa da medição Distance radius para escolha dos 41 pontos georreferenciados correspondentes à localização das armadilhas amarelas adesivas nos municípios de Cruz das Almas e Muritiba.....	66
Figura 19 – Total de perímetro e área dos pontos colocados com armadilhas adesivas amarelas.....	67

Figura 20 – Mapas da localização das armadilhas adesivas amarelas instaladas em áreas domésticas (ícones brancos) e em comerciais (ícones vermelhos)	68
Figura 21 – Manutenção da armadilha, instalada no terço superior da planta.....	68
Figura 22 – Geolocalização da ARMA com levantamento de voo (drone), para observação dos locais onde seriam instaladas as armadilhas adesivas amarelas	69
Figura 23 – Armadilha adesiva amarela etiquetada (Ponto, lado e a data) e materiais utilizados na quantificação, leitura e etiquetagem.....	69
Figura 24 – Conjunto caixa de isopor e caixilho de madeira para acondicionamento dos insetos capturados	70
Figura 25 – Quantificação de psilídeos capturados nas armadilhas amarelas adesivas.....	71
Figura 26 – Armadilha com insetos capturados em destaque.....	72
Figura 27 – Quantificação de psilídeos capturados.....	73
Figura 28 - Heatmap dos cinco pontos com menor quantitativo de psilídeos capturados.....	74
Figura 29 – Heatmap dos cinco pontos com maior quantitativo de psilídeo.....	74
Figura 30 – Total de psilídeos capturados nas áreas domésticas e comerciais.....	75
Figura 31 – Comparativo dos pontos com as maiores capturas de psilídeos nas áreas comerciais e domésticas.....	77
Figura 32 – Comparativo dos pontos com menores capturas de psilídeos nas áreas comerciais e domésticas.....	78
Figura 33 - Mapa de calor, destacando o P12, no centro da concentração de calor, sendo o ponto com maior número de psilídeos capturados ao longo do estudo.....	79
Figura 34 - Planta hospedeira cítrica parasitada com cipó-chumbo.....	80
Figura 35 - Ponto com menor quantitativo de psilídeos no total.....	81
Figura 36 - Insetos adultos de <i>D. citri</i> capturados, visto através de uma lupa ou a olho nu.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Quantitativo de coletas e número de adultos de *Diaphorina citri* capturados em rotas sentinelas candidatas a positivas (quatro primeiras) e a negativas (três últimas), ambas nominadas na 1ª coluna da esquerda da tabela, no período de 2019 a 2021, no Estado da Bahia.....49

LISTA DE QUADROS

Quadro 01- Estratégias e medidas de controle do HLB.....	28
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADAB – Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia

ARMA – Área Regional de Manejo

Ca' – *Candidatus*

CFO – Certificado Fitossanitário de Origem

CLA's _ *Candidatus Liberibacter americanus*

CNPMPF – Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical

DsRNAs – Fita dupla Ácido Ribonucléico

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HLB – Huanglongbing

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

PCR – Proteína C-reativa

rt – PCR - Proteína C-reativa em Tempo Real

PNCHLB – Programa Nacional de Prevenção e Controle do HLB dos Citros

RNA – Ácido Ribonucléico

SAC - Serviço de Atendimento ao Consumidor

SAJ - Santo Antônio de Jesus

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OEDSVs – Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal

P – Ponto

PAC – Psilídeo Asiático dos Citros

T. – Tamarixia

UF – Unidade da Federação

UFRB – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

LISTA DE SÍMBOLOS

° – graus

% – porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. HIPÓTESE	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 Geral	21
3.2 Específicos	21
4 REVISÃO DE LITERATURA	22
4.1 CITRICULTURA	22
4.1.1 Mundial	22
4.1.2 Brasil	22
4.1.3 Bahia	23
4.2 Inseto vetor – <i>Diaphorina citri</i>	23
4.3 Sintomatologia do HLB	25
4.4 Métodos de controle	26
4.5 Estratégia da Defesa Agropecuária da Bahia para HLB.....	30
4.6 Rotas Sentinelas.....	31
4.7 Área Regional de Manejo.....	32
REFERÊNCIAS	33
Capítulo 1 - Monitoramento da Invasão da Bactéria do HLB dos citros em Rotas Sentinelas do Estado da Bahia	
1 INTRODUÇÃO	40
2 MATERIAIS E MÉTODOS	43
2.1 Caracterização das rotas.....	43
2.2 Coleta de <i>D. citri</i>	46
2.3 Monitoramento da bactéria no vetor.....	47
2.3.1 Extração do DNA.....	47
2.3.2 Detecção por qPCR.....	48
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
4 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	62
Capítulo 2 - Estabelecimento De Área Regional De Manejo no Recôncavo Baiano	
1 INTRODUÇÃO	66
2 MATERIAIS E MÉTODOS	68
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	75
4 CONCLUSÃO.	84
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
REFERÊNCIAS	87
Apêndice A.....	90
Anexo 1.....	91
Anexo 2.....	97
Anexo 3.....	100

1 INTRODUÇÃO

A Bahia, segunda maior área plantada com laranja no Brasil – aproximadamente 55 mil hectares (IBGE, 2020), possui o *status* de área de não ocorrência de cancro cítrico e do Huanglongbing dos citros (HLB), duas doenças bacterianas e de máxima importância para a citricultura mundial, pois, são classificadas como pragas quarentenárias e por isso, estão regulamentadas em diversos países.

Para manter o referido status, o órgão de defesa agropecuária na Bahia atua de forma estratégica na fiscalização do trânsito e comércio de material propagativo que ingressa no estado, assim como disciplinando o setor de produção estadual, haja vista que as pragas e doenças dos citros nos seus mais variados aspectos e tipos de agentes causais representam perigo para a manutenção sustentável da citricultura baiana (HABIBE *et al.*, 2007).

O psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) é de origem asiática, o primeiro relato de sua ocorrência se deu em Taiwan, em 1907, e atualmente encontra-se amplamente disseminado por todo o continente asiático (BOVÉ, 2006) e nas Américas (HALBERT e MANJUNATH, 2004). O mesmo passou a ter relevância nas áreas citrícolas ao redor do mundo depois que se constatou sua contribuição como inseto vetor da bactéria causadora do HLB dos citros.

No Brasil, sua primeira referência remonta ao ano de 1942 (COSTA LIMA, 1942), relacionando sua ocorrência a citros e a murta (*Murraya paniculata*), planta ornamental, sem ocasionar danos graves aos plantios.

O HLB dos citros, popularmente conhecido como *Greening*, é a praga mais importante da citricultura mundial e está presente no Brasil desde 2004 (Figura 01), e atualmente se encontra, oficialmente, presente nos estados de São Paulo, Minas Gerais, e Paraná (COLETTA-FILHO *et al.*, 2004; NUNES *et al.*, 2007; BELASQUE JUNIOR *et al.*, 2009) e Mato Grosso do Sul, conforme relato de um foco debelado no Mato Grosso do Sul (IAGRO, 2019). A Bahia é reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como área livre da ocorrência de HLB dos citros.

Figura 01- Status de ocorrência do HLB dos citros no Brasil.



Legenda: Status de ocorrência do HLB dos citros no Brasil: oficialmente presente em SP (2004), MG (2006), PR (2007) e relato de detecção em MS (2019). A Bahia é reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como área de não ocorrência da praga. Fonte: SILVA, S.X.B. (2020).

O HLB dos citros é causado por bactérias Gram negativas pertencentes ao gênero *Candidatus Liberibacter* (*Ca. L.*), existindo quatro espécies, com origem geográfica definida: *Ca. L. asiaticus*, originária de países asiáticos, *Ca. L. americanus*, relatada no Brasil em 2005, ambas tendo como vetor o psíldeo *D. citri* e *Ca. L. africanus*, encontrada na África, transmitida por *Trioza erythrae* Del Guercio e a *Ca. L. caribeanus* na região nordeste da Colômbia, América do Sul (BOVÉ, 2006; KERAMANE *et al.*, 2015). No Brasil, a espécie *Ca. L. asiaticus* predomina nas áreas afetadas pelo HLB.

Plantas com sintomas semelhantes aos de HLB foram identificadas tanto em regiões com a ocorrência da doença, quanto em regiões indenes, incluindo a Bahia. Em 2012, houve uma suspeita de ocorrência na Bahia, porém, a análise molecular das amostras de hospedeiro não detectou a presença da bactéria, mas de um fitoplasma do Grupo IX (TEIXEIRA *et al.*, 2010, SANCHES *et al.*, 2018).

Além dos citros, tanto a bactéria quanto o inseto vetor têm como hospedeiro a espécie ornamental conhecida como murta (*Murraya paniculata*), amplamente utilizada em projetos de paisagismo.

Até o momento, não existe resistência genética identificadas no gênero *Citros* às bactérias causadoras do HLB. Assim, as estratégias de manejo de HLB atualmente

empregadas no estado de São Paulo consistem no plantio de mudas certificadas, no controle do inseto vetor e na remoção de plantas infectadas (FUNDECITRUS, 2020).

Plantas infectadas com HLB apresentam morte econômica em curto espaço de tempo e morte biológica com ataque severo da bactéria. Um agravante desta doença é o elevado período de incubação, podendo variar de 6 a 18 meses (MANJUNATH *et al.*, 2008). Por isso, uma planta contaminada no campo pode permanecer sem apresentar sintomas da doença por todo este período, todavia, servindo como fonte de inóculo da bactéria.

As principais formas de disseminação da doença são a transmissão via material propagativo (mudas e borbulhas) infectado e pelo inseto vetor (Bové, 2006).

No contexto da defesa fitossanitária, o material propagativo atua mais fortemente na disseminação a longa distância, sendo a principal forma de introdução da bactéria em áreas indenes. Uma vez presente na área, a doença é disseminada a curtas distâncias por *D. citri*. Assim, além do controle do trânsito de material vegetal, conhecer a densidade e flutuação populacional do inseto vetor é condição imprescindível para a tomada de decisão dos órgãos de defesa agropecuária.

Dito isto, no estado da Bahia, a Agência Estadual de Defesa Agropecuária (ADAB) tem envidado esforços para fiscalizar desde a produção, passando pelo trânsito vegetal, até a comercialização de material propagativo das espécies hospedeiras (*Citrus* e *M. paniculata*).

As fiscalizações de trânsito de vegetais podem ser de dois tipos: em barreiras fixas e móveis, quando a ADAB retira de circulação mudas cítricas e de *Murraya* que não tenham a certificação fitossanitária de origem (CFO), ou que tenham sido produzidas em UF's com ocorrência do *Greening*. Como exemplo, a operação intitulada “Nem Tudo São Flores”, ocorrida na Região Metropolitana de Salvador em 2019 (ADAB), quando foram apreendidas 1.423 mudas de cítricos e 799 mudas de *Murraya* (SILVA, 2019) e 20.888 mudas cítricas, em sua edição de 2021, quando ocorreu a ampliação e interiorização da operação, tendo contemplado 62 municípios baianos, distribuídos em 17 Territórios de Identidade: Metropolitano, Baixo Sul, Litoral Sul, Litoral Norte e Agreste Baiano, Itaparica, Sertão do São Francisco, Irecê, Portal do Sertão, Piemonte do Paraguaçu, Chapada Diamantina, Velho Chico, Bacia do Rio Corrente, Sertão Produtivo, Recôncavo, Vale do Jiquiriçá, Costa do Descobrimento e Extremo Sul (SILVA, 2022).

Igualmente importante à vigilância feita ao material propagativo, o monitoramento da invasão da bactéria é imperativo, pois, nas rotas de maior risco de circulação de material

propagativo e até de frutos, uma possível detecção do inseto vetor que esteja infectivo, se constitui numa vantagem competitiva para a cadeia produtiva, assim como para a ADAB, haja vista que medidas de contenção de um foco poderão ser adotadas, antes mesmo do aparecimento de sintomas no hospedeiro (CAVALCANTE E CERQUEIRA, 2020).

O monitoramento do inseto vetor em áreas indenes pode antecipar a tomada de decisão para controle da doença em 18 meses – tempo máximo estimado para a manifestação de sintomas no hospedeiro, o qual mesmo estando assintomático, serve de fonte de inóculo (MANJUNATH *et al.*, 2008). Estima-se que para cada planta sintomática, existam de duas a 56 plantas infectadas e assintomáticas (Gottwald, dados não publicados).

O monitoramento populacional de psílídeos também é relevante para a defesa agropecuária, pois gera informações importantes sobre a prevalência regional do inseto, sua densidade e flutuação populacional ao longo do ano (sazonalidade). Estas informações poderão indicar as épocas mais críticas para a disseminação do HLB caso este seja introduzido em uma determinada região do estado, além de sinalizar o momento ideal para o controle do vetor.

Em 2011, mediante participação de distintas instituições nacionais e internacionais, a Embrapa Mandioca e Fruticultura propôs o estabelecimento de uma Rede Sentinela no Brasil com o objetivo de amparar e fomentar ações de enfrentamento à ameaça do HLB dos Citros (Andrade, 2011). Aderiram à proposta instituições de pesquisa e agências dos estados do Pará, Rio Grande do Sul e Bahia.

Devido à grande ameaça que é o HLB dos citros à citricultura baiana e à importância de *D. citri* no processo de disseminação da praga, o presente trabalho teve como objetivos: (i) implantar rotas sentinelas de monitoramento de possível invasão da bactéria, mediante captura e detecção molecular da bactéria no inseto vetor; e (ii) implantar uma área regional de manejo para estudo populacional de *D. citri* no Território do Recôncavo.

2 HIPÓTESE

O monitoramento permanente da invasão da bactéria do HLB dos Citros em rotas sentinelas poderá detectar, precocemente, sua presença no inseto vetor hospedado em plantas cítricas e em murtas cultivadas na Bahia.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Estabelecer um sistema de vigilância para detecção precoce da invasão da bactéria do HLB dos citros na Bahia.

3.2 Objetivos Específicos:

- Estabelecer rotas sentinelas de monitoramento de uma possível invasão das bactérias causadoras do HLB dos citros;
- Coletar o inseto vetor (*D. citri*) nas rotas sentinelas;
- Submeter os insetos coletados à análise molecular para detecção da bactéria causadora do HLB;
- Implantar uma área regional de manejo para verificar a densidade e flutuação populacional de *D. citri*.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Citricultura

4.1.1 Mundial

A citricultura se refere ao cultivo ou plantação de frutas cítricas. Os citros compreendem um grande grupo de plantas do gênero *Citrus* representado, na maioria, por laranjeiras, tangerineiras, limoeiros, limeiras ácidas como o Tahiti e o Galego, e doces como a limeira da Pérsia, pomelo, cidra, laranja-azeda e toranjas (MATTOS *et al.*, 2005).

No cultivo da laranja, o continente americano representa 54% de área cultivada, seguido do continente asiático com 26%, continente africano com 10% e europeu com 9% (FAOSTAT, 2017).

A citricultura é uma das atividades agrícolas de maior relevância no mundo e o Brasil é considerado um dos maiores produtores de citros e contribui com cerca de 15% da produção global (FAO, 2017).

4.1.2 Brasil

O Brasil é referência mundial na produção de citros (NEVES, 2010). Atualmente, o país é o maior produtor e exportador mundial de suco de laranja, com 54% e 77%, respectivamente, desses mercados (FNP, 2016).

A produção de laranjas tornou-se uma das mais importantes culturas agrícolas no Brasil. O país detém 50% da produção mundial de suco de laranja e exporta 98% do que produz. O suco de laranja é a bebida à base de frutas mais consumida no mundo, com 35% de participação entre todos os sucos (CASERTA *et al.*, 2020).

Em julho de 2021, as exportações de suco concentrado e congelado atingiram a marca de 87,5 mil toneladas, sinalizando um crescimento de 54% para o setor se comparado ao mesmo período em 2020 (CESEX, 2021).

No segmento de exportações de frutos *in natura*, o destaque é para limões e limas ácidas, cujos embarques nos sete primeiros meses de 2021 totalizaram 93,86 mil toneladas, gerando uma receita de US\$ 74,17 milhões, tendo representado uma elevação da ordem de 20% em comparação ao mesmo período de 2020 (CESEX, 2021).

O cultivo de citros está presente em vários estados do país, sendo que o estado de São Paulo se constitui como o principal polo, correspondendo, aproximadamente, a 80% da produção (IBGE, 2021).

A importância da citricultura vai além da geração de divisas para a economia brasileira. Este setor tem grandes impactos na criação de empregos, na formação de capital, na geração de renda, na agregação de valor e, também, no desenvolvimento regional (ZULIAN; DÖRR; ALMEIDA, 2013).

4.1.3 Bahia

Segundo Rezende, Shibata e Souza (2015), os rendimentos das lavouras de laranja, limão e tangerina no Estado da Bahia são considerados baixos, devido, sobretudo aos seguintes fatores: pomares velhos; incidência de pragas e doenças, com significativos reflexos nos custos de produção; solos de baixa fertilidade; inadequado manejo dos pomares, dentre outros.

Embora os frutos cítricos sejam produzidos em quase todas as regiões fisiográficas do Estado, mais de 80% da produção concentra-se no Recôncavo Baiano e no Litoral Norte (PASSOS, 2004).

A região do Recôncavo Baiano é formada principalmente por pequenos citricultores com áreas inferiores a dez hectares e baixa produtividade. Entretanto, a citricultura nesta região tem forte influência na geração de emprego e de renda (FUNDECITRUS, 2016) (Figura 02).

Figura 02 – Comparativo de área de citros entre a Bahia e o Recôncavo Baiano (em hectares).

Unidade Federativa	Ano	Área Colhida de Citros
Bahia	2020	54762
Recôncavo Baiano	2020	10118

Fonte: IBGE, 2020.

4.2 Inseto Vetor - *Diaphorina citri*

As duas principais formas de disseminação do HLB dos citros são por material propagativo infectado como borbulhas e mudas e pelo inseto vetor (BOVÉ, 2006).

No Brasil, a disseminação do HLB se dá predominantemente pelo inseto vetor *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), conhecido como psilídeo asiático dos citros (PAC). Esse psilídeo foi relatado no Brasil ainda na década de 1940 (COSTA LIMA,

1942), muito antes do aparecimento do HLB dos citros, quando tornou-se a praga de maior importância da citricultura por ser o vetor das bactérias *Candidatus Liberibacter spp.*, as quais são limitadas ao floema das plantas (MCCLEAN & SCHWARTZ, 1970; BOVÉ, 2006).

A principal característica morfológica de *D. citri* para o reconhecimento do inseto em nível de campo é a inclinação do corpo, formando um ângulo de 45° com a superfície da planta (BONANI, 2009; HALL *et al.*, 2012). Os adultos medem de 2,7 mm a 3,3 mm de comprimento e o ciclo de vida varia de 15 a 47 dias, dependendo da temperatura (LIU & TSAI, 2000; HALL *et al.*, 2012). Os ovos são de cor clara e podem apresentar uma coloração amarelo escura (Figura 03) quando do surgimento do primeiro estágio ninfal. A eclosão ocorre, em média, três dias após a postura do ovo (LIU & TSAI, 2000). Existem cinco estágios ninfas que duram de 10 a 40 dias (GRAFTON-CARDWELL *et al.*, 2013).

O inseto adulto alimenta-se preferencialmente em folhas mais novas, na parte abaxial, provavelmente por ser uma região de mais fácil acesso aos vasos do floema (GEORGE *et al.*, 2017). As fêmeas ovipositam até 800 ovos, apenas em tecidos jovens (brotações), nos quais as ninfas se alimentam (GRAFTON-CARDWELL *et al.*, 2013). O intervalo de temperatura mais adequado para o crescimento da população do inseto é de 25-28°C (LIU & TSAI, 2000). O acasalamento e a oviposição estão restritos ao período diurno (WENNINGER & HALL, 2007).

Figura 03- Ciclo de vida de *Diaphorina citri*, vetor do HLB.



Fonte: ALVES, 2020.

Os adultos se alimentam da seiva de caules jovens e de folhas em todos os estágios de desenvolvimento. As ninfas preferem se alimentar em folhas, pecíolos e caules jovens,

secretando, continuamente, grandes quantidades de material tubular do ânus, coberto por um material branco ceroso, supostamente produzido pelas glândulas circum-anais (TSAI & LIU, 2000). As fêmeas adultas também produzem uma substância excretora branca, e os machos produzem gotículas pegajosas e claras (HALL *et al.*, 2010).

O PAC tem aparelho bucal sugador labial e insere seus estiletos nas plantas cítricas para se alimentar do tecido do floema (BONANI *et al.*, 2010).

Com exceção dos ovos, os adultos de PAC tornam-se aclimatados ao frio durante o inverno. No entanto, todos os três estágios de desenvolvimento do inseto podem sobreviver a curtos períodos de frio: relativamente muitos adultos e ninfas sobrevivem após serem expostos por várias horas à temperatura de -6°C e muitas ninfas eclodem após exposição dos ovos por várias horas à temperatura de -8°C (HALL *et al.*, 2011).

O PAC pode se dispersar a longa distância, superior a dois quilômetros, sem auxílio do vento, o que facilita a introdução do patógeno em novas áreas (MARTINI *et al.*, 2014; LEWIS-ROSENBLUM *et al.*, 2015).

O PAC tem uma ampla gama de hospedeiros, mas a grande maioria das espécies de plantas hospedeiras encontra-se dentro da família Rutaceae, subfamília Aurantioideae (subfamília cítrica) (HALBERT & MANJUNATH, 2004). No entanto, algumas plantas não preferidas fora desta família podem ser hospedeiros alternativos aceitáveis, incluindo *Ficus carica* L. (Moraceae) (THOMAS & DE LEÓN, 2011).

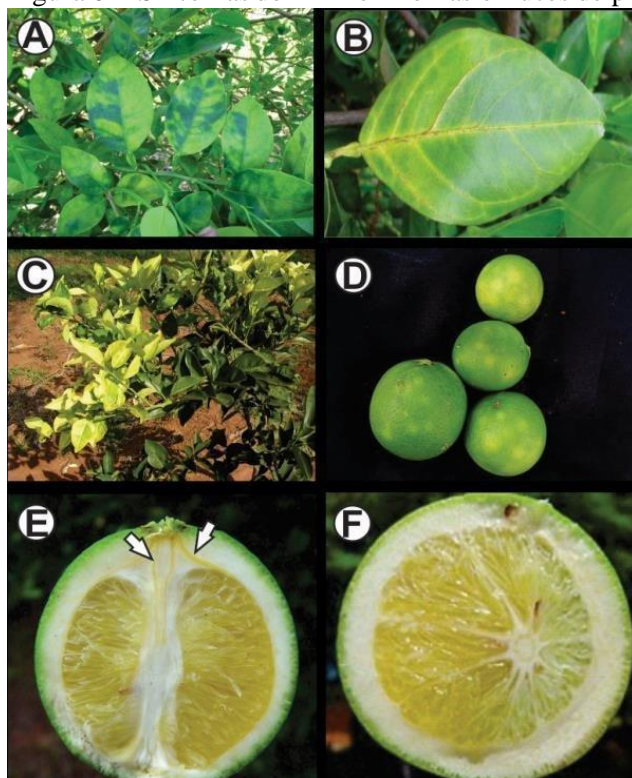
4.3 Sintomas do Huanglongbing dos citros (HLB ou *Greening*)

A doença é causada por bactérias restritas ao floema *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*, sendo transmitidas para as plantas de citros pelo inseto vetor, *Diaphorina citri* (GIRARDI *et al.*, 2011). Como sintomas iniciais do HLB dos citros, observa-se a presença de um ou mais ramos com folhas amareladas e/ou mosqueadas (alternância assimétrica de áreas verdes com áreas amareladas). Em plantas novas, a árvore fica toda comprometida entre um a dois anos. Os frutos de ramos com sintomas da doença não amadurecem normalmente, possuem sementes abortadas e adquirem uma coloração verde clara manchada (FUNDECITRUS, 2013).

Somado a isso, a doença possui um longo período de incubação, e o aparecimento dos sintomas após a infecção pode variar de 6 a 12 meses, considerando as condições climáticas, variedade ou espécie da planta e concentração do patógeno (BOVÉ, 2006) (Figura 04). Diferentemente do período de incubação, o período de latência da doença é

relativamente curto e a planta já pode se tornar fonte de inóculo 15 dias após a infecção por ‘*Ca. Liberibacter*’ (LEE *et al.*, 2015).

Figura 04- Sintomas do HLB em folhas e frutos de plantas de citros.



Legenda: (A) Folhas apresentando sintomas de mosqueado com manchas irregulares que variam do verde-escuro, verde-claro ou amarelado, mesclados com o verde escuro natural da folha (Senasa); (B) Folha com engrossamento e clareamento das nervuras, de aspecto corticoso (Fundecitrus); (C) Planta jovem apresentando sintomas de amarelecimento generalizado das folhas em poucos ramos (E. F. Carlos); (D) Frutos com a coloração da casca irregular evidenciando manchas amareladas e verde-claras (APSnet); (E) Fruto cortado no sentido longitudinal com espessamento do albedo e filetes alaranjados (setas brancas) a partir da região de inserção com o pedúnculo e; (F) Fruto com columela espessa apresentando deslocamento do eixo central e contendo sementes abortadas (Fundecitrus). Fonte: Adaptado de HALL *et al.* (2012).

4.4 Métodos de Controle

Não há métodos de controle curativos para o HLB dos citros e ainda não são conhecidas fontes de resistência genética ao patógeno. Todas as espécies cítricas plantadas comercialmente são suscetíveis ao patógeno e seu inseto vetor (ALBRECHT & BOWMAN, 2011). O PAC pode atingir elevados picos populacionais durante as fases de emissão de brotações dos citros, podendo-se disseminar por longas distâncias e seu controle demanda, tanto o monitoramento populacional contínuo, como a aplicação sequencial de inseticidas (BASSANEZI, *et al.*, 2010).

Uma vez introduzida a doença em uma área, devido à ausência de cultivares resistentes e de métodos curativos viáveis, o avanço da epidemia pode ser relativamente rápido e destrutivo, caso medidas de controle baseadas na redução de inóculo e da população do vetor não sejam adotadas imediatamente. Isto porque a eficácia das medidas de controle do HLB é muito maior quando aplicadas no estágio inicial da epidemia (BASSANEZI et al., 2010).

A eliminação de árvores sintomáticas é uma prática que estava regulamentada desde 2008, conforme a Instrução Normativa (IN) N°53 de 16/10/2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Segundo aquela portaria, os produtores deveriam inspecionar seus pomares, pelo menos, quatro vezes ao ano e eliminar as plantas sintomáticas.

Em 2021, a legislação foi atualizada com a publicação da IN n° 371 de 25 de maio/21, a qual instituiu o Programa Nacional de Prevenção e Controle do HLB dos Citros (PNCHLB), em que passou a considerar dois cenários relativos ao *status* da praga: com e sem ocorrência, o que permitiu o estabelecimento de critérios e procedimentos condizentes com cada realidade fitossanitária das UF's. Nas áreas de ocorrência da praga, permaneceu a obrigatoriedade de erradicação de plantas sintomáticas e incluiu o controle compulsório do inseto vetor, enquanto nas áreas de não ocorrência, as providências a serem seguidas são: o cadastramento georreferenciado de propriedades produtoras de citros, realização anual de levantamento fitossanitário de detecção na UF, controle do trânsito de material de propagação vegetal de plantas hospedeiras da praga e monitoramento do inseto vetor *Diaphorina citri* em áreas de risco de introdução da praga, para verificar se ele é portador da bactéria.

O PAC é parasitado por duas espécies primárias nativas da Ásia: *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) (Figura 05 A) e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam and Agarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae). Viraktamath & Bhumannavar (2002) listam vários outros parasitas do PAC, como por exemplo *Psyllaephagus diaphorinae*, *Syrphophagus taiwanus* e *Syrphophagus diaphorinae*.

A fêmea de *T. radiata* parasita ninfas do terceiro ao quinto estágio (Figura 05 B; MCFARLAND & HOY, 2001; SKELLEY & HOY, 2004). As fêmeas de *T. radiata* colocam um a dois ovos na superfície ventral de uma ninfa do PAC, fixando-o externamente à cutícula (Figura 05 C). As larvas do parasitoide em desenvolvimento se

alimentam externamente (Figura 05 D, 05 E), eventualmente transformando o hospedeiro em uma múmia selada ao tecido da planta.

A pupação ocorre abaixo da múmia e, quando novos adultos emergem, eles saem por um orifício que fazem na região torácica ou da cabeça da múmia (Figura 05 F). Embora mais de um ovo possa ser colocado sob uma ninfa, apenas um parasitoide geralmente atinge o estágio adulto. A 25°C, o quinto ínstar parasitado por *T. radiata* é mumificado em cerca de 7 dias, e novos parasitóides emergem seis dias depois (SKELLEY & HOY, 2004).

Figura 05 - Parasitismo de *Diaphorina citri*, e estágios do parasitismo de ninfa de *D. citri*.



Legenda: (A) Vespa parasita adulta *Tamarixia radiata*. (B) Fêmea de *T. radiata* que põe um ovo sob uma ninfa PAC. (C) Ovos de *T. radiata* (setas) colocados no lado ventral das ninfas PAC perto de suas coxas posteriores. (D, E) Larvas de *T. radiata* (ínstares anteriores e posteriores, respectivamente) alimentando-se do lado ventral das ninfas PAC. (F, G) Orifícios de saída (setas) das vespas parasitas *T. radiata* (F) e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (G) em múmias de ninfas PAC. Fonte: Adaptado de HALL *et al.* (2012).

Diante do exposto, torna-se fundamental elencar as medidas utilizadas como estratégia para o controle do HLB, em área com ocorrência as principais estratégias de vigilância do HLB têm por objetivo a redução da fonte de inóculo, sejam as plantas hospedeiras ou os vetores, minimizando, desta forma, novas infecções (BELASQUES

JUNIOR et al., 2009), enquanto nas áreas sem ocorrência, segundo a Carta do Cabula, foi promulgada as recomendações às autoridades estaduais para a prevenção e antecipação do controle do *Greening* nos estados nordestinos (EMBRAPA, 2011). No Quadro 01, observa-se as medidas que devem ser adotadas em ambas situações.

Quadro 01- Estratégias e medidas de controle do HLB.

Áreas com ocorrência do HLB	Áreas sem ocorrência do HLB
<p>1. Pode-se realizar o controle do vetor para redução populacional do inseto infectivo ou não, minimizando as possibilidades de disseminação da bactéria;</p> <p>2. O uso eficiente de inseticidas pressupõe a supressão do vetor baseando-se na proteção de ramos novos no início da primavera e verão;</p> <p>3. O uso de inseticidas sistêmicos em plantas jovens e pulverização foliar em plantas em produção;</p> <p>4. O uso de produtos químicos tem sido eficiente no controle do vetor quando utilizado em grandes pomares ou de forma articulada, através do manejo regional;</p> <p>5. O controle biológico pode ser realizado através da utilização de inimigos naturais como ecto (<i>Tamarixia radiata</i> Waterston) e endo (<i>Diaphorencyrtus aligarhensis</i> Shafee, Alam e Argarwal) parasitoides, além de predadores (Coccinelídeos e neurópteros);</p> <p>6. O controle populacional do vetor pode ser feito através da liberação inundativa do parasitoide, recomendado em pomares com sistema de produção orgânica, extensas áreas com hospedeiros alternativos, pomares sem manejo da doença, pomares abandonados e áreas urbanas;</p> <p>7. A restrição ao uso do parasitoide em pomares comerciais decorre do uso intensivo de produtos químicos para controle do vetor e outras pragas que acometem a citricultura;</p> <p>8. A utilização de fungos entomopatogênicos como <i>Beauveria bassiana</i> e o uso de repelentes para psilídeos oriundos de extratos de goiabeira, <i>Psidium guajava</i> devem fazer</p>	<p>1. Priorizar ações direcionadas para a conscientização e capacitação de produtores, técnicos, sítiantes, agentes de governo e cidadãos de maneira geral sobre os impactos, reconhecimento de sintomas, prevenção e manejo do HLB;</p> <p>2. Estabelecer ampla rede de monitoramento, buscando primeiramente mapear possíveis psilídeos infectados, e também árvores infectadas, nas regiões produtoras e em áreas críticas para introdução do HLB, visando detecção o mais precoce possível em caso de entrada da doença;</p> <p>3. Impedir ou realizar efetivo controle sobre a entrada de materiais cítricos e de hospedeiros alternativos provenientes de estados em que o HLB esteja presente, a saber, mudas, borbulhas e frutos;</p> <p>4. Estabelecer e implementar urgentemente um programa regional para indexação e proteção de plantas básicas e matrizes que fomente o uso de material de propagação sadio e certificado, obrigatoriamente produzido em ambiente protegido;</p> <p>5. Apoiar e incentivar pesquisas direcionadas ao tema do HLB, buscando compreensão do patossistema e desenvolvimento de tecnologias para prevenção e controle</p>

<p>parte do conjunto de práticas para controle do psilídeo, denominado de manejo integrado de pragas;</p> <p>9. O plantio com mudas certificadas complementa o rol de ações para a redução da fonte de inóculo, todavia, esta ação protetora abrange apenas os estágios iniciais da cultura, uma vez que a plantação estará sujeita a infecções primárias, principalmente em regiões com ocorrência da praga;</p> <p>10. Monitoramento de sintomas em hospedeiros e sua erradicação compulsória.</p>	<p>da doença, adequadas à realidade da cadeia produtiva local;</p> <p>6. Incentivar e apoiar ações de controle do psilídeo, baseadas prioritariamente em monitoramento e controle biológico, com objetivo de se manter baixas populações do vetor na região;</p> <p>7. Incentivar e apoiar a renovação de pomares com mais de 18 anos de idade e implantação de novos pomares baseados em modernas tecnologias de produção como estratégia de aumento da produtividade;</p> <p>8. Promover o devido suporte legal à implementação e execução das recomendações para prevenção e manejo do HLB;</p> <p>9. Em caso de constatação do HLB na região orienta-se adotar como medidas de controle, conforme Plano de Contingência.</p>
--	--

Fonte: Adaptado de ALMEIDA, 2012.

4.5 Estratégia da Defesa Agropecuária da Bahia para HLB

Uma metodologia nunca usada na área vegetal no Brasil tem sido a principal estratégia da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) para manter o estado livre do huanglongbing (HLB), também conhecido por *greening* ou “amarelão dos frutos”, a mais destrutiva doença da citricultura em todo o mundo e ainda sem controle definitivo. Trata-se das rotas sentinelas, cujo objetivo é a detecção precoce das bactérias causadoras do HLB (*Candidatus Liberibacter* (Ca.L.) em ninfas e adultos do inseto psilídeo *Diaphorina citri*, principal vetor de transmissão desses microrganismos (CUNHA, 2021).

Outra estratégia de vigilância que se mostra eficaz é a ARMA (Área Regional de Manejo), para observar a flutuação populacional dos psilídeos ao longo do ano e através desse monitoramento adotar medidas preventivas para o enfrentamento do HLB. A técnica de rotas sentinelas é muito utilizada em estudos ecológicos e consiste na determinação de uma linha

reta que atravessa uma determinada região para execução de amostragens. No caso da Bahia, as rotas utilizadas foram definidas pela ADAB (CUNHA, 2021).

4.6 Rotas Sentinelas

Como parte do projeto HLB BioMath, desde 2011, em parceria com a EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, foram estabelecidas quatro rotas sentinelas “candidatas” a positivas e três, “candidatas” a negativas, as quais são percorridas trimestralmente por uma equipe de oito pessoas, entre engenheiros agrônomos, fiscais agropecuários, técnicos e auxiliares de fiscalização. As rotas “candidatas” a positivas assim são denominadas por terem maior probabilidade (alto risco) de se encontrar insetos infectivos, pois, estão localizadas nas maiores regiões produtoras de citros e de intenso trânsito de mudas clandestinas ou seja, sem Certificado Fitossanitário de Origem (CFO), ou que tenham sido produzidas em estados com ocorrência de HLB. Essas rotas estão localizadas no Oeste Baiano, Chapada Diamantina, Recôncavo e no Litoral Norte e Agreste Baiano, compreendendo 44 municípios (EMBRAPA, 2021).

Já as que foram denominadas de “candidatas” a negativas (baixo risco) estão situadas na Linha Verde, no Baixo Sul e na Estrada do Feijão, totalizando 18 municípios. Essas regiões não têm pomares citrícolas comerciais, mas têm diversos empreendimentos imobiliários e hoteleiros, além de muitos hortos, que comercializam a planta ornamental murta (*Murraya paniculata*), presentes em jardins e praças públicas, e que é considerada hospedeira preferencial do HLB (EMBRAPA, 2021).

A ADAB implementa vigilância aos pomares e ao trânsito de materiais propagativos, estabelecendo medidas preventivas e, futuramente, de contenção para quando a praga chegar ao nosso território, conforme os protocolos descritos no Plano de Contingência do HLB dos Citros na Bahia (SILVA, 2021).

Ao montar um plano de contingência para controlar doenças, é preciso considerar alguns pontos, como: a detecção precoce dos vetores infectivos e plantas com sintomas e, um plano para manejar o problema numa dada região. Sob a supervisão do pesquisador Eduardo Chumbinho de Andrade, os insetos capturados pela Adab nas rotas sentinelas são avaliados no Laboratório de Virologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, via PCR em tempo real (qPCR), para verificar a presença da bactéria nos psilídeos, além da qualidade, integridade e concentração do DNA do material (EMBRAPA, 2021).

4.7 Área Regional de Manejo

A ADAB sempre que possível inova com o uso de tecnologias em prol da defesa agropecuária, a exemplo do uso de aeronaves não tripuladas, popularmente conhecidas como drones e do mapeamento por imagem de satélite. Na Bahia existe o inseto vetor da bactéria do HLB dos citros, mas o patógeno não está presente, por isso a agência de defesa investe em ações preventivas (SILVA, 2020).

No presente estudo, a Área Regional de Manejo foi implantada com o objetivo de observar a flutuação populacional dos psílídeos ao longo do ano, avaliando assim a captura do inseto vetor nos 41 pontos georreferenciados, nos quais foram instaladas armadilhas adesivas amarelas. Os dados advindos da contabilização da quantidade quinzenal de captura do inseto vetor nos pomares monitorados, dão subsídios à tomada de decisão quanto ao controle populacional, numa situação de invasão da bactéria, pois, as autoridades sanitárias disporão de informações estratégicas: dimensão e ocorrência do inseto vetor, ao longo do ano.

REFERÊNCIAS

ALBRECHT U.; BOWMAN K.D., Tolerance of the trifoliolate *Citrus* Hybrid US-897 (*Citrus reticulata* Blanco x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) to Huanglongbing. **Hortscience**, n. 46, p. 16-22, 2011.

ALMEIDA, U. C. Bahia: **Polos citrícolas, trânsito vegetal e riscos da introdução do Huanglongbing dos citros**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Cruz das Almas, 2012.

ALVES, E. B. Psilídeo dos citros – O maior desafio da citricultura. **Promip**, 2020.

BASSANEZI, R. B. *et al.*, Epidemiologia do Huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n.1, p. 20, 2010.

BELASQUE JUNIOR, J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R. B. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p. 137-145, 2009.

BONANI J.P., Caracterização do aparelho bucal e comportamento alimentar de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em *Citrus sinensis* (L.) **Osbeck**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2009.

BONANI J.P. *et al.*, Characterization of electrical penetration graphs of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, insweet orange seedlings. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, n. 134, p. 35–49, 2010.

BOVÉ, J. M. Huanglongbing: A destructive, newly emerging, century old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, p. 7-37, 2006.

CASERTA R. *et al.* Citrus biotechnology: What has been done to improve disease resistance in such an important crop?. **Biotechnology Research and Innovation**, 2020.

CAVALCANTE, A. K. S. e CERQUEIRA, R. B., Defesa agropecuária e inovações tecnológicas. **EDUFRB**, Cruz das Almas-BA, v. 12, p. 14, 2020.

COLETTA-FILHO, H. D. *et al.* First report of causal agent of Huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”) in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, p. 1382, 2004.

COSTA LIMA, A. M. **Insetos Do Brasil**, Homoptera (GEN De Agronomia). Rio de Janeiro: Escola Nacional De Agronomia, p. 327, 1942.

CUNHA, L. **Metodologia inédita em sanidade vegetal permite detecção precoce do HLB**. Revista Cultivar, 2021. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/noticias/metodologia-inedita-em-sanidade-vegetal-permite-deteccao-precoce-do-hlb>. Acesso em: 04 Agosto 2022.

EMBRAPA. Encontro HLB, Huanglongbing ameaça iminente à citricultura do Nordeste Brasileiro. Práticas Culturais E Huanglongbing, Traduzido por Eduardo Augusto Girardi, Salvador-BA, p. 07-10, 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56009/1/resumo-encontro.pdf>. Acesso em: 03 Agosto. 2022.

EMBRAPA. **Metodologia inédita em sanidade vegetal protege a citricultura baiana da pior praga mundial**. 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/noticias?p_p_id=buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=pop_up&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet_groupId=1355135&buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet_articleId=62551109&buscanoticia_WAR_pcebusca6_1portlet_viewMode=print#:~:text=Trata%2Dse%20da%20rota%20sentinela,vetor%20de%20transmiss%C3%A3o%20desses%20microrganismos. Acesso em: 04 Agosto 2022.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Citrus fruit - fresh and processed statistical bulletin 2016**, p. 77, 2017.

FAOSTAT, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2017.

FNP, **Agrianual 2016: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2016.

FUNDECITRUS, FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA. **Doenças e pragas**. 2013. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/doencas>>.

FUNDECITRUS. **Greening, Huanglongbing: Sobre a doença, Ciclo, Sintomas, Manejo**, 2020. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/doencas/greening>.

GEORGE J. *et al.*, Sclerenchymatous ring as a barrier to phloem feeding by asian citrus psyllid: Evidence from electrical penetration graph and visualization of stylet pathways. (Ed. M. Ghanim). **PLOS ONE**, n. 12, p. 1-15, 2017.

GIRARDI, E. A. *et al.* **Guia de identificação do Huanglongbing (HLB, ex-greening) dos citros**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, ed. 1, p. 34, 2011.

GRAFTON-CARDWELL E.E., STELINSKI L.L., STANSLY P.A., Biology and management of asian citrus psyllid, vector Huanglongbing pathogens. **Annual Review of Entomology**, n. 58, p. 413-432, 2013.

HALBERT, S.E. & MANJUNATH, K.L., Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, n.87, p. 330–353, 2004.

HALL D.G. *et al.*, Progress toward an artificial diet for adult Asian citrus psyllid. **Annals of the Entomological Society of America**, n.103, p. 611–617, 2010.

HALL D.G., WENNINGER E.J. & HENTZ M.G. Temperature studies with the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama: cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. **Journal of Insect Science**, n. 11, p. 1–15, 2011.

HALL, D.G. *et al.* Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. **Entomologia Experimentalis et applicata**, v. 146, ed. 2, p. 207-223, 2012.

IAGRO. **Iagro realiza levantamento fitossanitário em plantas cítricas de Iguatemi**, 2019. Disponível em: <https://www.iagro.ms.gov.br/iagro-realiza-levantamento-fitossanitario-em-plantas-citricas-de-iguatemi/>. Acesso em: 15 jun. 2020.

KERAMANE, M. L. *et al.*, Report of *Candidatus Liberibacter caribbeanus*, a new *Liberibacter* associated with citrus and psyllids from Colombia, South America. APS Annual Meeting. **Crossroads in science**, August 1-5, 2015.

LEE J.A. *et al.*, Asymptomatic spread of huanglongbing and implications for disease control. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 112, p. 7605-7610, 2015.

- LIU, Y.H. & TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, n.137, p. 201–206, 2000.
- MARTINI X.; HOYTE A.; STELINSKI L.L., Abdominal color of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) is associated with flight capabilities. **Annals of the Entomological Society of America**, v.107, p. 842-847, 2014.
- MATTOS JUNIOR, D. *et al.*, **Citros: principais informações e recomendações de cultivo**. (Boletim Técnico, 200), São Paulo: Instituto Agronômico de Campinas, p. 9, 2005.
- MCCLEAN A.P.D. & SCHWARTZ R.E. Greening of blotchy-mottle disease in citrus. **Phytophylactica**, v. 2, p. 177–194, 1970.
- MCFARLAND, C.D. & HOY, M.A., Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under different relative humidities and temperature regimes. **Florida Entomologist**, n. 84, p. 227–233, 2001.
- NEVES, M. F. *et al.* O Retrato da Citricultura Brasileira. In: NEVES, M. F. (Coord), **Markestrat**, Ribeirão Preto, n. 1, p. 138, 2010.
- PASSOS, O.S. *et al.* **Certificação e diversificação da citricultura do Nordeste brasileiro**. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Comunicado técnico, 101). Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 7, 2004.
- REZENDE, J. O., SHIBATA, R. T. & SOUZA, L. S., **“Plantio direto” dos citros - Justificativa e recomendações técnicas para o “plantio direto” dos citros nos tabuleiros costeiros: ênfase na citricultura dos Estados da Bahia e Sergipe**. Cruz das Almas, BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. v.1, p. 88-101, 2015.
- SANCHES, M. M. *et al.* Levantamento de Huanglongbing (HLB) em citros no Brasil e diagnose dos agentes etiológicos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 337, **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, p. 21, 2018.
- SKELLEY, L.H. & HOY, M.A., A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, n. 29, p. 14–23, 2004.
- SHAFEE, S.A.; ALAM, M.; AGARWAL, M.M. **Taxonomic survey of encyrtid parasites** (Hymenoptera: Encyrtidae) in India. JOURBOOK: Aligarh Muslim University Publication, Zoological Series on Indian Insect Types VOLUME: 10 PAGES: iii+125pp. (1975).
- SILVA, S.X.B. Relatório técnico. **Nem Tudo São Flores**, operação de fiscalização do trânsito de vegetais na região metropolitana de Salvador. ADAB, 2019.
- SILVA, S.X.B. Relatório anual. **Vigilância e Monitoramento do Trânsito e Comércio de Material Propagativo**. ADAB, 2022.
- SILVA, S.X.B. **Metodologia inédita em sanidade vegetal protege a citricultura baiana da pior praga mundial**. ADAB, 2021.
- SILVA, S.X.B. **Bahia sai na frente para prevenir infestação por Greening nos citros**. ADAB, 2020.

- TEIXEIRA, D. do C. *et al.* Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao Huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v.31, n.2, p.115-128, 2010.
- THOMAS, D.B. & LEÓN J.H., Is the old world fig, *Ficus carica* L. (Moraceae), an alternative host for the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, n. 94, p. 1081–1083, 2011.
- VIRAKTAMATH, C.A. & BHUMANNAVAR, B.X. Biology, ecology and management of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, n.7, p. 1–27, 2002.
- WENNINGER E.J. & HALL D.G., Daily timing of and age at mat-ing in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, n. 90, p. 715–722, 2007.
- WURIYANGHAN, H., ROSA, C. & FALK, B.W. Oral delivery of double-stranded RNAs and siRNAs induces RNAi effects in the potato/tomato psyllid, *Bactericera cockerelli*. **PLoS ONE**, 6:27736, 2011.
- ZULIAN, A.; DÖRR, A. C.; ALMEIDA, S. C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 11, n. 11, p. 2290-2306, 2013.

CAPÍTULO 1

MONITORAMENTO DA INVASÃO DA BACTÉRIA DO HLB DOS CITROS EM ROTAS SENTINELAS DO ESTADO DA BAHIA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
SETEMBRO – 2022**

AMORIM, D.F., MONITORAMENTO DA INVASÃO DA BACTÉRIA DO HLB DOS CITROS EM ROTAS SENTINELAS DO ESTADO DA BAHIA.

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

Professor/Advisor: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

RESUMO

As bactérias *Candidatus Liberibacter* spp., agentes associados à doença Huanglongbing (HLB dos citros), é praga de importância quarentenária em diversos países produtores de citros e está amplamente distribuída na Ásia, África e Américas, assim como o seu vetor, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera, Psyllidae). O HLB infecta todas as espécies de citros e outras espécies da família Rutaceae, tendo como principal hospedeiro secundário, a planta de murta (*Murraya paniculata*). HLB dos citros é uma ameaça fitossanitária à citricultura baiana, requerendo especial atenção dos segmentos da defesa agropecuária e da pesquisa para manter a área livre. A associação do vetor com a bactéria é prejudicial, ocasionando danos irreversíveis aos pomares citrícolas em todo o mundo, inclusive no Brasil. Este trabalho teve por objetivo monitorar uma possível invasão da bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. a partir do inseto vetor, *Diaphorina citri*, em rotas sentinelas, classificadas em candidatas a "positivas" e "negativas". A frequência de coleta foi trimestral, utilizando aspirador entomológico na coleta de adultos de *D. citri* hospedados em plantas cítricas e de murtas (*Murraya paniculata*). Ovos e ninfas também foram coletados, recolhendo parte das plantas. Foram estabelecidas quatro rotas candidatas a "positivas": Oeste Baiano, Chapada Diamantina, Recôncavo e Litoral Norte; e três rotas candidatas a "negativas": Linha Verde, Baixo Sul e Estrada do Feijão. Nos anos de 2019 a 2021, coletou-se nas rotas "positivas" 5.909 adultos e nas rotas "negativas" 3.119 adultos. A infectividade do inseto vetor à bactéria causadora do HLB foi testada no laboratório de virologia da EMBRAPA/CNPMPF, utilizando-se teste de PCR em Tempo Real – qPCR. Até o momento, 60% do material foi processado. As amostras analisadas com tecido vegetal testaram negativas e as de inseto, 99% testaram negativas. Apenas duas coletas de psilídios no Oeste Baiano, em abril 2021, testaram positivas, o que não se confirmou na segunda coleta de insetos, nem de hospedeiros, realizada nos mesmos pontos. A Bahia permanece com o status de livre do HLB dos Citros.

Palavras-Chave: *Candidatus Liberibacter*, diagnose por PCR, defesa agropecuária.

AMORIM, D.F., MONITORING THE INVASION OF THE CITRUS HLB BACTERIA IN SENTINEL ROUTES IN THE STATE OF BAHIA.

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

Professor/Advisor: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

ABSTRACT

The bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., agents associated with Huanglongbing disease (Citrus HLB), is a pest of quarantine importance in several citrus producing countries and is widely distributed in Asia, Africa and the Americas, as well as its vector, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera, Psyllidae). HLB infects all citrus species and other species of the Rutaceae family, with the myrtle plant (*Murraya paniculata*) as its main secondary host. Citrus HLB is a phytosanitary threat to the citrus industry in Bahia, requiring special attention from the agricultural defense and research sectors to keep the area unharmed. The association of the vector with the bacterium is harmful, causing irreversible damage to citrus orchards all over the world, including Brazil. This study aimed to monitor a possible invasion of *Candidatus Liberibacter* spp. from the vector insect, *Diaphorina citri*, in sentinel routes, classified as "positive" and "negative" candidates. The collection frequency was quarterly, using an entomological vacuum to collect *D. citri* adults hosted on citrus plants and myrtles (*Murraya paniculata*). Eggs and nymphs were also collected, collecting part of the plants. Four candidate routes for "positive" were established: West Baiano, Chapada Diamantina, Recôncavo and Litoral Norte; and three "negative" candidate routes: Linha Verde, Baixo Sul and Estrada do Feijão. In the years 2019 to 2021, 5,909 adults were collected on the "positive" routes and 3,119 adults on the "negative" routes. The infectivity of the insect vector to the bacteria that causes HLB was tested in the virology laboratory of EMBRAPA/CNPMPF, using the Real Time PCR test – qPCR. So far, 60% of the material has been processed. The samples analyzed with plant tissue tested negative and those of insect, 99% tested negative. Only two psyllid collections in Oeste Baiano, in April 2021, tested positive, which was not confirmed in the second collection of insects, nor of hosts, carried out at the same points. Bahia remains with the free status of the Citrus HLB.

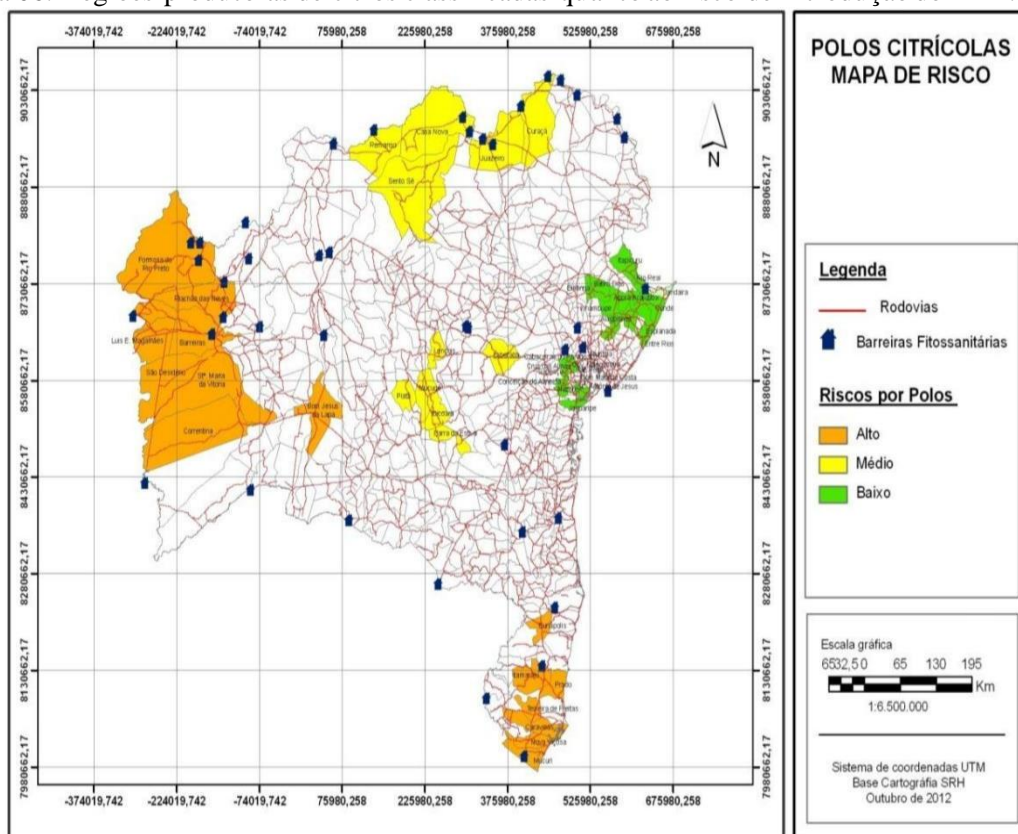
Keywords: *Candidatus Liberibacter*, PCR diagnosis, agricultural defense.

1 INTRODUÇÃO

O Huanglongbing é a principal doença da citricultura mundial. Seu primeiro relato ocorreu na China em 1929, após isso, a doença se propagou para mais de 40 países. Nas Américas do Sul e Norte, entre março de 2004 e agosto de 2005, ocorreram as primeiras detecções, em São Paulo/Brasil e na Flórida/EUA, respectivamente (Bové, 2006).

O estado da Bahia, segundo em área citrícola plantada, é reconhecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como área de não ocorrência do HLB dos citros. Nessa UF, a citricultura está concentrada em seis polos bem definidos (Figura 06), e tem o monitoramento da infectividade do psíldeo asiático dos citros (PAC) como sendo uma das estratégias de maior eficiência para mitigar os riscos de introdução da doença (ALMEIDA, 2012).

Figura 06: Regiões produtoras de citros classificadas quanto ao risco de introdução do HLB.



Legenda: Risco alto (na cor laranja): Polos Oeste e Extremo Sul; Risco médio (na cor amarela): Polos Vale do São Francisco e Chapada Diamantina; Risco baixo (na cor verde): Polos Recôncavo e Litoral Norte. Observa-se também a interface dos polos citrícolas com as barreiras sanitárias (ícones azul marinho). Fonte: ALMEIDA, U. C. (2012).

Procurando alternativas para a detecção precoce do HLB, em 1990, um grupo de pesquisadores franceses desenvolveu um trabalho direcionado ao diagnóstico de HLB, em que se buscou sequências genômicas de *Liberibacter* com a utilização de sondas na identificação do patógeno (hibridação) e, concomitantemente, foram identificadas regiões genômicas adequadas para o desenho de iniciadores a serem empregados na “Reação em Cadeia da Polimerase” (PCR). Iniciou-se assim, uma nova etapa para a identificação e detecção de patógeno, em especial, aqueles não cultiváveis em meio de cultura, como as bactérias *Ca. Liberibacter* spp. (BOVÉ; GARNIER, 1990).

Em 1996 foi desenvolvido um método rápido e eficiente para detecção da presença da bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. causadora do HLB, tendo como base a “reação em cadeia de polimerase” (PCR) que utiliza apenas um par de iniciadores. Posteriormente, houve uma evolução do método para o Nested-PCR, em que se passou a utilizar dois pares de iniciadores, esta última técnica possui maior sensibilidade e especificidade, ampliando consideravelmente a quantidade de cópias do DNA da bactéria (JAGOUÉIX *et al.*, 1996; HOCQUELLET *et al.*, 1999; HUNG *et al.*, 1999).

O monitoramento do psilídeo vetor em áreas indenes pode antecipar a tomada de decisão para controle da doença em 18 meses – tempo máximo estimado para a manifestação de sintomas no hospedeiro, o qual mesmo estando assintomático, se estiver infectado, servirá de fonte de inóculo da bactéria (MANJUNATH *et al.*, 2008).

A ADAB atua em barreiras fixas e móveis de fiscalização do trânsito de vegetais, quando retira de circulação mudas cítricas e de *Murraya* que não tenham a comprovação de origem embasada no certificado fitossanitário de origem (CFO), ou que transitem sem a permissão de trânsito de vegetais (PTV), ou que tenham sido produzidas em Unidades da Federação (UF's) com ocorrência do HLB – conforme previsto na Portaria Estadual 243/2011.

O presente trabalho teve como objetivo realizar o monitoramento de uma possível invasão do HLB no estado da Bahia, por meio da detecção da bactéria no inseto vetor.

Por se tratar de um tema de suma importância para a cadeia produtiva dos citros, diversas instituições têm se unido para aumentar a sinergia na busca de soluções à ameaça do HLB dos citros, e assim se estabeleceu uma parceria entre a ADAB, a Universidade

Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), através da unidade Mandioca e Fruticultura (Figura 07).

Figura 07 – Equipe EMBRAPA/ADAB/UFRB



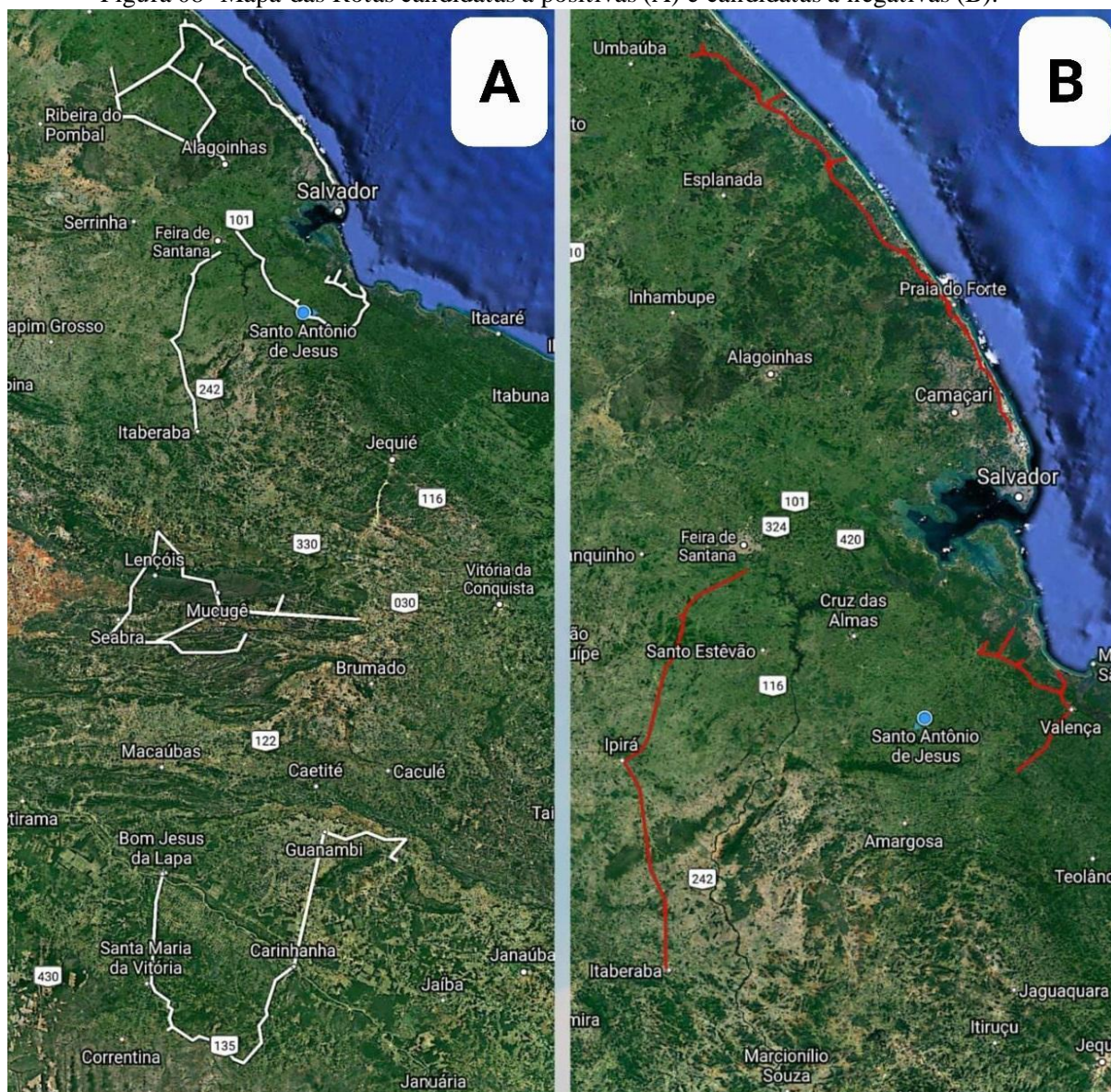
Legenda: Registro da coleta de psilídeos nas rotas sentinelas e reunião para ajustar o início do projeto HLB BioMath Fase 3. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização das rotas

A pesquisa foi executada no período de 2019 a 2021, sendo realizadas quatro coletas anuais de psilídeos em rotas sentinelas candidatas a “positivas” e a “negativas” (Figura 08). Cada ponto de coleta teve suas coordenadas georreferenciadas, permitindo assim a elaboração de mapas no Map Marker e no QGIS.

Figura 08- Mapa das Rotas candidatas a positivas (A) e candidatas a negativas (B).



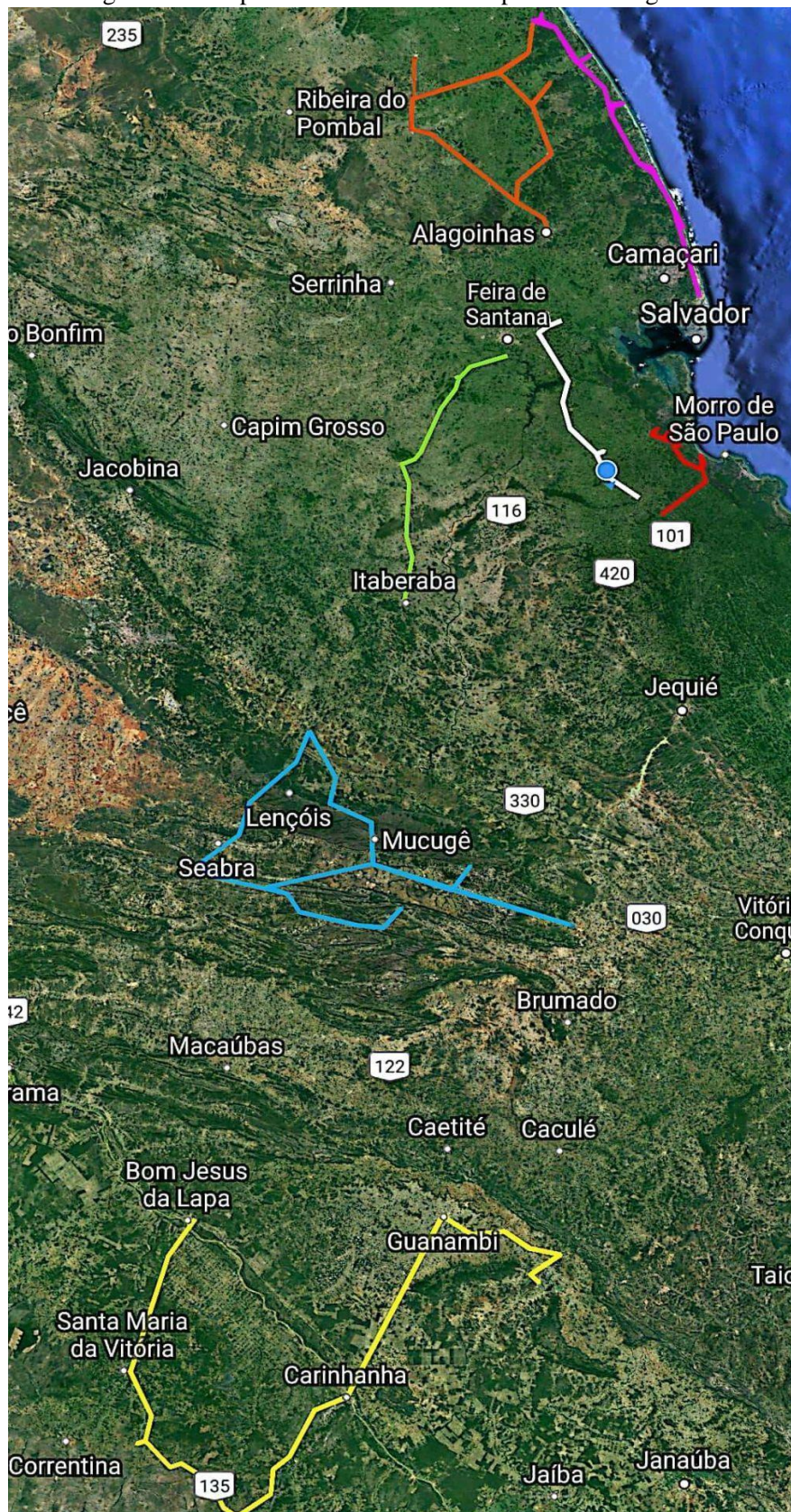
Legenda: Mapas elaborados no aplicativo Map Marker, referente às Rotas candidatas a positivas (Figura A - Linhas Brancas) e candidatas a negativas (Figura B - Linhas Vermelhas), com a indicação georreferenciada dos pontos de coleta trimestral do inseto vetor do HLB dos citros, no período de 2019 a 2021. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

A denominação das rotas sentinelas foi dada em função do risco de introdução do HLB, sendo candidatas a “positivas” as que apresentam alta probabilidade de encontrar insetos portadores da bactéria do HLB dos citros e as candidatas a “negativas” aquelas com baixa probabilidade de detectar a bactéria nos insetos.

Foram considerados os seguintes atributos para caracterizar as rotas sentinelas: intenso fluxo de pessoas e mercadorias, seja pelo trânsito rodoviário, ou aéreo; proximidade geográfica com UF's de ocorrência da praga; extensão das áreas de concentração de hospedeiros, o que reflete na continuidade espaço temporal de hospedeiros suscetíveis; proximidade de complexos turísticos; e comércio de material propagativo em hortos.

Assim, foram estabelecidas quatro Rotas Sentinelas caracterizadas como candidatas a “positivas”: Oeste Baiano, Chapada Diamantina, Recôncavo e Litoral Norte e Agreste Baiano, totalizando 44 municípios sob vigilância e outras três denominadas como candidatas a “negativas”: Linha Verde, Baixo Sul e Estrada do Feijão, perfazendo 18 municípios monitorados (Figura 09).

Figura 09 - Mapas das rotas candidatas positivas e negativas.



Legenda: Mapa das rotas candidatas a positivas (Oeste – amarelo, Chapada – azul, Recôncavo – branco e Litoral Norte – laranja) e as candidatas a negativas (Linha Verde – rosa, Baixo Sul – vermelho e Estrada do Feijão – verde limão). Aplicativo: Map Marker. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

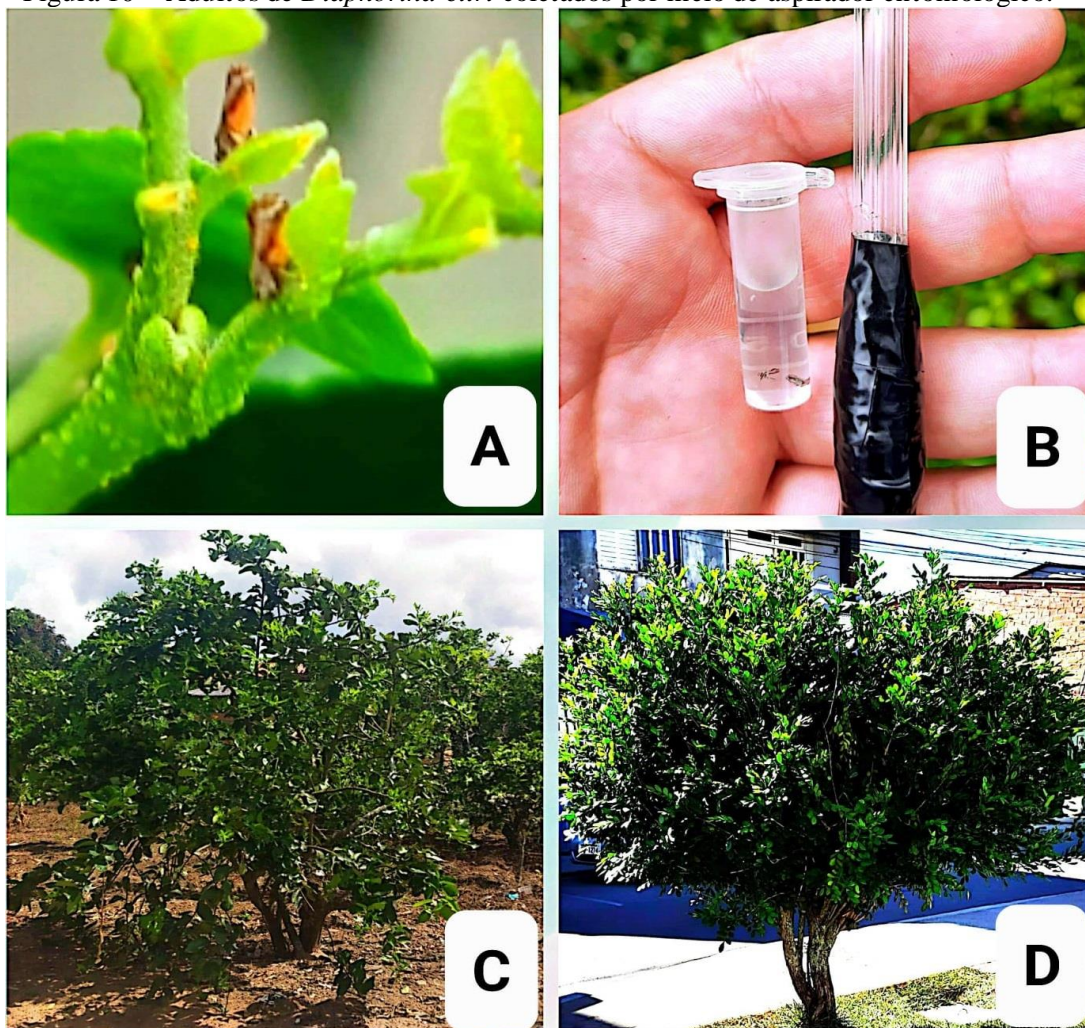
2.2 Coleta de *D. citri*

Com frequência trimestral, a coleta do inseto vetor ocorreu em plantas de murta e de citros, encontradas em hortos, viveiros, áreas públicas e propriedades particulares, que estavam inseridas no trajeto das rotas sentinelas. Cada ponto de coleta foi georreferenciado e informado o tipo de hospedeiro.

Na coleta do inseto adulto (Figura 10A), utilizou-se aspirador entomológico manual (Figura 10B), elaborado artesanalmente com materiais de baixo custo: o tubo plástico de uma caneta ou de termômetro e um pedaço de mangueira de látex. Os insetos coletados foram transferidos para um microtubo de 1,5 mL contendo etanol 95%.

Para a coleta da ninfa utilizou-se um pincel, e ocasionalmente foram encontrados ovos nas brotações, e apesar de não serem quantificados e analisados, alguns ovos foram coletados junto com as ninfas, dessa forma, era recolhido parte das plantas hospedeiras (Figuras 10C e 10D) (brotações) que foram conservadas em álcool a 95%. Dentro de uma caixa de isopor, cada amostra foi devidamente identificada por etiquetas contendo as seguintes informações: data e local da coleta. Adicionalmente, foi elaborada uma planilha que era preenchida com os seguintes dados: coordenadas geográficas, tipo de hospedeiro, fase do inseto coletado e o responsável pela coleta.

Figura 10 – Adultos de *Diaphorina citri* coletados por meio de aspirador entomológico.



Legenda: Adultos de *Diaphorina citri* (A). Aspirador entomológico manual e inseto vetor coletado em rotas sentinelas positivas e negativas (B). Hospedeiros do inseto: citros (C) e murta (D). Fonte: AMORIM, D. F. (2020).

2.3 Monitoramento da bactéria no vetor

O processo de extração e detecção seguiu a mesma metodologia de Lopes (2015), conforme descrito a seguir:

2.3.1 Extração do DNA

1. Para a extração de DNA genômico da bactéria *Ca. Liberibacter* foram processadas amostras, constituída por no mínimo cinco psílídeos adultos ou 10 ninfas, seguindo o protocolo proposto por Deng et al. (2006).
2. Para a extração, as amostras contendo de 5 a 10 insetos adultos e ou as 10 ninfas foram transferidas para um novo microtubo de 1,5 mL, lavados três vezes com água destilada. Em seguida, adicionou-se 150 μ L de tampão STE (10 mM Tris-HCl; 1

mM EDTA; 25 mM NaCl) realizando a maceração do material com auxílio do equipamento Tissue Lyser (Qiagen) em uma ciclagem de três minutos a 20 hertz, repetindo a ciclagem, com o objetivo de melhorar a eficiência de maceração da amostra.

3. Em seguida, realizou-se a centrifugação do macerado durante um minuto a 10.000 rpm, e transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo, onde foi adicionou-se 30 µL de proteinase K (concentração de 200 mg / mL), e realizou-se a incubação por 30 minutos a uma temperatura de 56 °C em banho-maria. Após esta fase o extrato obtido foi centrifugado brevemente durante um minuto e, em seguida, procedeu-se a transferência da fase superior para um novo microtubo de 1,5 mL, adicionou-se 150 µL de Nucleic Lysis Solution (kit Wizard Promega) mantendo durante cinco minutos a uma temperatura de 80°C. No passo seguinte, foi adicionado 60 µL de Protein Precipitation Solution (kit Wizard Promega), seguido de encubação por cinco minutos no gelo, procedeu-se a centrifugação, logo depois durante três minutos a uma velocidade de 13.000 rpm.
4. Transferiu-se a fase superior novamente para um novo microtubo de 1,5 mL e acrescentou-se 200 µL de álcool Isopropílico e procedeu-se a homogeneização da mistura por meio de suaves inversões. Centrifugou-se por cinco minutos a 14.000 xg realizando o descarte do sobrenadante, em seguida o precipitado, contendo o DNA, foi lavado com 150 uL de etanol a 70%. Para finalizar o processo as amostras foram centrifugadas a 14.000 xg por cinco minutos e descartou-se o sobrenadante, secando o pellet em forno microondas por aproximadamente 15 minutos. O *pellet* foi dissolvido em 30 µL de tampão TE com RNase A na proporção de 2:8 procedendo-se a incubação por um período de 30 minutos a uma temperatura média de 37°C numa estufa.

2.3.2 Detecção por qPCR

5. Para monitorar a detecção do agente patogênico causador do HLB foi empregado no Laboratório de Virologia o método de qPCR para amplificar o fragmento genômico bacteriano e posterior análise. Para a reação, os primers usados foram LAS-I-R (5'CGA TTG GTG TTC TTG TAG CG 3') e o LAS-I-F (5' AAC AAT AGA AGG ATC AAG CAT CT3'). A sonda usada na detecção das sequências específicas dos fragmentos de DNA foi o Probe TaqMan® LAS (6FAM AAT CAC CGA AGG AGAAGC CAGCAT TAC A MGBNFQ) da Applied Biosystems. As

amplificações ocorreram em termociclador Applied Biosystems 7500 Fast programado para o primeiro ciclo a 50 °C durante dois minutos de desnaturação, um segundo ciclo de 95°C por dez minutos de desnaturação, depois ocorreram 40 ciclos de amplificação de 95 °C a cada quinze segundos e uma extensão final de 60 °C durante um minuto.

6. O referido sistema em que se utilizam *primers* e sondas é conhecido por TaqMan® em que o resultado final é expresso em valores de Ct (*threshold cycle*), que representa o número de ciclos da PCR onde a emissão do fluoróforo *reporter* atinge um valor arbitrário (*threshold*), acima do qual as amostras são consideradas positivas.
7. Em todos os testes de qPCR, foram utilizadas, controles positivos de psilídeos infectados, obtido da Fundação Sylvio Moreira. E como controles negativos foram utilizadas amostras negativas de teste anteriormente e a água.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado do monitoramento da invasão da bactéria causadora do HLB nas Rotas Sentinelas, foram coletados 9.028 exemplares de *D. citri* (Tabela 01), ressaltando-se que já foram processados aproximadamente 60% das amostras encaminhadas ao Laboratório da EMBRAPA.

Tabela 01 – Quantitativo de coletas e número de adultos de *Diaphorina citri* capturados em rotas sentinelas candidatas a positivas (quatro primeiras) e a negativas (três últimas), ambas nominadas na 1ª coluna da esquerda da tabela, no período de 2019 a 2021, no Estado da Bahia.

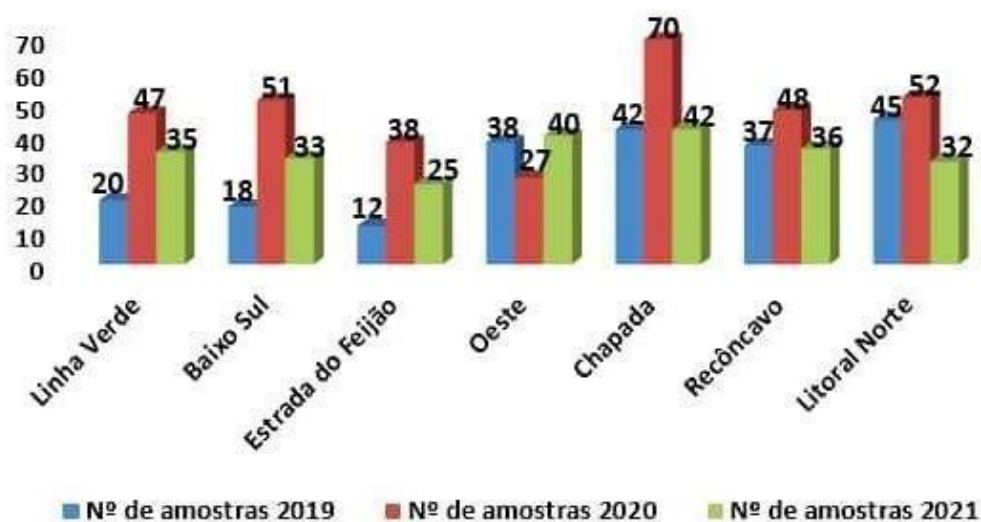
Rotas Sentinelas	Número de amostras			Sub total	Número de adultos			Sub total
	2019	2020	2021		2019	2020	2021	
Oeste Baiano	38	27	40	105	467	206	289	962
C. Diamantina	42	70	42	154	463	612	193	1.268
R. Baiano	37	48	36	121	1.252	1.387	486	3.125
Litoral Norte	45	52	32	129	243	224	87	554
Subtotal	162	197	150	509	2.425	2.429	1.055	5.909
Linha Verde	20	47	35	102	100	445	334	879
Baixo Sul	18	51	33	102	250	663	580	1.493
E. do Feijão	12	38	25	75	70	231	446	747
Subtotal	50	136	93	279	420	1.339	1.360	3.119
Total	212	333	243	788	2.845	3.768	2.415	9.028

Legenda: **Rotas Candidatas a Positivas: Oeste Baiano** (Urandi, Pindaí, Guanambi, Palmas de Monte Alto, Carinhanha, Feira da Mata, Cocos, São Félix do Coribe, Santa Maria da Vitória, Bom Jesus da Lapa e Coribe), **C. Diamantina** (Andaraí, Mucugê, Ibicoara, Tanhaçu, Ituaçu, Abaíra, Boninal, Barra da Estiva, Piatã, Seabra, Palmeiras e Lençóis), **Recôncavo Baiano** (Santo Antônio de Jesus, Laje, Conceição do Almeida, Sapeaçu, Cruz das Almas, Muritiba, Governador Mangabeira, Cachoeira, Jaguaripe, Feira de Santana, Conceição do Jacuípe e Amélia Rodrigues),

Litoral Norte (Alagoinhas, Entre Rios, Inhambupe, Olindina, Itapicuru, Rio Real, Jandaíra, Conde e Esplanada); **Rotas Candidatas a Negativas: Linha Verde** (Lauro de Freitas, Camaçari, Mata de São João, Entre Rios, Esplanada, Conde e Jandaíra), **Baixo Sul** (Valença, Jaguaripe, Aratuípe, Nazaré, Vera Cruz e Itaparica), **Estrada do Feijão** (Itaberaba, Ipirá, Anguera, Serra Preta e Feira de Santana). Fonte: AMORIM, D. F. (2020).

Com relação ao quantitativo das coletas realizadas nos últimos três anos (Figura 11), verificou-se que o número de coletas do ano de 2020 foi superior aos demais, isso devido à presença de brotações em todas as visitas realizadas naquele ano, outro fator que contribuiu para este resultado foi a realização de todas as quatro coletas programadas naquele ano, o que não ocorreu nos anos de 2019 (devido ao cronograma iniciar na segunda coleta) e 2021 (por consequência do agravamento da pandemia de Covid-19).

Figura 11 - Comparativo entre nº de amostras realizadas 2019 x 2020 x 2021

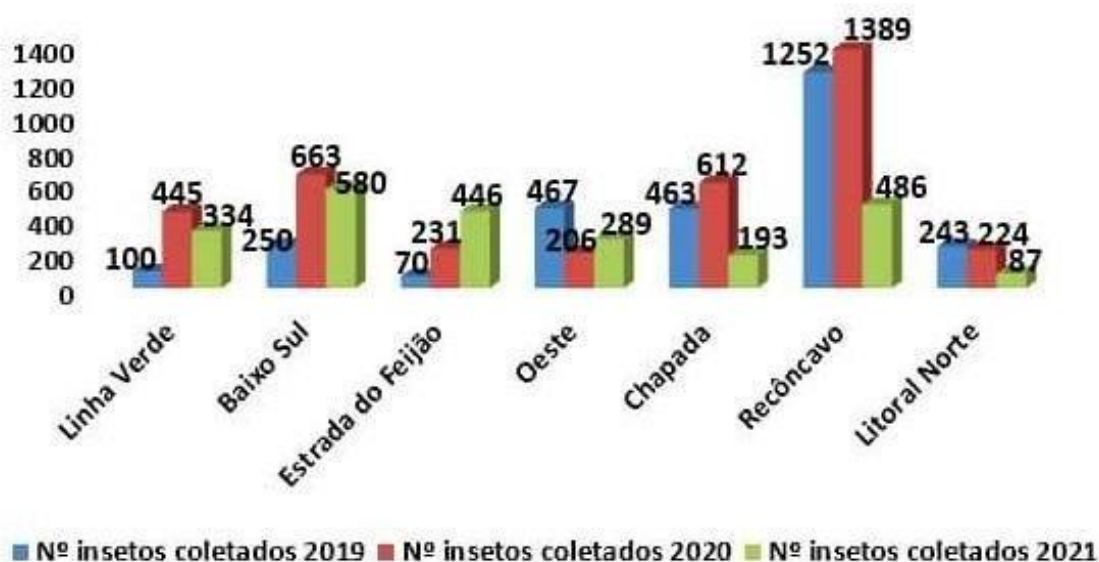


Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Nos anos de 2019 e 2020, a região do Recôncavo apresentou um número elevado de insetos comparado aos demais (Figura 12), que pode ser justificado devido ao número alto de brotações em murtas no período das visitas, somado às condições climáticas, como por exemplo a ocorrência de chuva antes da realização das coletas nos respectivos locais. Dado corroborado por Santos (2012) que em sua pesquisa encontrou que o desenvolvimento e a ocorrência de *D. citri* são influenciados pela altitude, temperaturas máximas e mínimas, umidade relativa do ar e precipitações pluviais.

Já em 2021, a região que apresentou o número elevado de insetos coletados foi o Baixo Sul, visto que um único ponto (Valença) foi responsável por metade do número de psilídeos, devido a coleta ter acontecido um mês após a realização de uma poda e chuva, fazendo com que a cerca viva de murta daquele local apresentasse um número elevado de psilídeos em todas as fases do ciclo de vida.

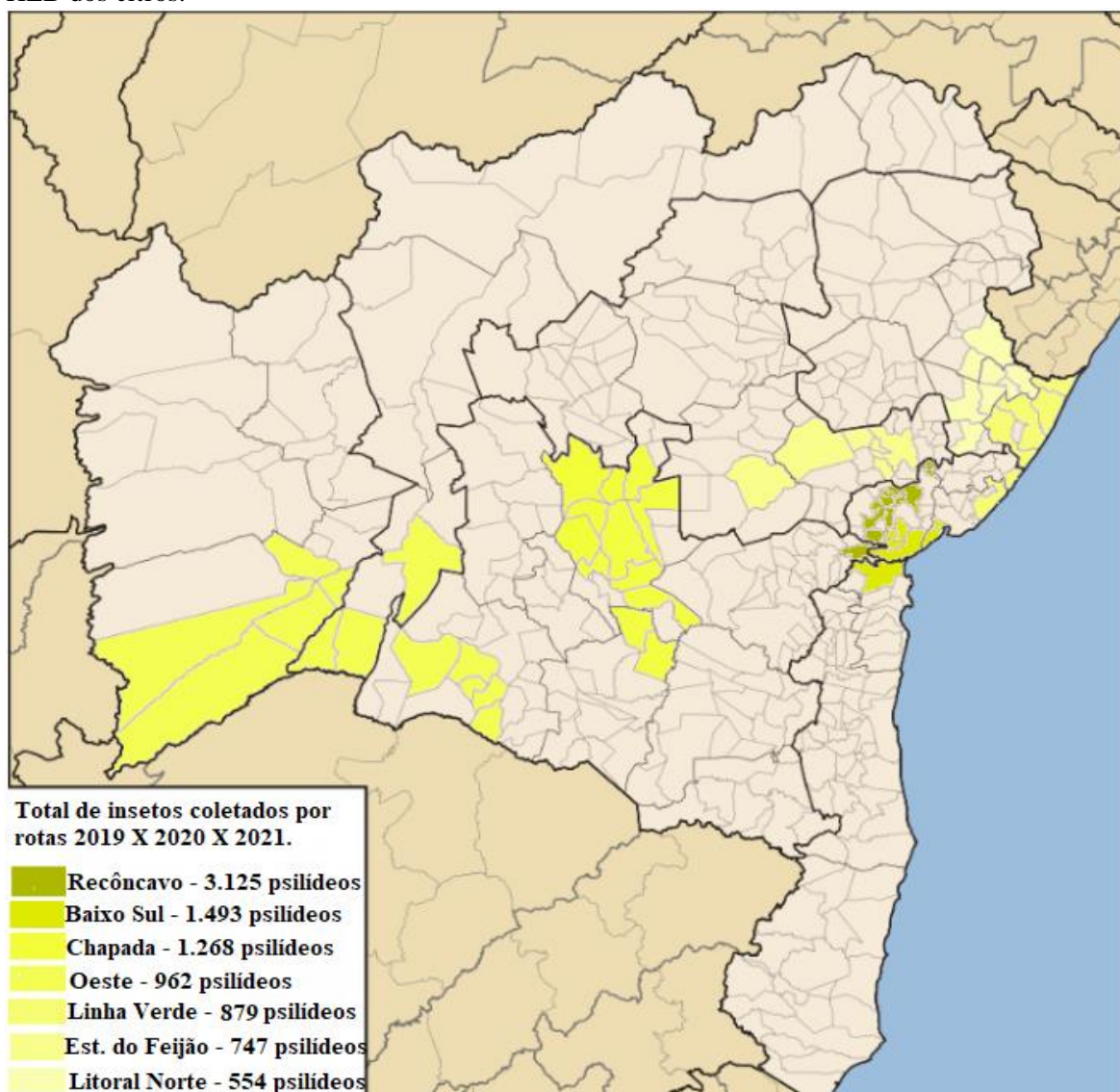
Figura 12 - Comparativos de insetos coletados 2019 x 2020 x 2021



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Observou-se uma constância na presença de *D. citri* em todas as coletas rotas sentinelas (Figura 13), ainda que algumas não estejam dentro de polos citrícolas, a exemplo da Linha Verde e Estrada do Feijão. Com base nestes resultados, constatou-se que as rotas foram bem delimitadas, tanto do ponto de vista da presença de hospedeiros, quanto do inseto vetor, sendo assim um indicativo de que a ADAB deve concentrar esforços para o monitoramento da invasão da bactéria nessas rotas.

Figura 13- Total de insetos coletados nas rotas sentinelas estabelecidas no Estado da Bahia, compreendido no período de 2019 a 2021, por ocasião do monitoramento da invasão da bactéria do HLB dos citros.



Legenda: Mapa de gradiente de concentração de insetos coletados no período de 2019 a 2021, nas quatro Rotas Sentinelas denominadas “candidatas” a positivas (Oeste, Chapada, Litoral Norte e Recôncavo) e nas três “candidatas” a negativas (Baixo Sul, Linha Verde e Estrada do Feijão).
Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Dentre as rotas candidatas a positivas, o maior número de insetos coletados se deu no Recôncavo, seguido da Chapada Diamantina. Então, considerando que estas rotas foram delineadas dentro de áreas citrícolas, maior quantidade de insetos equivale dizer, maior potencial de disseminação da bactéria, caso se detecte um foco de HLB dos citros nessas regiões. O menor quantitativo de insetos coletados se deu no Litoral Norte e se comparado com o dado do Recôncavo Baiano, foi cinco vezes menor.

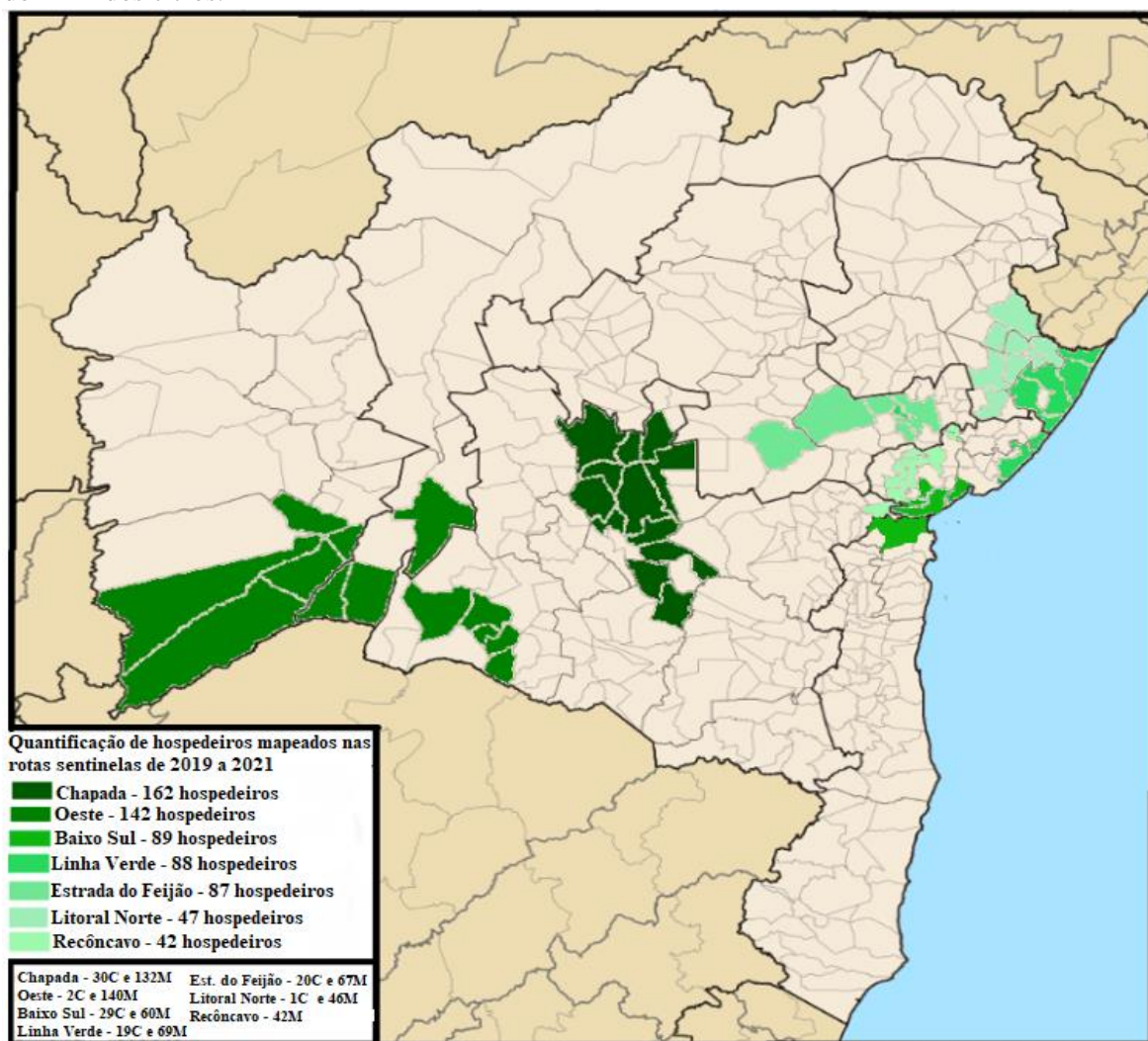
Considerando as três rotas candidatas a negativas, o volume de insetos coletados no Baixo Sul foi praticamente o dobro das coletas registradas nas outras duas rotas do mesmo grupo. Cabe ressaltar que, mesmo não estando localizadas em áreas citrícolas, os menores resultados obtidos na Estrada do Feijão (696) e Linha Verde (786), ainda assim, superaram aos obtidos na rota candidata a positiva do Litoral Norte (586).

Esse fato pode ser explicado devido à presença do hospedeiro preferencial de *D. citri*, a murta – *M. paniculata*, de forma semelhante ao verificado por Sales *et al.* (2016) que verificaram maior incidência de ninfas em ramos de plantas de murtas coletados na zona urbana do Recôncavo. A murta é considerada o hospedeiro preferencial para o vetor do psilídeo em razão de oferecer condições adequadas de alimentação, desenvolvimento e reprodução, devido às constantes brotações (LOPES, 2015).

Nas rotas “candidatas” a positivas e negativas foram georreferenciadas e quantificado o número de hospedeiros conforme mostra a Figura 14, dos quais 101 plantas cítricas e 584 plantas de murtas. Nas rotas “candidatas” a negativas foram georreferenciadas 91 plantas cítricas e 198 plantas de murtas, enquanto nas rotas “candidatas” a positivas foram geolocalizadas 10 plantas cítricas e 386 plantas de murtas.

Nas rotas que haviam sido denominadas como “candidatas” a negativas, acreditava-se haver baixa probabilidade de se encontrar o inseto vetor infectivo, de fato se caracterizaram por expressiva quantidade e constante coleta de PAC, muito possivelmente associado à presença do hospedeiro preferencial, a murta que encontrava-se em áreas residenciais, públicas e disponíveis ao comércio em hortos. Assim, as três rotas do Baixo Sul, Estrada do Feijão e Linha Verde têm potencial para o estabelecimento e disseminação do HLB dos citros, caso cheguem naquelas rotas material propagativo ou inseto vetor infectados pela bactéria.

Figura 14 - Quantificação de hospedeiros mapeados nas rotas sentinelas estabelecidas na Bahia, compreendidos no período de 2019 a 2021, por ocasião do monitoramento da invasão da bactéria do HLB dos citros.



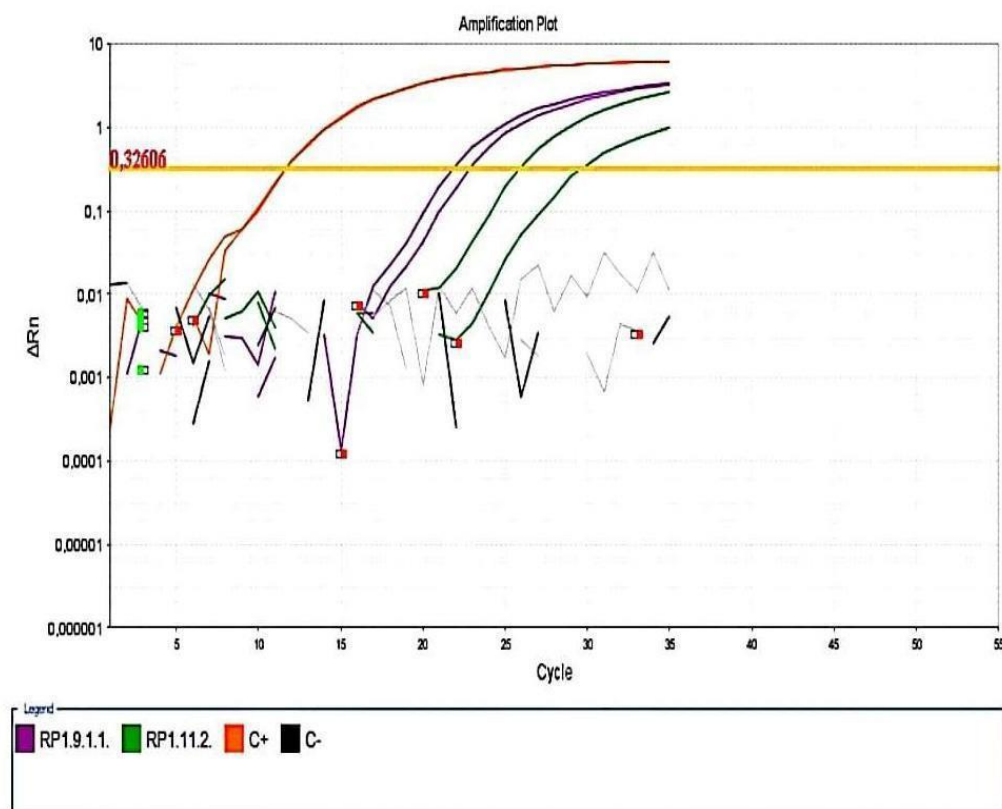
Legenda: Mapa de gradiente de concentração de hospedeiros Citros (C) e Murta (M) georreferenciados por rota, no período de 2019 a 2021, nas quatro Rotas Sentinelas denominadas “candidatas” a positivas (Oeste, Chapada, Litoral Norte e Recôncavo) e nas três “candidatas” a negativas (Baixo Sul, Linha Verde e Estrada do Feijão). Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

O estado da Bahia foi reconhecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como zona livre de algumas pragas da citricultura, dentre essas o Huanglongbing (HLB) (ADAB, 2019). Dessa forma, durante o projeto HLB BioMath Fase 3, não houve detecção da bactéria *C. Liberibacter asiaticus* no estado da Bahia.

Após aproximadamente 80% das amostras processadas, o cenário se alterou em 2021, com dois resultados positivos durante a coleta em murtas na área urbana de Bom

Jesus da Lapa e São Félix do Coribe, conforme indica a Figura 15, encaminhado à Coordenação do Programa Fitossanitário dos Citros/ADAB pela EMBRAPA, em 02 de fevereiro de 2022 (SILVA, 2022).

Figura 15- Esquema ilustrativo da análise de PCR quantitativo em tempo real com os amplicons das amostras provenientes da rota sentinela Oeste – 8ª coleta.



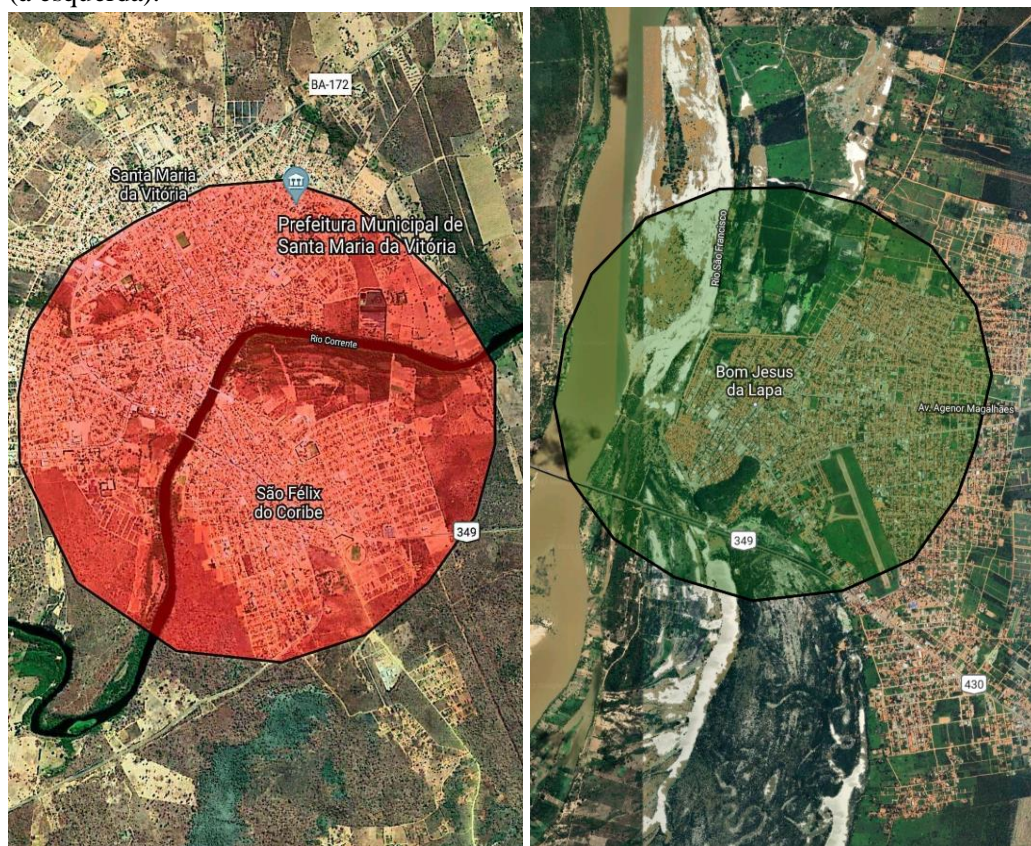
Legenda: Resultados positivos expressos pelas curvas em Lilás e em Verde; Controle positivo, curva em laranja (Informação da EMBRAPA).

Para o saneamento das duas áreas suspeitas, não se fez necessário a aplicação completa dos protocolos estabelecidos no Plano de Contingência para a referida praga, visto que não foi realizada a erradicação dos hospedeiros, devido ao resultado negativo, obtidos nas amostras da contra-provas. De forma resumida, as ações contemplaram: sensibilização das autoridades locais, estabelecimento de parcerias interinstitucionais, delimitação do foco e área perifocal, coleta de nova amostra para análise molecular, adoção de medidas de supressão do inseto vetor – considerando um raio de 4km a partir da geolocalização do ponto de coleta da amostra positiva (Figura 16).

Nos municípios de Bom Jesus da Lapa e São Félix do Coribe, os trabalhos foram iniciados com vista à:

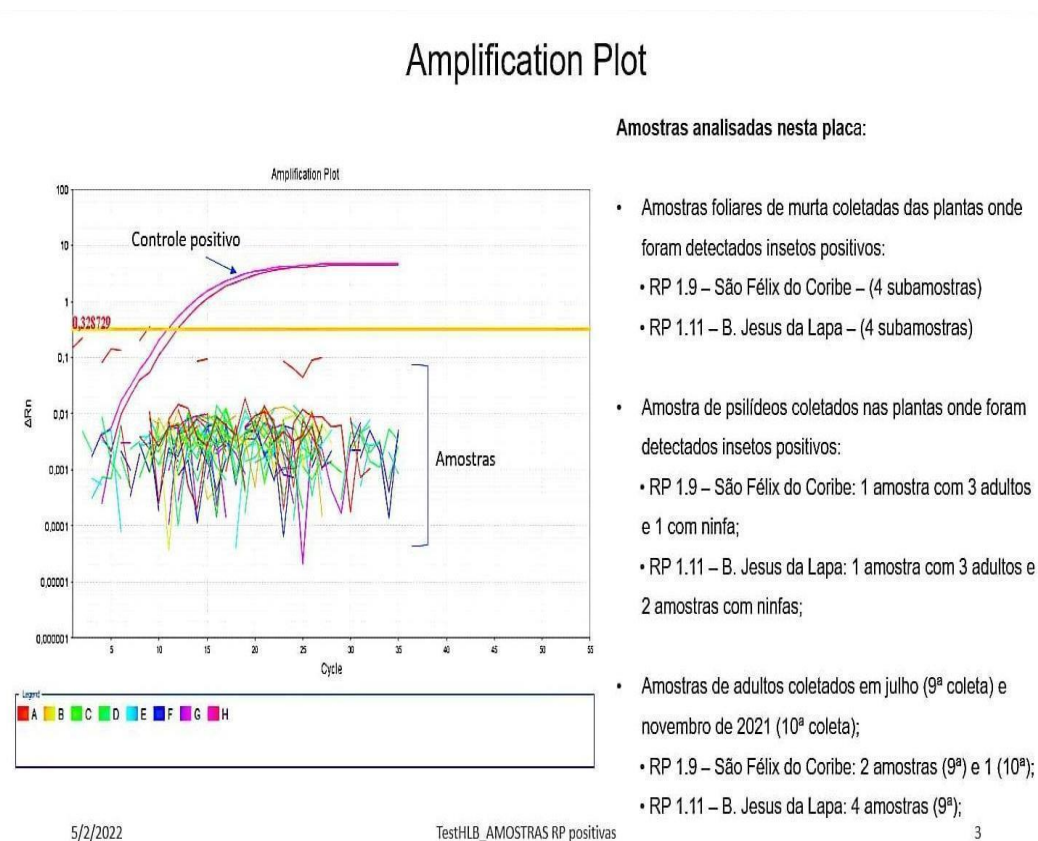
- (i) Delimitação das áreas em que seriam aplicadas as medidas de saneamento. A partir do ponto em que os insetos infectivos foram detectados (plantas de murta), estabeleceu-se uma circunferência de raio de 4km, nas áreas urbanas dos dois municípios.
- (ii) Coleta de material vegetal e de insetos para composição de novas amostras, encaminhadas à Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Figura 16 - Delimitação das áreas foco, conforme estabelecimento de circunferência de raio de 4km, nas zonas urbanas de Bom Jesus da Lapa (à direita) e São Félix do Coribe (à esquerda).



Fonte: AMORIM, D. F. (2022).

Figura 17- Esquema ilustrativo da análise de PCR quantitativo em tempo real com os amplicons de novas amostras de material vegetal e de insetos coletados, provenientes da rota Sentinela Oeste.



Legenda: Resultados negativos expressos pelas curvas abaixo das amostras do controle positivo: curva em lilás (Informação da EMBRAPA).

Após a análise dos testes realizados nas amostras de folhas das plantas de murta, onde haviam sido encontrados insetos infectivos, o resultado foi negativo para todas as amostras analisadas (Figura 17). Os testes foram realizados pela EMBRAPA Mandioca e Fruticultura.

A execução do trabalho tem permitido a obtenção de informações quanto ao nível de infestação de *D. citri* em plantas de murta e citros nas rotas sentinelas, sendo que as rotas “candidatas” a negativas e a positivas apresentaram número de amostras semelhantes. Por outro lado, rotas candidatas a positivas apresentaram número de insetos coletados 1,8 vezes maior que as rotas negativas, dado corroborado pelo monitoramento populacional de *D. citri* realizado em cinco municípios do Recôncavo (SANCHES et al., 2018).

Ademais, tem sinalizado quais rotas apresentam maior predisposição à disseminação do HLB no estado da Bahia, informação que subsidia as estratégias de intensificação da vigilância fitossanitária.

Considerando a detecção da bactéria ocorrida em duas das 21 amostras de insetos coletados na rota sentinela positiva da Chapada Diamantina e cinco anos depois não ter sido detectado nenhum sintoma em hospedeiros daquela região (LOPES, 2015), tem indicado que a estratégia de vigilância e controle adotados pela ADAB são exitosas - aumento do número de cidades sob vigilância na rota sentinela da Chapada, assim como a inspeção de todos os hospedeiros dos pomares domésticos, num raio de 4 km, mantendo o estado da Bahia área livre do HLB.

Todavia, a vigilância deve ser constante, haja vista uma nova detecção ter sido registrada em 2022, a partir de amostra coletada em 2021. Outro aspecto a ser considerado pela ADAB é o fato de que ambas as detecções de insetos infectivos tenham-se dado em perímetro urbano e no hospedeiro murta, o que ratifica não só a hipótese desse trabalho, mas também a via, mais provável, de ingresso da praga no território baiano – material propagativo infectado.

Dessa forma, a ADAB deve intensificar as fiscalizações de trânsito de vegetais nas rodovias e estabelecimentos comerciais (hortos), devido ao trânsito de material propagativo, principalmente em rotas (Linha Verde, Baixo Sul, Recôncavo, Chapada e Oeste) que possuem um número elevado de hortos ou tem proximidade com estado de ocorrência do HLB, pois, não raro tem ocorrido a interceptação de mudas de frutíferas e ornamentais, as quais são comercializadas de forma clandestina. Com isso, as barreiras fitossanitárias são fundamentais ferramentas de fiscalização para a manutenção da Bahia como área livre do *Greening*.

4 CONCLUSÃO

Em se tratando de um sistema de vigilância para enfrentar a ameaça do HLB dos Citros, o monitoramento da invasão da bactéria realizado pela ADAB, ao ter detectado insetos infectivos por duas vezes, se mostrou como uma ferramenta eficiente e norteadora da tomada de decisão.

Para fins de determinação do risco de ingresso e disseminação da praga, as rotas sentinelas da Linha Verde e do Baixo Sul, além de contarem com um representativo número de hospedeiros e de inseto vetor, também possuem um número elevado de hortos, possuindo um grande trânsito de material propagativo comercializado por esses locais, fazendo assim com que elas passem a integrar o rol das rotas sentinelas candidatas a positivas.

Com a reavaliação de amostras de tecido vegetal e de insetos coletados na rota sentinela do Oeste (2022), a partir de amostras de 2021, os resultados negativos obtidos quase um ano após, corroboram com o *status* da Bahia como Território sem ocorrência de HLB dos Citros.

A estratégia aplicada faz parte das inovações resultantes do projeto de pesquisa coordenado pela EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, o HLB BioMath, em sua terceira fase de desenvolvimento; a qual passou a ser uma ação compulsória das Unidades da Federação livres do HLB dos Citros.

REFERÊNCIAS

- ADAB. **Bahia reforça status de zona livre do Greening durante reunião nacional.** 2019. Disponível em: <http://www.adab.ba.gov.br/2019/10/2072/Bahia-reforca-status-de-zona-livre-doGreening-durante-reuniao-nacional.html>. Acesso em: 24 fev. 2022.
- ALMEIDA, U. C. Bahia: **Polos citrícolas, trânsito vegetal e riscos da introdução do Huanglongbing dos citros.** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Cruz das Almas, 2012.
- BOVÉ, J. M. Huanglongbing: A destructive, newly emerging, century old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, p. 7-37, 2006.
- DENG, X. et al. Bcl2's flexible loop domain regulates P53 binding and survival. **Molecular and Cellular Biology**, v.26, n.12, p.4421-4434, 2006.
- HOCQUELLET, A.; TOORAWA, P.; BOVÉ, J.M.; GARNIER, M. Detection and identification of the two „*Candidatus*’ Liberibacter species associated with citrus huanglongbing by PCR amplification of ribosomal protein genes of the beta operon. **Molecular and Cellular Probes**, v.13, n. 5, p.373-379, 1999.
- HUNG, Ting-Hsuan; WU, Meng-Ling; SU, Hong-Jí. Detection of fastidious bacteria causing citrus greening disease by nonradioactive DNA probes. **ANNALS-PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN**, v. 65, p. 140-146, 1999.
- JAGOUÉIX, S.; BOVÉ, J.M.; GARNIER, M. PCR detection of the two *Candidatus* Liberibacter species associated with greening disease of citrus. **Molecular and Cellular Probes**, v. 10, n. 1, p. 43-50, 1996.
- LOPES, A. C. **Flutuação populacional de *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) e monitoramento da invasão de *Candidatus* Liberibacter asiaticus na Chapada Diamantina, Bahia.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.
- MANJUNATH, K. L. *et al.* Detection of *Candidatus* liberibacter asiaticus in *Diaphorina citri* and its importance management of citrus Huanglongbing en Florida. **Phytopathology**, v. 98, p. 387-396, 2004.
- 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, n. 4, p. 387–396, 2008.
- SANCHES, M. M. *et al.* Levantamento de Huanglonbing (HLB) em citros no Brasil e diagnose dos agentes etiológicos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 337, **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, p. 21, 2018.
- SANTOS, T. T. de C. Parametrização e modelagem ex-ante da disseminação do HLB dos citros no Recôncavo da Bahia. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Cruz das Almas-BA, 2012.
- SILVA, S. X. de B. Saneamento de foco de Psilídeos Infecciosos com a Bactéria HLB dos Citros nos Territórios do Velho Chico e Bacia do Rio Corrente (**Relatório Técnico**). Programa Fitossanitário dos Citros, ADAB - Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia, Salvador-BA, 2022.

CAPÍTULO 2

ESTABELECIMENTO DE ÁREA REGIONAL DE MANEJO NO RECÔNCAVO BAIANO

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
SETEMBRO – 2022

AMORIM, D.F., ESTABELECIMENTO DE ÁREA REGIONAL DE MANEJO NO RECÔNCAVO BAIANO

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

Professor/Advisor: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

RESUMO

O Huanglongbing (HLB) é a principal praga da citricultura mundial, sendo o psílídeo *Diaphorina citri* o vetor da bactéria a curtas distâncias. Citros e murta (*Murraya paniculata*) são hospedeiros da bactéria e do inseto vetor. A murta é considerada hospedeiro preferencial de *D. citri*. Portanto, conhecer a dinâmica populacional do inseto vetor, resultará em conhecimentos que subsidiarão a tomada de decisão num cenário futuro em que seja preciso controlá-lo. Com o objetivo de quantificar a população de *D. citri* e registrar sua flutuação populacional, no período de 03/2021 a 04/2022, foi implantada a Área Regional de Manejo (ARMA), compreendendo os municípios de Cruz das Almas e Muritiba. Foram instaladas e georreferenciadas 41 armadilhas adesivas amarelas, em plantas de citros nos povoados (Pumba 1, Pumba 2, Embira, Boca da Mata e São José de Itaporã). Com o auxílio do aplicativo Distance Radius, foi escolhido um ponto central a partir do qual foram definidos os demais pontos, utilizando as distâncias de 500 m, 1 km, 2 km, 3 km e 4 km de raio. Para cada uma das distâncias de raio, foram distribuídos 8 pontos de forma circular para instalação das armadilhas, previamente identificadas e quinzenalmente substituídas. Após as coletas, as armadilhas foram avaliadas, quantificando-se o número de adultos de *D. citri* capturados. Durante esse período de avaliação, foram capturados um total de 3831 psílídeos, com destaque para os meses de abril/2021 e junho/2021, representando mais da metade de todos os exemplares de psílídeos capturados. Ao longo dos 14 meses na área regional de manejo, houve uma regularidade na captura de psílídeos em todas as coletas. O uso de práticas agrícolas ao longo do ano determinou uma diferença na quantificação entre as áreas domésticas e comerciais, dessa forma, na área doméstica a falta de manejo contribuiu para o número alto de psílídeos e na área comercial a prática recorrente do manejo resultou em uma menor quantificação de *D. citri*, fazendo com que as armadilhas mais próximas do ponto central obtivessem um número alto de psílídeos capturados. Esses resultados mostram que, o Recôncavo Baiano necessita de um sistema de vigilância fitossanitária aliada a educação sanitária permanente, com a finalidade de contribuir para a detecção prévia e o manejo do HLB dos citros, evitando assim a sua disseminação, que causaria um prejuízo de bilhões à citricultura baiana.

Palavras-Chave: Defesa agropecuária, psílídeos, dinâmica populacional, estratégia.

AMORIM, D.F., ESTABLISHMENT OF REGIONAL MANAGEMENT AREA AT RECÔNCAVO BAIANO.

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2022.

Professor/Advisor: Profa. Dra. Suely Xavier Brito da Silva

ABSTRACT

Huanglongbing (HLB) is the main pest of citrus worldwide, and the psyllid *Diaphorina citri* is the vector of the bacterium over short distances. Citrus and myrtle (*Murraya paniculata*) are hosts of the bacterium and the insect vector. Myrtle is considered a preferred host of *D. citri*. Therefore, knowing the population dynamics of the insect vector will result in knowledge that will support decision-making in a future scenario in which it is necessary to control it. In order to quantify the population of *D. citri* and record its population fluctuation, from 03/2021 to 04/2022, the Regional Management Area (ARMA) was implemented, comprising the municipalities of Cruz das Almas and Muritiba. Forty-one yellow sticky traps were installed and georeferenced in citrus plants in the villages (Pumba 1, Pumba 2, Embira, Boca da Mata and São José de Itaporã). With the aid of the Distance Radius application, a central point was chosen from which the other points were defined, using distances of 500 m, 1 km, 2 km, 3 km and 4 km of radius. For each of the radius distances, 8 points were distributed in a circular shape for the installation of traps, previously identified and replaced every two weeks. After the collections, the traps were evaluated, quantifying the number of captured *D. citri* adults. During this evaluation period, a total of 3831 psyllids were captured, with emphasis on the months of April/2021 and June/2021, representing more than half of all psyllid specimens captured. During the 14 months in the regional management area, there was a regularity in the capture of psyllids in all collections. The use of agricultural practices throughout the year determined a difference in the quantification between domestic and commercial areas, thus, in the domestic area the lack of management contributed to the high number of psyllids and in the commercial area the recurrent practice of management resulted in a lower quantification of *D. citri*, causing the traps closer to the central point to obtain a high number of captured psyllids. These results show that the Recôncavo Baiano needs a phytosanitary surveillance system allied to permanent health education, in order to contribute to the prior detection and management of citrus HLB, thus preventing its spread, which would cause billions of losses. to the Bahian citrus industry.

Keywords: Agricultural defense, psyllids, population dynamics, strategy.

1 INTRODUÇÃO

A citricultura está presente em todos os estados brasileiros. Mas para os cultivos comerciais, Minas Gerais e São Paulo ocupam posição de destaque no ranking nacional da produção. Conforme dados do IBGE, em 2019, a área cultivada com laranja era de 592 mil hectares, limão 56 mil hectares e tangerina 52 mil hectares. (Sistema FAEG, 2021).

Para a safra 2021/2022, o Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus) estima uma produção de 294,1 milhões de caixas de 40,8 quilos no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo e Sudoeste de Minas Gerais. O valor corresponde a um aumento de 9,51% com relação à última safra. (Sistema FAEG, 2021).

O Brasil também é líder na exportação mundial de suco de laranja. De acordo com o Comex Stat, em 2020, os embarques superaram US\$ 1,4 bilhão. Já no primeiro quadrimestre de 2021, a exportação já supera 21,2% do registrado no mesmo período do ano passado. Segundo a CitrusBR, o Brasil responde por 79% do suco de laranja comercializado no mundo (Sistema FAEG, 2021).

O Huanglongbing (HLB, ex-greening) é uma doença associada às bactérias denominadas *Ca. Liberibacter spp.*, pertencentes à classe α Proteobacteria (Teixeira *et al.*, 2010) e disseminadas por dois insetos vetores: *Diaphorina citri* Kuwayama e *Trioza erytrae* (Del Guercio). No Brasil duas espécies de patógenos estão presentes: a *Ca. L. asiaticus* e a *Ca. L. americanus*, ambas transmitidas pelo psilídeo *D. citri* (BOVÉ, 2014).

Segundo Rezende, Shibata e Souza (2015), os rendimentos das lavouras de laranja, limão e tangerina no Estado da Bahia são considerados baixos, devido, sobretudo aos seguintes fatores: pomares velhos; incidência de pragas e doenças, com significativos reflexos nos custos de produção; solos de baixa fertilidade; inadequado manejo dos pomares, dentre outros.

Caso o HLB venha a ser introduzido e estabelecido no estado da Bahia, acarretará um prejuízo de 1,8 bilhões de reais (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Informações sobre flutuação populacional e padrão comportamental do psilídeo dos citros são fundamentais para a definição e implantação de estratégias de controle (YAMAMOTO *et al.*, 2001). O monitoramento populacional do inseto vetor é uma prática necessária para estabelecer estratégias de controle da doença (RORIZ *et al.*, 2011).

Visando fortalecer o sistema de vigilância e fiscalização agropecuária do Estado da Bahia, a Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB) publicou

portarias, com objetivo de disciplinar a produção, o trânsito, o comércio de frutos e material propagativo, além de legislação sobre plantas ornamentais hospedeiras do HLB (ALMEIDA, 2012).

A escolha dos municípios (Cruz das Almas e Muritiba) considerou alguns pontos, como:

1. As cidades escolhidas fazem parte de um grande pólo citrícola;
2. A existência de pequenas e grandes propriedades;
3. A presença de áreas de pomares e áreas domésticas com cultivo de citros;
4. A proximidade de uma malha rodoviária (BR-101), onde ocorre o trânsito de material propagativo e a comercialização de frutos.

Esse trabalho objetivou monitorar a flutuação populacional de *D. citri* e implantar uma área regional de manejo (ARMA), em dois municípios do Recôncavo Baiano – Cruz das Almas e Muritiba.

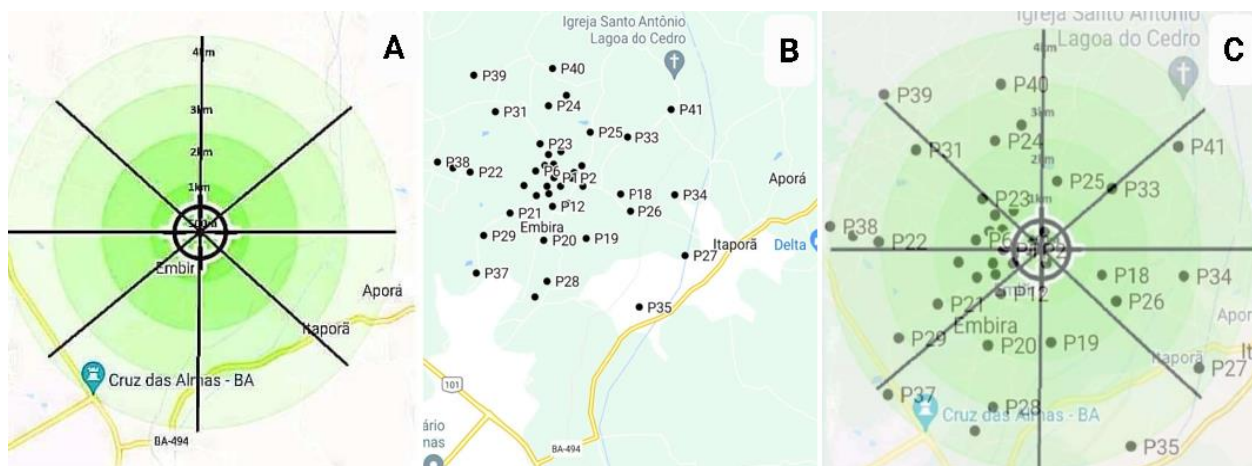
2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado de 11 de março de 2021 a 21 de abril de 2022 nos municípios de Cruz das Almas (Povoados de Pumba 1, Pumba 2, Embira e Boca da Mata) e Muritiba (São José de Itaporã), no estado da Bahia. A escolha dos pontos de monitoramento se deu através de programas e aplicativos como distance radius, Map Marker e QGIS.

A marcação dos pontos ocorreu da seguinte forma: a partir de um ponto central (P01) (Figura 18), iniciou-se o estabelecimento de raio de 500 m e a formação do primeiro círculo, seguido da escolha de oito pontos equidistantes na borda desse círculo (P02, P03... P09); seguindo o mesmo processo, mais oito pontos foram estabelecidos na borda do 2º círculo de raio de 1 km (P10, P11...P17).

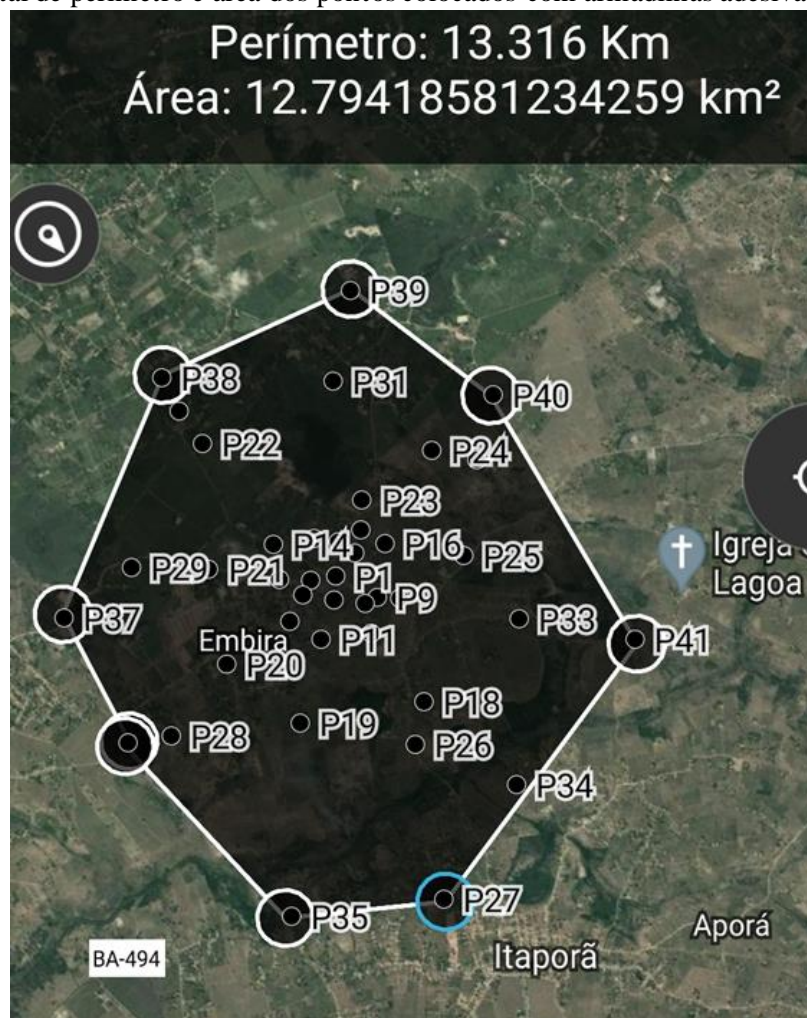
Oito novos pontos foram posicionados na borda do 3º círculo de raio de 2 km (P18, P19...P25); no novo círculo de raio de 3 km, foram georreferenciados, mais oito pontos na borda do mesmo (P26, P27... P33) e por último, oito novos pontos foram posicionados no círculo de raio de 4 km (P34, P35...P41), numa área total de 12.79km² e um perímetro de 13.316km (Figura 19), sendo todas as armadilhas adesivas amarelas foram colocadas em hospedeiro de plantas cítricas.

Figura 18 – Mapa da medição Distance Radius para escolha dos 41 pontos georreferenciados correspondentes à localização das armadilhas adesivas nos municípios de Cruz das Almas e Muritiba.



Legenda: Medição dos pontos pelo aplicativo Distance Radius (A), pontos geolocalizados (UTM) pelo aplicativo Map Marker (B) e sobreposição das figuras A e B (C) Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

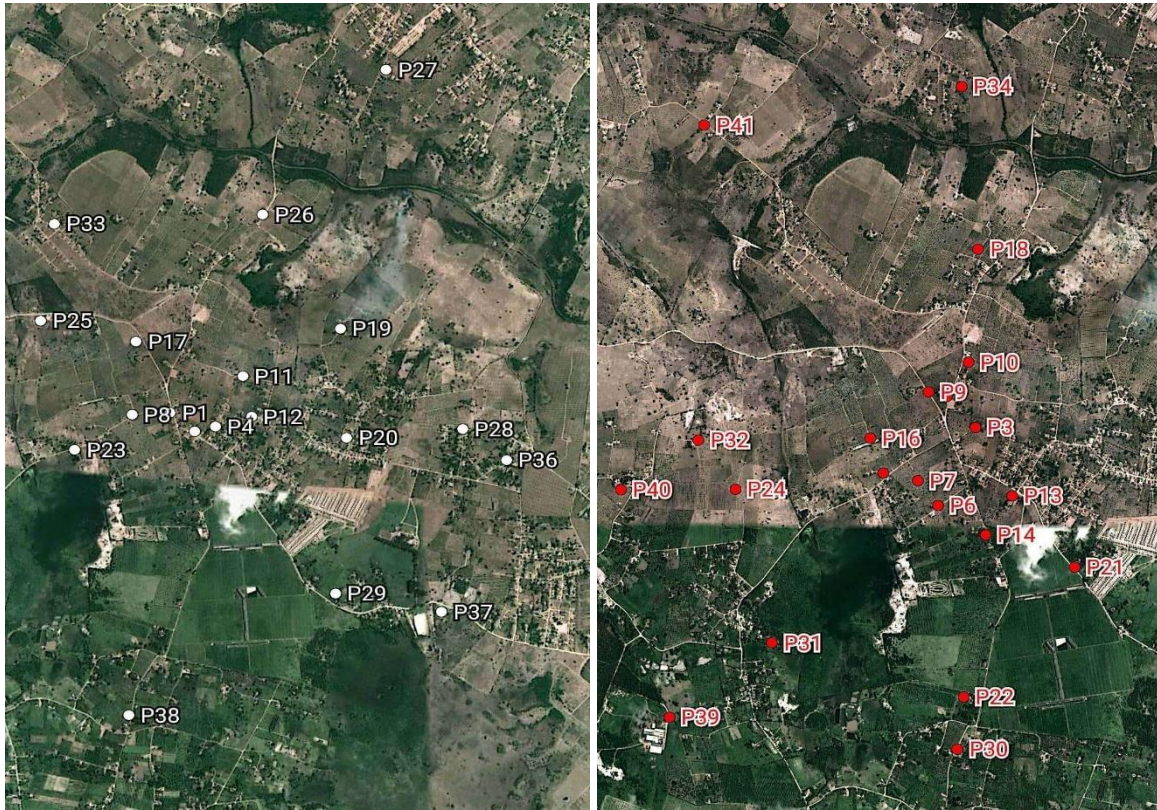
Figura 19 - Total de perímetro e área dos pontos colocados com armadilhas adesivas amarelas.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Para realizar a quantificação dos psíldeos com efeito de comparação durante esse período, a ARMA foi dividida em dois blocos: área doméstica (fundo de quintal) e área comercial (plântio de citros) (Figura 20), ao longo de 14 meses.

Figura 20 - Mapas da localização das armadilhas adesivas amarelas instaladas em áreas domésticas (ícones brancos) e em comerciais (ícones vermelhos).



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Para a coleta dos insetos foram utilizadas 41 armadilhas adesivas amarelas, que foram instaladas a uma altura média de dois metros de altura (CHIARADIA et al., 2008), sempre no terço superior da planta hospedeira (citros), preferencialmente próximo a uma brotação recém emitida (LOPES, 2015), e foram substituídas quinzenalmente, como mostra a Figura 21.

Figura 21 – Manutenção da armadilha, instalada no terço superior da planta.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Após feita a geolocalização, através do app Map Marker, utilizou-se uma aeronave remotamente pilotada (drone) (Figura 22), em alguns locais para identificar as vias de acesso e confirmar a posição de instalação das armadilhas adesivas amarelas (Figura 23).

Figura 22 – Geolocalização da ARMA com levantamento de voo (drone), para observação dos locais onde seriam instaladas as armadilhas adesivas amarelas.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021) e SILVA, S.X.B. (2021).

Figura 23 – Armadilha adesiva amarela etiquetada (Ponto, lado e a data) e materiais utilizados na quantificação, leitura e etiquetagem.



Legenda: Caneta retroprojetera, etiqueta adesiva e lupa. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Em campo, as armadilhas adesivas amarelas eram quinzenalmente substituídas, coletadas e acondicionadas no caixilho de madeira, o qual era depositado numa caixa de isopor e seguia para a ADAB (Figura 24).

Figura 24 - Conjunto caixa de isopor e caixilho de madeira para acondicionamento dos insetos capturados.



Legenda: Recepção das armadilhas adesivas amarelas e início do processo de leitura para quantificação dos psilídeos capturados, no escritório da ADAB localizado no SAC-SAJ. Fonte: SILVA, S.X.B. (2021).

As avaliações das armadilhas adesivas amarelas foram feitas sempre após retirada do campo, a fim de evitar a proliferação de fungos que interferissem na identificação e contabilização do inseto vetor do HLB dos citros capturados. Para esse tipo de trabalho, utilizou-se uma lupa conta-fios, de 10 vezes de aumento (Figura 25).

Figura 25 - Quantificação de psilídeos capturados nas armadilhas amarelas adesivas.



Legenda: Ajuste da metodologia de leitura das armadilhas adesivas amarelas para quantificação dos psilídeos capturados, no escritório da ADAB localizado no SAC-SAJ. Fonte: SILVA, S.X.B. (2021).

Os insetos foram contabilizados (Figura 26) com o auxílio de um papel impresso apresentando o mesmo tamanho e divisões das armadilhas adesivas amarelas, com o intuito de facilitar a contagem dos insetos. Em seguida, os dados foram inseridos em planilha de Excel (Apêndice A).

Foram realizadas análises utilizando o programa geoestatística QGIS, para identificar em quais armadilhas e em que período houve quantidade significativa de psilídeos capturados.

Figura 26 – Armadilha com insetos capturados em destaque.

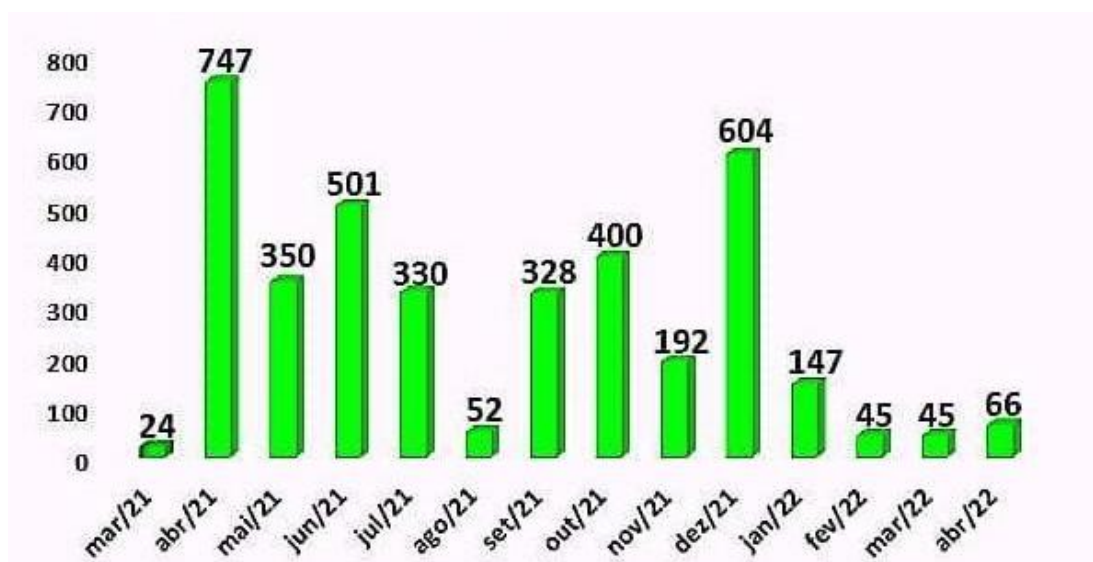


Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No período de 03/2021 a 04/2022, efetuou-se a leitura de 1189 armadilhas coletadas nos municípios estudados, Cruz das Almas e Muritiba, nas quais foram capturados um total de 3831 psilídeos (Figura 27).

Figura 27 - Quantificação de psilídeos capturados.



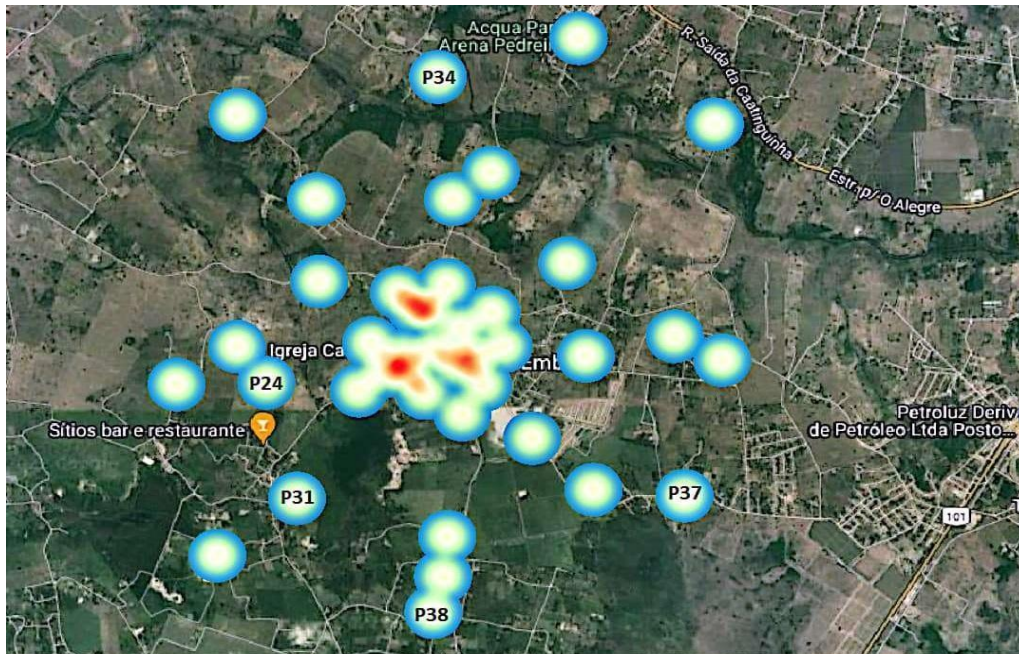
Legenda: Quantificação de *D. citri* ao longo de 14 meses de manutenção de armadilhas.

Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Verificou-se que o mês de abril correspondeu ao maior número de psilídeos quantificados, resultado que pode estar associado às condições climáticas que favoreceram as brotações dos hospedeiros. Nos meses de junho e dezembro registrou-se o segundo e terceiro maiores números de insetos capturados.

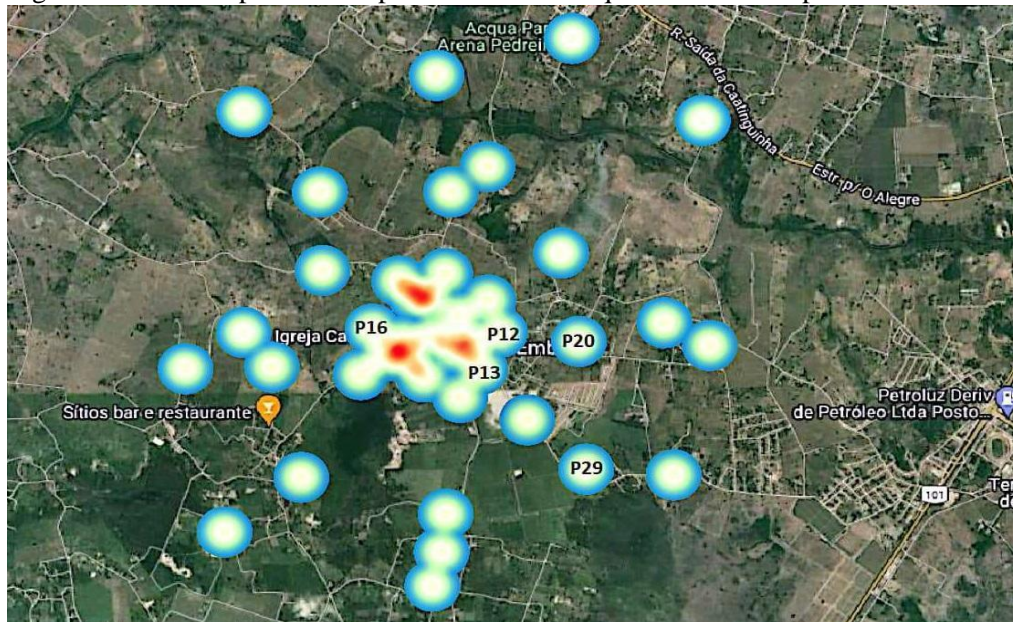
Na figura 28 o heatmap registrou os cinco pontos (P24, P31, P34, P37 e P38) com menores quantitativos de psilídeos capturados ao longo dos 14 meses, representando aproximadamente 0,025% dos psilídeos capturados, diferente da figura 29, na qual os cinco pontos representaram 40% dos psilídeos capturados.

Figura 28 - Heatmap dos cinco pontos com menor quantitativo de psilídeos capturados.



Legenda: Destaque dos cinco pontos com menor captura de *D. citri* no município de Cruz das Almas (P-24, P-31, P-37 e P-38) e Muritiba (P-34). Observa-se que, os pontos encontram-se mais distantes da concentração de calor, pois tiveram menor quantificação de psilídeos. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Figura 29 - Heatmap dos cinco pontos com maior quantitativo de psilídeos.

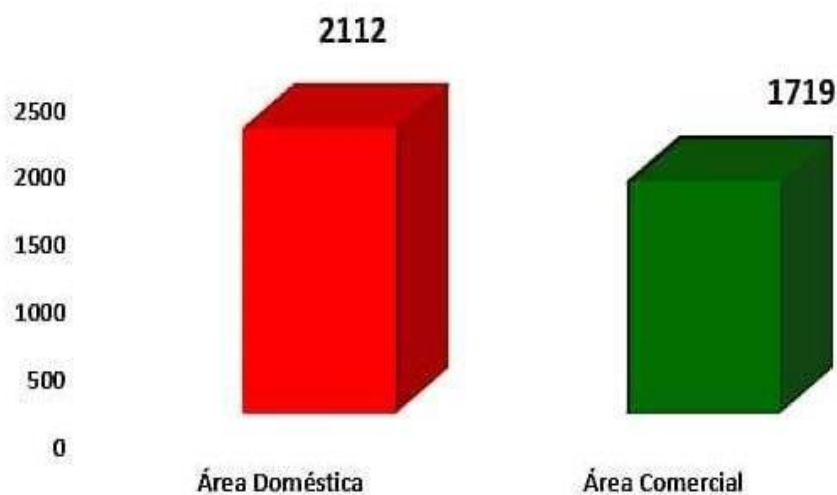


Legenda: Destaque dos cinco pontos com maior captura de *D. citri* no município de Cruz das Almas. Observa-se que, os pontos com maior captura de psilídeos encontram-se no centro, onde há maior concentração de calor. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

A Figura 30 indica uma comparação entre o total de psilídeos capturados na área doméstica e na área comercial. É possível observar o número elevado de insetos capturados

na área doméstica. Isso pode ser explicado devido alguns fatores, a saber que nas áreas comerciais há adoção de defensivos agrícolas e nas áreas domésticas encontram-se uma quantidade de murtas superior às áreas comerciais. Como as árvores residenciais permanecem em grande parte sem manejo e geralmente abrigam altas populações de *D. citri*, supõe-se que os insetos deixarão esses ambientes residenciais para infestar os comerciais (pomares comerciais) (SÉTAMOU, GRAÇA e PREWETT, 2012; MILOSAVLJEVIĆ et al., 2018). Assim como, os resultados encontrados no presente estudo em relação a área comercial X área doméstica, pois os pomares que se encontravam próximos de plantas cítricas residenciais (fundo de quintal) tiveram maior quantificação em captura de psíldeos do que os pomares que se encontravam distantes dos citros residenciais.

Figura 30 - Total de psíldeos capturados nas áreas domésticas e comerciais.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Na Figura 31, apresenta-se um comparativo em relação às áreas domésticas e comerciais, ilustrando os principais pontos de captura de psíldeos ao longo dos 14 meses. As áreas domésticas registraram oito pontos com capturas de psíldeos acima de 100 adultos, ao longo do período, sendo que áreas residenciais com plantas ornamentais cítricas podem ser consideradas como habitats de origem porque não são tratadas com produtos químicos (KISTNER et al., 2016; CHOW E SÉTAMOU, 2021; MILOSAVLJEVIĆ et al., 2021).

Nas áreas comerciais dos 22 pontos, apenas quatro obtiveram número acima de 100, dado que pode ser explicado pelo manejo do local, pois segundo Sétamou, Graça e Prewett (2012), pomares comerciais de citros, isolados de áreas residenciais, tendem a ter densidades de psilídeos dos citros asiáticos (PAC) mais baixas do que pomares comerciais que fazem interface com bairros residenciais.

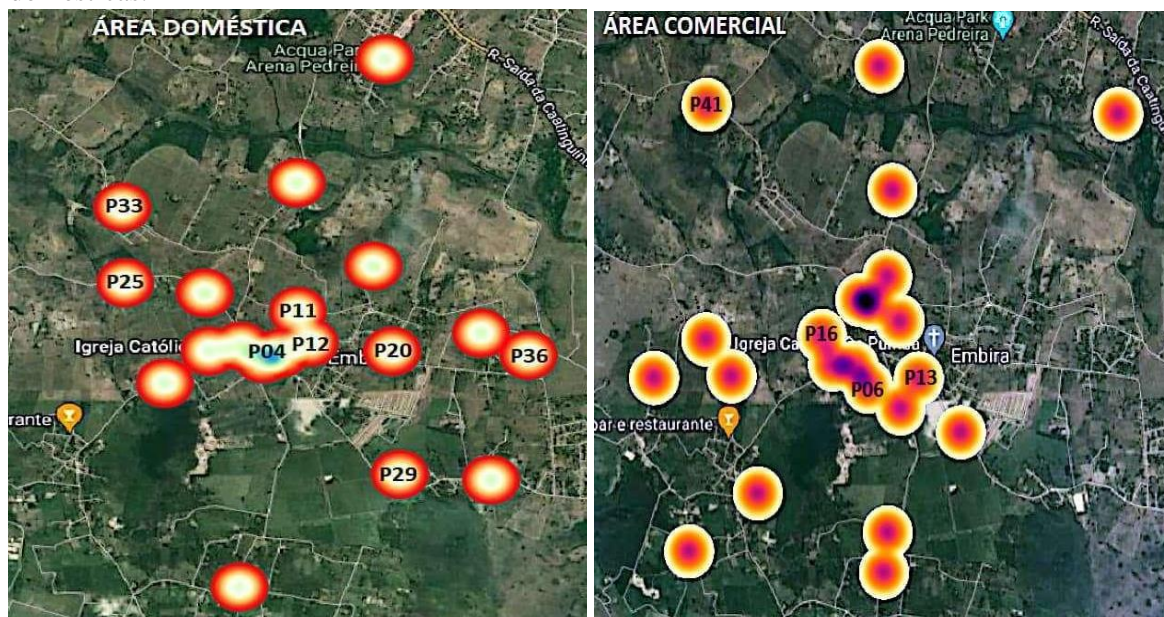
Na área doméstica os oito pontos (P04, P11, P12, P20, P25, P29, P33 e P36), totalizaram 1.515 psilídeos capturados, correspondendo a 72% do total da área doméstica que registrou 2.112 psilídeos capturados. Enquanto na área comercial, os quatro pontos (P06, P13, P16 e P41) totalizaram 807 psilídeos capturados, o que corresponde a 47% do total da área comercial que registrou 1.719 psilídeos capturados.

Foi observado a partir do mapa de calor abaixo que, quanto mais próximo ao centro da concentração de calor os pontos (P04, P06, P11, P12, P13 e P16) tiveram uma maior quantificação e regularidade ao longo dos 14 meses, isso porque nas áreas comerciais citadas ocorre um manejo alternativo (não uso de defensivo agrícola ou 1 aplicação anual), devido a proximidade com residências rurais, enquanto, nas áreas domésticas (fundos de quintais) não há o manejo das plantas cítricas associado à presença de murtas nas proximidades (planta hospedeira de citros).

Por outro lado, os pontos (P20, P25, P29, P33, P36 e P41) distantes do centro de concentração de calor, apresentaram uma quantificação elevada de psilídeos, diferenciando-se dos pontos próximos à concentração de calor, apenas por não apresentarem uma regularidade ao longo do período.

Essa ausência de regularidade, pode ser explicada pelos seguintes fatores: as áreas comerciais realizam o manejo (uso de defensivo agrícola) com mais frequência do que os pomares próximos ao centro de concentração de calor, quanto mais longe do centro (residências rurais) mais intensificado é o uso de práticas agrícolas (uso de herbicida, fungicida e inseticida). Com isso, percebeu-se que, os pontos mais próximos da concentração de calor apresentaram não apenas uma maior quantificação de psilídeos, mas também uma regularidade de capturas ao longo do ano.

Figura 31 - Comparativo dos pontos com as maiores capturas de psilídeos nas áreas comerciais e domésticas.

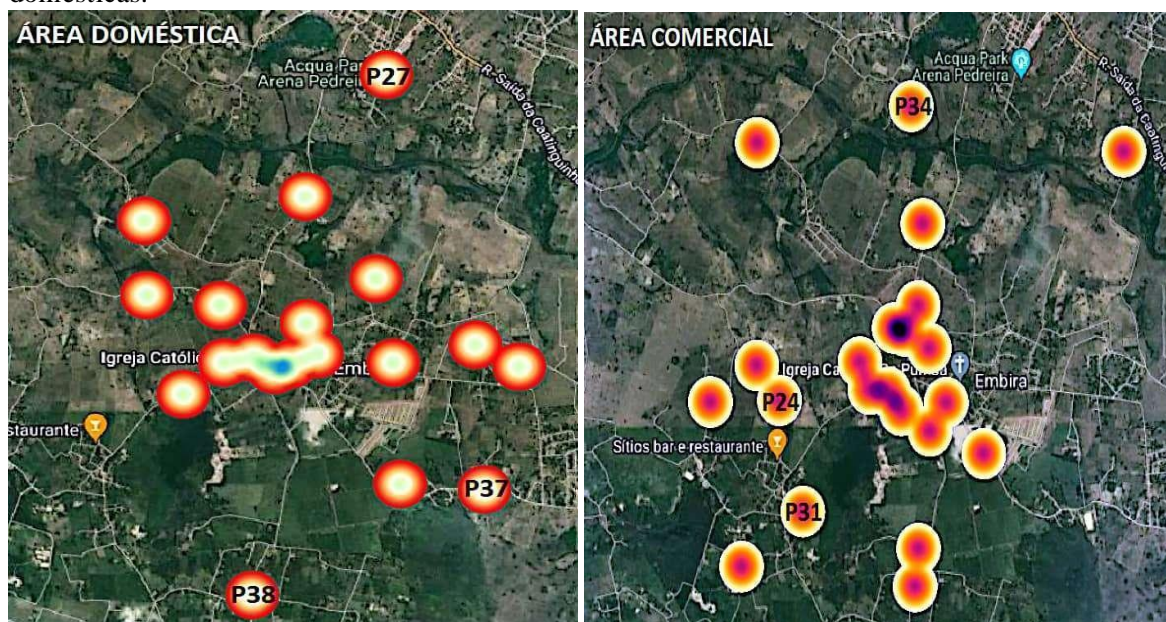


Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

A Figura 32 mostra um comparativo entre as duas áreas de estudo com menor número de psilídeos capturados, tendo como parâmetro a linha abaixo de 30 psilídeos recolhidos ao longo dos 14 meses, a área doméstica possui três pontos (P27, P37 e P38) nessa situação, totalizando 54 psilídeos capturados, o que corresponde a aproximadamente 2,6% da área doméstica total, por outro lado, a área comercial possuindo três pontos (P24, P31 e P34), totalizando 65 psilídeos capturados, o que corresponde por 3,8% da área doméstica total.

A partir do mapa abaixo foi verificado que, os pontos (P24, P27, P31, P34, P37 e P38) destacaram-se pela distância da concentração de calor, como resultado das áreas comerciais possuem um manejo agrícola (uso de defensivo) ao longo do ano, contribuindo assim para a diminuição de psilídeos capturados nesses pontos, outro fator que corroborou para esse resultado, foi a proximidade das áreas domésticas com os pomares que utilizam defensivos agrícolas. Uma vez que, mesmo com alguns pontos da área doméstica estarem localizados próximos às murtas, o uso de práticas agrícolas ao longo do ano, contribui para a diminuição de psilídeos capturados. Dessa forma, a concentração de calor serve como parâmetro para determinar uma maior ou menor quantificação de *D. Citri* ao longo do ano.

Figura 32 - Comparativo dos pontos com menores capturas de psilídeos nas áreas comerciais e domésticas.



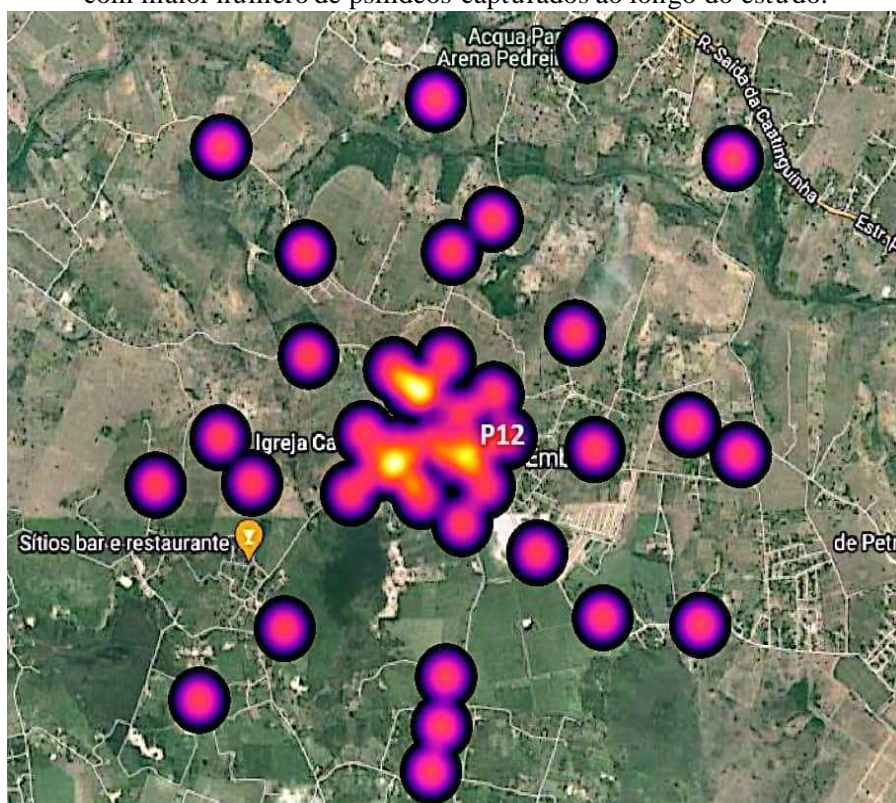
Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Observa-se na Figura 33, o ponto que obteve maior coleta de psilídeos dentre os 41 pontos estudados, mostrando uma regularidade de captura ao longo das 29 coletas para leitura das armadilhas. Essa quantidade pode ser explicada pelos seguintes fatores: a existência de murtas num raio de 50m do ponto e a ocorrência de chuvas ao longo desses 14 meses, ocasionando brotações de forma constante. Segundo Paiva (2009), os ramos em crescimento são o principal fator determinante da ocorrência e aumento populacional do *D. citri*., além da disponibilidade de novos ramos, a temperatura influencia populações do inseto e seu ciclo de vida.

Outro fator preponderante para destaque do P12, é a localização próxima às propriedades (pomares de citros) que não praticam uso de defensivo agrícola ao longo do ano, por isso foi mantida uma regularidade durante as 29 coletas de capturas de psilídeos.

Diversos autores concluem que a murta é hospedeira preferencial do vetor, tendo o agravante de que, em áreas comerciais de citros e com presença de murta, aumenta em 2,5 vezes a possibilidade de infectar muitas plantas (ATIHÉ JUNIOR et al., 2006; NAVA et al., 2007; PARRA et al., 2010; BASSANEZI et al., 2010; DAMSTEEGT et al., 2010). Corroborado de forma sucinta com os achados de Santos (2012) que, em seu estudo sobre a disseminação do HLB dos citros no Recôncavo da Bahia, concluiu que a população de insetos vetores nessa região pode ser considerada alta, o que influenciaria a ocorrência de maiores taxas de infecção nesses pomares, caso haja a introdução do HLB.

Figura 33 – Mapa de calor, destacando o P12, no centro da concentração de calor, sendo o ponto com maior número de psilídeos capturados ao longo do estudo.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

No entanto, as coletas apresentaram uma redução no número de psilídeos capturados a partir da 21ª manutenção de armadilha (Dezembro/2021), devido haver um holoparasitismo através do cipó-chumbo (*Cuscuta racemosa*) como mostra a Figura 34 abaixo.

Segundo Lima (1996), na região do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, espécimes de aceroleiras (*Malpighia emarginata* DC.) acometidas por *Cuscuta* spp. apresentam perda de vigor, comprometendo, assim, seriamente a produção de frutos.

No caso dos citros, a perda desse vigor se refere à dificuldade que a planta tem em emitir novos brotos, fazendo com que a oviposição nas brotações realizadas pelos psilídeos tenha uma diminuição populacional significativa. Reforçando a afirmação de Pennings & Callaway (2002), de que os impactos causados na hospedeira são ainda maiores porque além de parasitarem uma determinada planta, as holoparasitas competem com as plantas e organismos que ocorrem em conjunto, impactando no ambiente abiótico, interferindo na ciclagem de nutrientes, relações de água do solo, temperatura local e concentrações

atmosféricas de CO₂, logo, a produtividade e populações do entorno dependem da resiliência da planta hospedeira.

Assim como foi percebido neste estudo, uma queda no número de psilídeos capturados a partir da 21ª manutenção, muito possivelmente devido à presença do cipó-chumbo, Andrade, Araújo e Neves (2007) constataram uma redução do número de insetos herbívoros, sugadores e mastigadores nas plantas acometidas por *C. racemosa* (cipó-chumbo).

Figura 34 - Planta hospedeira cítrica parasitada com cipó-chumbo.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Na Figura 35 é possível observar o ponto com menor quantificação de *D. citri*, o P37, que apresentou ao longo dos 14 meses um total de 5 psilídeos capturados, esse resultado pode ser explicado devido à presença constante de mosca-negra ao longo de todo ano, pois após as observações realizadas no estudo, supõe-se que ambas as espécies (psilídeos - *D. citri* e mosca-negra - *Aleurocanthus woglumi*) disputam as mesmas

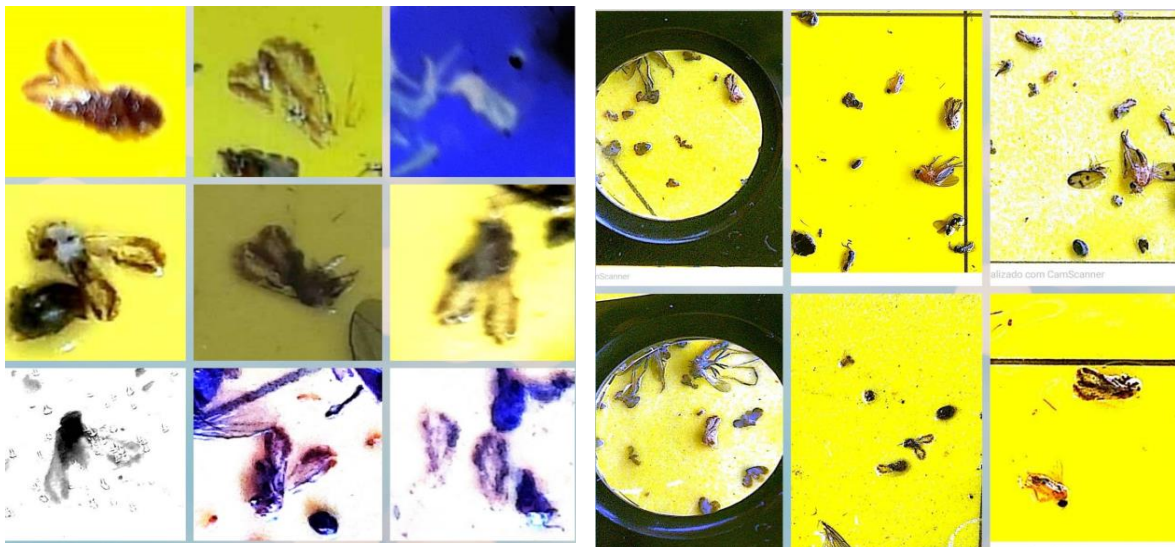
brotações para oviposição e alimentação, visto que, após a visualização da presença da mosca-negra na planta, a menor quantificação de *D. citri* foi verificado. Novos estudos são necessários para a elucidação dessa relação entre psilídeos e mosca-negra. Por fim, alguns insetos capturados podem ser visualizados na Figura 36.

Figura 35 - Ponto com menor quantitativo de psilídeos no total.



Legenda: A esquerda em destaque o P-37 e a direita heatmap do P-37, mostrando a distância do ponto em relação a área de concentração de calor, que representa as maiores quantificações de psilídeos. Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

Figura 36 – Insetos adultos de *D. citri* capturados, visto através de uma lupa ou a olho nu.



Fonte: AMORIM, D. F. (2021).

4 CONCLUSÃO

Assim, através da implantação da ARMA nos municípios de Cruz das Almas e Muritiba, verificou-se que, o psílídeo *D. citri* foi capturado em todas as 1.189 armadilhas adesivas coletadas em 14 meses do experimento, tendo possibilitado a captura de 3.831 psílídeos.

A flutuação populacional de psílídeos durante os 14 meses de coletas retrata variações que estão interligadas a fatores climáticos e de manejo dos pomares, sem sequer alterar a prevalência mensal de *D. citri*.

Considerando o risco de ingresso e estabelecimento do HLB dos citros na região do Recôncavo, em função das condições ecológicas, da presença do inseto vetor e de hospedeiros suscetíveis, da possibilidade de comercialização de material propagativo sem comprovação de origem, sugere-se uma forte campanha de Educação Sanitária para fortalecer o reconhecimento precoce de sintomas da praga, vias de ingresso, meios de disseminação e prejuízos econômicos associados ao *Greening*, cujo público meta seja: agricultores, viveirista, comerciantes e transportadores de frutos, responsáveis técnicos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo, o monitoramento da invasão da bactéria detectou com precisão a ocorrência de insetos infectivos na rota do Oeste, nas cidades de Bom Jesus da Lapa e São Félix do Coribe, o que possibilitou a atuação da ADAB de forma efetiva na adoção das medidas de averiguação e contenção de um foco, caso fosse necessário. Porém, as referidas medidas não foram aplicadas, haja vista que as novas amostras (hospedeiro e insetos) apresentaram resultado negativo para a bactéria *Candidatus Liberibacter sp.*

Na área regional de manejo, as capturas de do inseto vetor mediante o uso de armadilhas amarelas adesivas demonstraram que os psíldeos têm presença constante ao longo das avaliações mensais. Nas áreas domésticas devido ao baixo uso de produtos químicos, foi encontrada uma flutuação populacional constante e alta, ao mesmo tempo que, nas áreas comerciais localizadas próximo das áreas domésticas (fundo de quintal) foi quantificado um número significativo de psíldeos, confirmando assim, o risco de disseminação do HLB pelo Recôncavo.

Por se tratar de uma região de pequenos produtores, em uma eventual entrada do HLB no Recôncavo Baiano, a disseminação da bactéria seria rápida, devido às propriedades serem próximas umas das outras e somado a dificuldade dos produtores (basicamente de agricultura familiar) em lidar com as consequências da doença, facilitando a dispersão por todo o Recôncavo, tendo um agravante, o fato da região estar ligada pela malha rodoviária (BR 101) a outros polos citrícolas (Litoral Norte e Chapada), fazendo com que a disseminação da doença alcance todo o território baiano de forma rápida.

Dessa forma, a ARMA (área regional de manejo) tem um papel essencial, pois através desse monitoramento é possível entender o fluxo populacional de psíldeos ao longo do ano e ainda observar uma eventual entrada do HLB, por onde teria uma dispersão da doença. Por isso, se faz necessário tecnificar os produtores, assim como, qualificar os citricultores, através de palestras, dia de campo e outras formas de conscientização para que, caso haja uma entrada do HLB, os produtores juntamente com a agência de defesa, tomem medidas imediatas, evitando assim a disseminação e o estabelecimento do *Greening*.

Vale ressaltar que, ao longo dos 14 meses do projeto, observou-se uma relação extrativista do citricultor para com o manejo do pomar e desconhecimento sobre as

principais pragas dos citros. Assim como, a utilização de muitos defensivos, ocorre sem critérios técnicos, apenas por influência de citricultores de pomares vizinhos.

Então, o monitoramento da invasão da bactéria do HLB dos citros em rotas sentinelas e o estabelecimento de uma área regional de manejo, ao fornecer dados inéditos, fortaleceu o sistema de vigilância fitossanitária da Bahia, além de trazer conferido maior segurança à atividade citrícola estadual e ter consolidado a relevante parceria estabelecida entre a ADAB e demais instituições de Ensino (UFRB) e Pesquisa (EMBRAPA).

O conhecimento científico é condição *Sine Qua Non* a um serviço de qualidade em defesa agropecuária.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, U. C. Bahia: **Polos citrícolas, trânsito vegetal e riscos da introdução do Huanglongbing dos citros**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Cruz das Almas, 2012.
- ANDRADE, R. A. S., ARAÚJO, L. S. & NEVES, F. S. Ocorrência de *Cuscuta racemosa* (Convolvulaceae) no Parque Estadual do Rio Preto, Minas Gerais, Brasil. **Revista Unimontes Científica**, v.9, n.1, 2007.
- ATIHE JUNIOR, J.; PINO, F. A.; MENDONÇA, E.T. ; FRANCISCO V. L. F. S. Incidência de huanglongbing (HLB) (greening) em citros na região de Araraquara. **Laranja**, v.27, n.2, p.251-262, 2006.
- BASSANEZI, R.B.; LOPES, S.A.; BELASQUES JUNIOR, J.; SPÓSITO, M.B.; YAMAMOTO, P.T; MIRANDA, M.P.; TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A. Epidemiologia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.1, p.11-23, 2010.
- BOVÉ JM, Huanglongbing or yellow shoot, a disease of Gondwanan origin: Will it destroy citrus worldwide? **Phytoparasitica**, v. 42, p. 579-583, 2014.
- CHIARADIA, L.A. et al., Flutuação populacional e altura de captura de *Diaphorina citri* em pomar de citros. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 7, n. 2, p. 157-159, 2008.
- CHOW, A. and M. SÉTAMOU. Parasitism of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on residential citrus in Texas: Importance of colony size and instar composition. **Biol. to control**, v. 165, p. 104796, 2021.
- CITRUS BR. Disponível em <http://www.citrusbr.com>. Acesso em 19 de abril de 2015.
- DAMSTEEGT, V. D.; POSTNIKOVA, E. N.; STONE, A. L.; KUHLMANN, M., WILSON, C.; SECHLER, A.; SCHAAD, N. W.; BRLANSKY, R. H.; SCHNEIDERW. L. *Murraya paniculata* and related species as potential hosts and inoculum reservoirs of 'Candidatus Liberibacter asiaticus', causal agent of huanglongbing. **Plant Disease**, v. 94, p. 528-533, 2010.
- KISTNER, E.J. *et al.* Phenology of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae), with special reference to biological control by *Tamarixia radiata*, in the residential landscape of Southern California. **J. Eco. Entomol.** v. 109, p. 1047-1057, 2016.
- LIMA, M. F. *Cuscuta* spp. parasitando plantas de acerola (*Malpighia glabra*) em campo, no Vale do São Francisco. In: **Simposio de Controle Biológico-SICONBIOL**, 1996.
- LOPES, A. C. **Flutuação populacional de *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) e monitoramento da invasão de *Candidatus Liberibacter asiaticus* na Chapada Diamantina, Bahia**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.
- MILOSAVLJEVIĆ, I., R. AMRICH, V. STRODE and MS HODDLE. Modeling the phenology of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) in urban southern California: effects of environment, habitat and natural enemies. **Entomol environment**, v. 47, p. 233-243, 2018.

- MILOSAVLJEVIĆ, I., *et al.* Density-dependent mortality, climate and Argentine ants affect the population dynamics of an invasive citrus pest, *Diaphorina citri*, and its specialist parasitoid, *Tamarixia radiata*, in southern California, USA. **Biological Control**, 1v. 59, p. 104627, 2021.
- MOREIRA, C. S., MOURÃO FILHO, F. A. A., DONADIO, L.C. Citros: Capítulo 01: Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. FAPESP. **Centro APTA Citros** Sylvio Moreira, Cordeirópolis SP. 2005.
- NAVA, D.E.; TORRES, M.L.G.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem. Psyllidae) on different hosts and different temperatures. **Journal of applied entomology**, Berlin, v. 131, n. 9 e 10, p. 709-715, 2007.
- NEVES, M.F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. O Retrato da Citricultura Brasileira. Ribeirão Preto: **CitrusBR**, p.144, 2010.
- OLIVEIRA, J.M.C; DE NASCIMENTO, A.S.; DE MIRANDA, S.H.G.; BARBOSA, C.D.J.; LARANJEIRA, F.F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do Huanglongbing (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, n.3, 2013.
- PAIVA, P. E. B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**. Piracicaba, 2009. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, p. 65, 2009.
- PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; TORRES, M.L.G.; NAVA, D.E.; PAIVA, P.E.B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao Huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 37-51, 2010.
- PENNINGS, S.C. & CALLAWAY, R.M. Parasitic plants: parallels and contrasts with herbivores. **Oecologia**, v. 131, n. 4, p. 479-489, 2002.
- REZENDE, J. O.; SHIBATA, R. T.; SOUZA, L. S. **Justificativa e recomendações técnicas para o “plantio direto” dos citros nos tabuleiros costeiros: Ênfase na citricultura dos Estados da Bahia e Sergipe**. Cruz das Almas,BA: UFRB, p. 240, 2015.
- RORIZ, A. K. P.; BARBOSA, C. D. J.; SOUZA, E. S.; ALMEIDA, D. O; VELAME, K. V.C.; SILVA, S. X. B.; OLIVEIRA, J. M. C.; NASCIMENTO, A. S. do; ANDRADE, E. C. Monitoramento populacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), vetor do HLB e da presença de *Candidatus Liberibacter* nas regiões produtoras de citros no Estado da Bahia. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2011.
- SANTOS, T. T. C. **Parametrização e Modelagem Ex-Ante da Disseminação do HLB dos Citros no Recôncavo da Bahia**. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, 2012.
- SÉTAMOU, M.; GRAÇA, J.; PREWETT, R. HLB in Texas: Steps and Challenges to Contain This Threat. **Citrograph**, v. 3, p. 32–38, 2012.
- SISTEMA FAEG, **Brasil se destaca como maior produtor mundial de laranja e exportador de suco da fruta**, 2021. Disponível em:

<<https://sistemafaeg.com.br/faeg/noticias/citrus/brasil-se-destaca-como-maior-produtor-mundial-de-laranja-e-exportador-de-suco-da-fruta>>. Acesso em: 15 Nov 2021.

YAMAMOTO, P. T.; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região norte do estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 165- 170, 2001.

APÊNDICE A

Projeto Mosquitos da citara: Abordagem biomatemática com suporte a difusão zootécnica
 Plano de Ação: Quantificação espaço-temporal e amostragem de componentes do patossistema; burpedeira, vatur e patógenos
 Atividade: ARMA - ÁREA REGIONAL DE NANEJO

Instalação e Calote do Jodas das armadilhas: Município de Cruz das Almas

Cód. da Armadilha	Latitude	Longitude	Mês																																		
			Março		Abril		Maio		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Novembro		Dezembro		Janeiro		Fevereiro		Março		Abril								
			1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	24°	25°	26°	27°	28°	29°						
P1	860231.40	482477.640	0	1	1	1	3	2	3	3	2	0	2	0	1	1	3	4	6	0	11	11	4	1	1	1	1	1	1	2							
P2	860626.27	482444.270	1	1	1	1	1	6	10	1	1	1	0	0	2	1	2	2	1	0	3	0	1	1	0	0	1	0	0	1							
P3	860149.32	482459.520	0	5	4	5	1	4	0	0	2	0	0	0	2	1	1	1	0	0	3	6	13	1	0	1	0	1	0	0							
P4	860276.28	482749.150	0	5	21	5	6	4	5	2	1	1	0	1	10	8	7	5	1	2	3	0	4	5	1	2	1	2	1	0	1						
P5	860120.13	482621.540	0	0	0	0	2	4	5	0	3	0	0	2	6	3	12	3	4	0	9	2	5	12	0	3	1	3	1	2	1						
P6	860104.97	482403.450	6	4	1	4	4	11	4	0	4	2	0	0	3	10	11	7	11	0	12	3	9	15	0	0	1	0	1	1	0						
P7	860195.13	482246.760	0	2	4	2	0	6	5	2	4	0	0	0	1	3	3	2	2	1	4	1	4	2	0	0	1	0	1	0	0						
P8	860124.41	482240.480	0	2	3	3	5	3	6	1	4	0	1	6	8	2	6	1	3	0	2	6	5	4	0	0	0	0	0	2	1						
P9	860150.79	482344.720	0	1	2	1	0	2	10	4	3	4	1	0	5	5	8	4	5	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	2	1						
P10	860199.87	482559.780	0	5	3	5	2	3	2	1	3	1	0	0	1	1	4	9	3	2	0	2	2	1	0	0	1	1	1	1	2	1					
P11	860144.24	482364.590	0	1	0	1	3	2	11	0	2	5	1	0	23	18	7	5	5	1	3	4	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0					
P12	860132.41	482949.180	12	21	150	21	5	3	11	11	7	10	1	5	12	20	8	31	6	3	21	1	6	2	12	2	2	2	2	2	1	0					
P13	860107.50	482309.600	0	17	68	17	17	30	19	15	9	1	3	0	6	35	4	5	4	4	2	0	5	2	3	1	1	1	1	1	2	1					
P14	860055.39	482644.950	0	1	1	1	3	12	4	6	9	1	1	0	0	3	5	4	0	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P15	860177.40	482121.820	0	2	1	2	0	10	5	0	3	0	0	0	0	1	1	1	1	9	1	13	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
P16	860156.42	482040.220	1	98	0	98	2	3	8	6	0	0	0	2	7	4	4	3	4	0	5	1	6	1	0	0	1	0	1	0	2	2	1				
P17	860174.120	482230.020	0	0	12	0	3	6	4	7	5	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	2	2	1	0	1	0	1	1	1					
P18	860245.75	482400.620	0	5	0	5	0	7	1	1	3	1	1	1	5	13	6	3	1	4	3	17	3	1	0	2	0	2	2	2	1	0					
P19	860199.09	482375.200	0	1	6	1	4	3	3	4	1	2	3	2	5	3	2	6	2	0	2	2	5	3	1	0	1	0	1	0	1	0	2				
P20	860129.09	483512.290	0	11	17	11	14	8	32	22	11	7	4	0	9	14	25	17	12	12	21	6	6	9	2	2	2	2	2	0	2	0	2				
P21	860040.59	483144.650	0	0	1	0	2	1	7	3	2	2	0	0	0	2	1	1	2	0	0	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
P22	859946.08	482562.450	0	3	5	3	2	6	2	0	1	4	0	1	3	4	27	5	1	1	6	4	7	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0			
P23	860103.11	481955.890	0	3	0	3	0	22	16	7	5	0	0	1	0	1	0	1	0	2	3	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
P24	860104.07	481322.500	0	0	0	0	1	3	1	2	1	1	2	0	2	1	0	1	0	4	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
P25	860143.89	481633.490	0	3	3	3	7	5	2	1	2	2	0	1	0	1	2	3	1	9	54	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
P26	860262.50	482859.930	0	2	6	2	5	3	9	1	3	0	0	0	2	1	1	3	0	1	11	1	3	0	5	3	2	3	2	10	3	0	0	0			
P27	860264.26	483462.160	0	2	3	2	3	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	5	1	0	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
P28	860143.81	484121.530	0	0	2	0	0	6	7	3	5	1	0	0	0	2	0	2	1	2	6	1	2	3	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0		
P29	860024.86	483541.150	0	30	144	30	8	24	12	13	11	3	0	2	0	3	15	8	14	4	8	1	1	0	0	1	0	1	0	2	1	0	2	1	0		
P30	859961.17	482532.970	0	0	5	0	0	11	1	0	2	0	1	0	0	3	3	3	1	0	3	5	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
P31	860023.10	481531.190	0	0	0	0	0	2	3	2	1	1	1	1	1	2	0	2	0	2	1	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
P32	860134.125	481120.230	0	2	1	2	3	1	10	3	6	2	1	0	4	1	4	5	2	2	2	1	4	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	
P33	860245.16	481645.490	0	2	0	2	3	5	7	2	2	0	0	1	2	12	3	6	6	1	12	8	22	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
P34	860262.76	480687.520	0	0	1	0	0	5	1	1	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	
P35	860212.78	484395.160	0	0	6	0	0	1	8	0	2	0	0	0	0	2	3	4	2	1	1	2	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P36	860125.83	484447.40	0	6	30	6	1	4	4	5	3	1	0	0	2	4	4	7	3	3	12	0	1	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	
P37	860025.14	484193.550	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P38	859932.89	482464.770	1	0	0	0	0	8	2	0	0	0	0	0	1	0	0	2	4	0	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P39	859930.84	480935.530	0	0	2	0	1	5	2	1	0	0	0	0	0	5	8	4	3	39	5	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P40	860107.37	480707.170	0	0	2	0	0	6	0	0	1	0	0	0	0	5	1	2	2	0	4	1	3	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
P41	860301.45	481125.120	2	0	3	0	1	9	0	0	0	0	1	7	10	7	8	3	1	16	31	21	6	3	1	2	1	2	0	1	2	0	1	1	1	1	1
Total			24	238	509	238	112	259	242	133	135	62	25	27	135	193	204	196	124	68	295	111	198	104	43	23	22	23	22	31	35						
Média Psilidos/Armadilha			0,58537	5,8049	12,415	5,8049	2,7317	6,3171	5,9824	3,2439	3,2927	1,5122	0,6498	0,65854	3,29263	4,7073	4,9756	4,7095	3,0244	1,6585	7,1951	2,7073	4,8293	2,5365	1,0483	0,5649	0,5365	0,5649	0,5365	0,7561	0,8536						
D. Padrão Populacional			2,05978	15,77	32,6	3,5751	6,1265	6,0518	4,6632	2,7696	2,89594	0,8847	1,28843	4,4836	6,7291	6,0667	5,1491	3,166	2,3645	10,567	5,0762	5,0117	3,6896	2,0595	0,8278	0,70183	0,82783	0,70183	1,64955	1,3171							

Total Psilidos/Ponto	Média Psilidos/Coleta
68	2,34
40	1,37
51	1,75
104	3,88
83	2,86
125	4,31
52	1,79
75	2,59
63	2,17
57	1,97
102	3,52
390	13,45
273	9,41
60	2,07
52	1,79
245	8,14
50	1,72
96	3,21
15	0,5
230	8,65
30	1,03
90	3,1
69	2,27
22	0,76
101	3,48
87	3
27	0,93
46	1,59
336	11,59
42	1,49
26	0,9

ANEXO 1

PORTARIA Nº 317, DE 21 DE MAIO DE 2021

Institui o Programa Nacional de Prevenção e Controle à doença denominada Huanglongbing (HLB) - PNCHLB, e dá outras providências.

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso das atribuições que lhe conferem os arts. 21 e 63 do Anexo I do Decreto nº 10.253, de 20 de fevereiro de 2020, tendo em vista o disposto no Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934, no Decreto nº 5.759, de 17 de abril de 2006, no Decreto nº 5.741, de 30 de março de 2006, e o que consta do Processo nº 21000.019164/2019-07, resolve:

CAPÍTULO I

DAS DISPOSIÇÕES GERAIS

Art. 1º Instituir o Programa Nacional de Prevenção e Controle à doença denominada Huanglongbing (HLB) - PNCHLB, cujo agente etiológico é a praga *Candidatus Liberibacter spp.*, na forma desta Portaria.

Art. 2º O PNCHLB visa ao fortalecimento do sistema de produção agrícola de hospedeiros da praga, conforme lista oficial de Pragas Quarentenárias Presentes, estabelecendo os critérios e procedimentos para a prevenção e a contenção de *Candidatus Liberibacter spp.*

§1º Os critérios e procedimentos constantes desta Portaria constituem-se em padrão mínimo, os quais podem ser complementados pelo Órgão Estadual de Defesa Sanitária Vegetal - OEDSV da Unidade da Federação - UF.

§ 2º As medidas de prevenção e controle de Huanglongbing (HLB), em todos os imóveis públicos ou privados que possuam plantas hospedeiras da praga *Candidatus Liberibacter spp.*, constantes da lista oficial de pragas quarentenárias presentes, para fins comerciais ou não, situados em zona rural ou urbana, serão executadas conforme o disposto nesta Portaria.

Art. 3º O PNCHLB será coordenado pelo Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, e executado pelas Superintendências Federais de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em articulação com os Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEDSV.

Art. 4º Ficam instituídos, em todo o território nacional, na forma desta Portaria, os critérios e procedimentos para classificação e manutenção do status fitossanitário das Unidades da Federação - UF relativos à praga *Candidatus Liberibacter spp.*, bactéria causadora da doença denominada Huanglongbing (HLB), e respectivas medidas de prevenção e controle.

§ 1º Os status fitossanitários de que trata o *caput* são:

I - UF Sem Ocorrência;

II - UF Com Ocorrência.

§ 2º Considera-se UF Sem Ocorrência da praga *Candidatus Liberibacter* spp. aquela não relacionada na lista oficial de pragas quarentenárias presentes, desde que atendidos os critérios para a manutenção desse status, previstos nesta Portaria.

§ 3º Considera-se UF Com Ocorrência da praga *Candidatus Liberibacter* spp. aquela relacionada na lista oficial de pragas quarentenárias presentes.

CAPÍTULO II

PROCEDIMENTOS PARA MANUTENÇÃO DO STATUS FITOSSANITÁRIO DE UF SEM OCORRÊNCIA

Art. 5º A manutenção do reconhecimento pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, do status fitossanitário de UF Sem Ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp. fica condicionada às seguintes providências:

I - realização anual de levantamentos fitossanitários de detecção na UF;

II - cadastro georreferenciado de propriedades produtoras de citros;

III - monitoramento do inseto vetor *Diaphorina citri* em áreas de risco de introdução da praga, para verificar se ele é portador da bactéria; e

IV - controle do trânsito de material de propagação vegetal de plantas hospedeiras da praga.

Art. 6º Os levantamentos fitossanitários serão realizados em, no mínimo, dez por cento dos imóveis com produção comercial de cítricos e em todos os estabelecimentos com plantas cítricas fornecedoras de material de propagação, de maneira a se obter uma cobertura geográfica representativa da UF.

§ 1º Deverão ser inspecionadas no mínimo dez por cento das plantas da lavoura ou talhão, incluindo todas as plantas da bordadura.

§ 2º As plantas com sintomas suspeitos de HLB, detectadas durante os levantamentos a que se refere este artigo, serão identificadas, amostradas e as amostras enviadas a Laboratório da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários, para análises de diagnóstico fitossanitário.

§ 3º O envio de amostra de controle oficial para diagnóstico fitossanitário não se caracteriza como trânsito vegetal.

Art. 7º O OEDSV deverá realizar cadastramento georreferenciado de todos os imóveis de produção comercial de citros, viveiros e campos de plantas fornecedoras de material de propagação vegetal de hospedeiros da praga.

Art. 8º O OEDSV deverá elaborar Plano de Contingência visando ações imediatas a serem adotadas no caso da ocorrência da praga no âmbito de sua respectiva Unidade da Federação, o qual deverá conter, no mínimo, as seguintes ações:

I - vigilância fitossanitária por meio de levantamentos fitossanitários anuais de detecção da praga, conforme previsto no art. 6º;

II - monitoramento do inseto vetor *Diaphorina citri*, pelo OEDSV, em áreas de risco de introdução da praga para verificar se ele é portador da bactéria;

III - controle do trânsito de material de propagação vegetal de plantas hospedeiras da bactéria;

IV - medidas emergenciais de controle do vetor e da bactéria; e

V - cronograma de capacitação da equipe técnica para executar as ações previstas no Plano de Contingência.

§ 1º O OEDSV deverá apresentar à Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento o Plano de Contingência para aprovação, no prazo de cento e vinte dias após a entrada em vigor desta Portaria.

§ 2º A Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento analisará o Plano de Contingência e emitirá parecer pela sua aprovação ou desaprovação no prazo de trinta dias a contar de seu recebimento, informando a conclusão ao Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas.

§ 3º A implantação e execução do Plano de Contingência é obrigatória para a manutenção do status fitossanitário de UF Sem Ocorrência de *Candidatus Liberibacter spp.*

§ 4º O OEDSV deverá apresentar, no prazo máximo de 1 (um) ano após a publicação desta Portaria, os resultados das ações estabelecidas pelo Plano de Contingência.

Art. 9º A documentação referente às ações executadas pelo OEDSV deverá estar disponível à unidade de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Art. 10. A unidade de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento emitirá e encaminhará ao Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas parecer técnico conclusivo quanto ao cumprimento das ações de manutenção do status de UF Sem Ocorrência.

Parágrafo único. O Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas poderá fazer uso de outras informações técnicas, bem como solicitar ações complementares à Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a fim de subsidiar a manifestação oficial acerca da manutenção do reconhecimento do status fitossanitário de UF Sem Ocorrência.

Art. 11. Comprovada oficialmente a ocorrência da praga na UF, o OEDSV procederá a delimitação da área com ocorrência da praga, e implementará medidas estabelecidas no Plano de Contingência, informando os resultados à unidade de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Parágrafo único. Constatada a impossibilidade de manutenção do status de UF Sem Ocorrência, o Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas tomará as providências cabíveis para alteração do status fitossanitário.

CAPÍTULO III

PROCEDIMENTOS PARA PREVENÇÃO E CONTROLE EM UF COM OCORRÊNCIA

Seção I

Da delimitação das áreas de ocorrência

Art. 12. O OEEDSV delimitará e comunicará à Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento os municípios com ocorrência e sem ocorrência da praga, com base em informações técnicas da ocorrência do HLB.

Parágrafo único. Para delimitação dos municípios sem ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp, dentro de UF com ocorrência, o OEEDSV deverá realizar nesses municípios:

I - cadastramento georreferenciado de todos os imóveis de produção comercial de citros, viveiros e campos de plantas fornecedoras de material de propagação vegetal de hospedeiros da praga no prazo de cento e oitenta dias a contar da publicação desta Portaria;

II - levantamentos fitossanitários em no mínimo dez por cento dos imóveis com produção comercial de citros e em todos os estabelecimentos com plantas hospedeiras fornecedoras de material de propagação, de maneira a se obter uma cobertura geográfica representativa da UF; e

III - nos levantamentos deverão ser inspecionadas no mínimo dez por cento das plantas da lavoura ou talhão, incluindo todas as plantas da bordadura.

Art. 13. A documentação referente às ações executadas pelo OEEDSV deverá estar disponível à unidade de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Parágrafo único. A unidade de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento emitirá e encaminhará ao Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas parecer técnico conclusivo quanto ao cumprimento das ações de manutenção do status de UF Com Ocorrência, bem como da delimitação dos municípios com ocorrência e sem ocorrência da praga.

Seção II

Das medidas de prevenção e controle em estabelecimentos produtores de materiais de propagação

Art. 14. A produção de material de propagação vegetativo de plantas hospedeiras da praga, nos municípios com ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp, e nos municípios limítrofes, obedecerá aos seguintes critérios:

I - a manutenção de plantas básicas, plantas matrizes de borbulhas e borbulheiras, bem como a produção de mudas, somente será permitida em ambiente protegido por tela de malha com abertura de, no máximo, 0,87 x 0,30mm (zero vírgula oitenta e sete por zero vírgula trinta milímetros), considerando que a praga é disseminada pelo inseto vetor *Diaphorina citri*;

II - as plantas básicas, plantas matrizes de borbulhas e borbulheiras deverão ser anualmente indexadas para comprovação da ausência da bactéria causadora do HLB; e

III - plantas matrizes produtoras de sementes de porta enxertos de citros poderão ser mantidas em ambiente livre da proteção por tela antiafídica, devendo ser indexadas anualmente, para comprovação da ausência de *Candidatus Liberibacter* spp.

Art. 15. O OEEDSV fiscalizará os estabelecimentos produtores de materiais de propagação, no mínimo, a cada seis meses, enviando amostras de material suspeito para análise em laboratório da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários.

§ 1º As plantas básicas e plantas matrizes de borbulhas com resultado positivo serão eliminadas, ficando as demais sob quarentena, somente sendo liberadas após seis meses, mediante ausência de sintomas e teste molecular negativo para a presença da bactéria.

§ 2º Demais plantas de material de propagação vegetativo, quando comprovada a presença da bactéria todas as plantas do estabelecimento ou estrutura individualizada deverão ser eliminadas.

§ 3º No caso de laudo positivo em lote de mudas, todas as mudas do referido lote deverão ser eliminadas.

Seção III

Das medidas de prevenção e controle em pomares

Art. 16. Nos municípios com ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp, e nos municípios limítrofes, em todas as propriedades onde existam plantas hospedeiras, o produtor promoverá vistorias objetivando identificar e eliminar as plantas com sintomas de HLB.

§ 1º Caberá ao produtor eliminar, às suas expensas, as plantas hospedeiras com sintomas de HLB, mediante arranquio ou corte rente ao solo, com manejo para evitar brotações, não lhe cabendo qualquer tipo de indenização.

§ 2º A eliminação de plantas sintomáticas é obrigatória para os pomares de citros até o oitavo ano após o plantio, e facultativa para os demais, desde que realizado controle eficiente do vetor, conforme orientações da pesquisa.

§ 3º O produtor deverá apresentar dois relatórios anuais, comunicando ao OEDSV os resultados das vistorias referentes ao semestre imediatamente anterior, sendo o primeiro até 15 de julho e o segundo até 15 de janeiro.

§ 4º Caberá ao OEDSV padronizar o formato e o controle do recebimento do relatório apresentado pelo produtor.

§ 5º Para os efeitos desta Portaria considera-se produtor o proprietário, arrendatário ou ocupante do imóvel a qualquer título.

§ 6º Ficam dispensados das obrigações previstas neste artigo os pomares com idade igual ou superior a nove anos.

Art. 17. Nos municípios com ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp, e nos municípios limítrofes, em todas as propriedades onde existam plantas hospedeiras, o produtor deverá realizar monitoramento e controle do vetor da bactéria.

Parágrafo único. O monitoramento e controle deverá ser realizado de acordo com as recomendações técnicas estabelecidas pela pesquisa científica e comprovadas por meio de registros auditáveis.

Seção IV

Dos municípios sem ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp.

Art. 18. Nos municípios sem ocorrência de *Candidatus Liberibacter* spp., serão aplicadas as medidas previstas para UF sem ocorrência, estabelecidas no capítulo II, desta Portaria.

Art. 19. Para os municípios sem ocorrência de *Candidatus Liberibacter spp*, em UF com ocorrência, o OEEDSV deverá elaborar e apresentar Plano de Contingência nos termos previstos no art. 8º desta Portaria.

CAPÍTULO IV

DOS PROCEDIMENTOS PARA O TRÂNSITO INTERESTADUAL

Art. 20. O trânsito de frutos frescos de citros provenientes de UF Com Ocorrência *Candidatus Liberibacter spp*, oriundo de municípios com ocorrência da praga e aqueles limítrofes, destinados à UF Sem Ocorrência, deverá ser amparado por Permissão de Trânsito de Vegetais - PTV, baseado em Certificado Fitossanitário de Origem - CFO ou Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado - CFOC, com a seguinte Declaração Adicional (DA): "Os frutos foram submetidos a beneficiamento primário na origem para retirada de restos vegetais, qual seja, totalmente isentos de folhas e ramos de plantas cítricas."

Art. 21. O trânsito de material de propagação vegetativo de plantas hospedeiras de *Candidatus Liberibacter spp.*, proveniente de UF Sem Ocorrência, deverá ser amparado por Permissão de Trânsito de Vegetais - PTV com a seguinte Declaração Adicional (DA): "O material de propagação é originário de UF sem ocorrência de *Candidatus Liberibacter spp* ".

Art. 22. O trânsito de material de propagação vegetativo de plantas hospedeiras de *Candidatus Liberibacter spp.*, proveniente de UF com Ocorrência, oriundos de municípios sem ocorrência da praga, exceto aqueles limítrofes às áreas de ocorrência, deverá ser amparado por Permissão de Trânsito de Vegetais - PTV, baseado em Certificado Fitossanitário de Origem - CFO, ou Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado - CFOC, com a seguinte Declaração Adicional (DA): "O material de propagação é originário de município sem ocorrência de *Candidatus Liberibacter spp.*, de UF com ocorrência, e encontra-se livre da praga."

Art. 23. O trânsito de material de propagação vegetativo de plantas hospedeiras de *Candidatus Liberibacter spp.*, proveniente de UF com Ocorrência, de município com ocorrência da praga, e dos municípios limítrofes, deverá ser amparado por Permissão de Trânsito de Vegetais - PTV, baseado em CFO ou CFOC, com a seguinte Declaração Adicional (DA): "O material de propagação é originário de UF com ocorrência de *Candidatus Liberibacter spp*, foi produzido em ambiente protegido e encontra-se livre da praga".

Art. 24. O trânsito de material de propagação vegetativo de plantas hospedeiras de *Candidatus Liberibacter spp.*, quando passar por UF com ocorrência da praga deverá ser realizado em caminhão com carroceria fechada ou com tela antiafídica.

CAPÍTULO V

DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

Art. 25. Até o dia 31 de dezembro de cada ano, o OEEDSV deverá encaminhar à área de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento na respectiva Unidade da Federação, relatório anual, contendo o resultado das ações previstas nesta Portaria.

Parágrafo único. A unidade de sanidade vegetal da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento emitirá e encaminhará ao Departamento de

Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas parecer técnico conclusivo quanto ao cumprimento das ações previstas nesta Portaria.

Art. 26. A Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, na Unidade da Federação, deverá acompanhar a execução das ações previstas no PNCHLB, bem como a adoção de medidas corretivas.

Art. 27. Em UF com ocorrência de HLB, nos municípios com ocorrência da praga, e nos municípios limítrofes não será permitida a existência de imóveis de produção comercial de citros sem manejo do HLB.

§ 1º Para efeito desta Portaria, entende-se por imóveis de produção comercial de citros sem manejo do HLB aquele no qual não são aplicadas as medidas para controle da praga e do inseto vetor.

§ 2º O OEEDSV, quando identificar imóveis de produção comercial de citros sem manejo do HLB, deverá notificar o produtor para que tome as medidas preconizadas de controle ou eliminação de todas as plantas.

§ 3º O OEEDSV, quando identificar plantas com sintomas de HLB em imóveis com produção de citros sem finalidade comercial ou em condições de quintal, notificará o produtor para que providencie a eliminação das plantas sintomáticas.

Art. 28. O não cumprimento do disposto nesta Portaria acarretará ao infrator as sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 29. Esta Portaria entra em vigor no dia 01 de junho de 2021.

JOSÉ GUILHERME TOLLSTADIUS LEAL

Anexo 2

Instrução Normativa nº 53 de 16/10/2008 / MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (D.O.U. 17/10/2008)

Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEEDSVs. Aprovar os critérios e procedimentos para a realização, por parte dos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEEDSVs das Instâncias Intermediárias integrantes do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, dos levantamentos de ocorrência da praga denominada Huanglongbing (HLB) – Greening, que tem como agente etiológico a bactéria *Candidatus Liberibacter sp.*, em plantas hospedeiras constantes da lista oficial de pragas quarentenárias presentes, visando à delimitação da extensão das áreas afetadas e à adoção de medidas de prevenção e erradicação.

INSTRUÇÃO NORMATIVA No- 53, DE 16 DE OUTUBRO DE 2008 O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no Decreto nº 5.741, de 30 de março de 2006, no Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934, e o que consta dos Processos nº 21000.011498/2005-29 e nº 21028.006791/2005-66, resolve:

Art. 1º Aprovar os critérios e procedimentos para a realização, por parte dos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal - OEEDSVs das Instâncias Intermediárias integrantes

do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, dos levantamentos de ocorrência da praga denominada Huanglongbing (HLB) – Greening, que tem como agente etiológico a bactéria *Candidatus Liberibacter sp.*, em plantas hospedeiras constantes da lista oficial de pragas quarentenárias presentes, visando à delimitação da extensão das áreas afetadas e à adoção de medidas de prevenção e erradicação.

Art. 2º O OEEDSV delimitará e oficializará, no âmbito de sua competência, as áreas citadas no art. 1º, com base em informações técnicas da ocorrência da praga.

§ 1º O OEEDSV deverá comunicar, semestralmente, ao Serviço de Sanidade Agropecuária na Superintendência Federal de Agricultura - SFA a delimitação da área com ocorrência da praga.

§ 2º Nas Unidades da Federação - UFs sem ocorrência da praga, o OEEDSV deverá realizar levantamentos semestrais de detecção, encaminhando relatório, por via impressa, ao Serviço de Sanidade Agropecuária na SFA, que encaminhará cópia do relatório à Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA.

Art. 3º A produção de material propagativo de citros, nas áreas onde for constatada a ocorrência do HLB, obedecerá às normas estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal e aos seguintes critérios: I - a manutenção de plantas básicas, plantas matrizes e borbulheiras, bem como a produção de mudas, somente será permitida em ambiente protegido por tela de malha com abertura de, no máximo, 0,87 x 0,30mm (zero vírgula oitenta e sete por zero vírgula trinta milímetros), considerando que a praga é disseminada pelo inseto vetor *Diaphorina citri*; II - as plantas básicas e plantas matrizes deverão ser anualmente indexadas para comprovação da ausência da bactéria causadora do HLB.

Art. 4º O OEEDSV fiscalizará os viveiros e borbulheiras, no máximo, a cada seis meses, enviando amostras de material suspeito para análise em laboratório da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, que emitirá laudo conclusivo.

§ 1º Quando comprovada a presença da bactéria, todas as plantas básicas, matrizes ou de borbulheiras deverão ser eliminadas.

§ 2º Em viveiro, será eliminado o lote de produção no qual for confirmada, por laudo laboratorial oficial, a presença da bactéria, sendo os demais lotes liberados somente após quatro meses, se nesse período não for constatada, em inspeções mensais, a ocorrência de material com sintoma, o qual deverá ser submetido à análise laboratorial oficial para confirmação da presença da bactéria.

Art. 5º O trânsito de material propagativo de plantas hospedeiras oriundas de UF onde for constatada a praga obedecerá à legislação de certificação fitossanitária de origem e permissão de trânsito de vegetais. Parágrafo único. O material propagativo apreendido pela fiscalização de defesa sanitária vegetal, em desacordo com o previsto nesta Instrução Normativa, será sumariamente destruído, não cabendo ao infrator qualquer tipo de indenização, sem prejuízo das demais sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 6º A Instância Intermediária do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária poderá, em caráter de emergência e no âmbito de sua jurisdição, proibir a produção, o comércio e o trânsito de material propagativo e de plantas de murta (*Murraya paniculata*) nos municípios de ocorrência da praga.

Art. 7º Nas áreas delimitadas com ocorrência da praga, em todas as propriedades onde existam plantas hospedeiras, o proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título promoverá obrigatoriamente, no mínimo, vistorias trimestrais, objetivando identificar e eliminar as plantas com sintomas de HLB.

§ 1º O proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento deverá apresentar dois relatórios anuais, comunicando ao OEEDSV os resultados das vistorias referentes ao semestre imediatamente anterior, sendo o primeiro até 15 de julho e o segundo até 15 de janeiro.

§ 2º Caberá ao OEEDSV padronizar o formato e o controle do recebimento do relatório apresentado pelo proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento.

Art. 8º Caberá ao proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento eliminar, às suas expensas, as plantas hospedeiras contaminadas, mediante arranquio ou corte rente ao solo, com manejo para evitar brotações, não lhe cabendo qualquer tipo de indenização. Parágrafo único. O não cumprimento do disposto no caput deste artigo acarretará ao infrator as sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 9º O OEEDSV fiscalizará as propriedades produtoras de citros objetivando identificar a existência de plantas contaminadas com HLB.

§ 1º Na inspeção, por meio de exame visual oficial, sendo detectadas plantas com sintomas de HLB, as mesmas serão identificadas e será coletada amostra composta do material suspeito, referente a 10% do total de plantas identificadas em cada Unidade de Produção - UP, para exame laboratorial oficial, observando-se o seguinte:

I - Se o resultado laboratorial da amostra composta for positivo e o percentual de plantas com sintomas de HLB for inferior ou igual a 28%, o OEEDSV providenciará a eliminação das plantas sintomáticas identificadas; ou

II - Se o resultado laboratorial da amostra composta for positivo e o percentual de plantas com sintomas de HLB for superior a 28%, o OEEDSV providenciará a eliminação de todas as plantas da UP.

§ 2º Entende-se por exame visual oficial a inspeção de plantas para determinar se existem sintomas da praga visando ao cumprimento das regulamentações fitossanitárias.

§ 3º Para efeito do disposto neste artigo, entende-se por Unidade de Produção uma área contínua, de tamanho variável e identificada por um ponto georreferenciado, plantada com a mesma espécie, estágio fisiológico, sob os mesmos tratos culturais e controle fitossanitário.

§ 4º O ônus desta operação será do proprietário, arrendatário ou ocupante, sem prejuízo das demais sanções estabelecidas pela legislação estadual e federal de defesa sanitária vegetal.

Art. 10. Caso o OEDSV, em fiscalizações subseqüentes, constate a presença de plantas com sintomas do HLB, serão adotadas as medidas previstas no art. 9º.

§ 1º e incisos, ficando o infrator sujeito às penas descritas no art. 61, da Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998.

Art. 11. Ao OEDSV caberá implementar os trabalhos de fiscalização e inspeção fitossanitária, objetivando dar cumprimento ao estabelecido nesta Instrução Normativa.

Art. 12. A Instância Intermediária do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária poderá estabelecer procedimentos complementares visando ao controle da praga.

Art. 13. O OEDSV encaminhará ao Serviço de Sanidade Agropecuária na SFA, a cada seis meses, relatório dos trabalhos realizados. Parágrafo único. O Serviço de Sanidade Agropecuária na SFA deverá encaminhar à SDA cópia dos relatórios recebidos.

Art. 14. Os projetos de pesquisa envolvendo o HLB deverão ser encaminhados à SDA para autorização.

Art. 15. Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 16. Fica revogada a **Instrução Normativa nº 32, de 29 de setembro de 2006**.

REINHOLD STEPHANES

Anexo 3

PORTARIA Nº 243/2011

Dispõe sobre a produção em viveiro telado; a entrada, o comércio e o trânsito de mudas, porta-enxerto e borbulhas de plantas cítricas no Estado da Bahia e dá outras providências

O DIRETOR GERAL DA AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DA BAHIA – ADAB, no uso de suas atribuições legais, que lhe conferem os arts. 1º da Lei nº 7.439, de 18/01/99, e 23, I, b do regimento, aprovado pelo Decreto nº 9.023, de 15/03/04, considerando, a importância sócio-econômica da citricultura para o Estado da Bahia; a necessidade de proteger as áreas de produção de citros, ainda sem a ocorrência da praga Huanglongbing (HLB), também conhecida como Greening, no Estado da Bahia; que a produção de material propagativo em ambiente protegido (telado) é de extrema importância para a manutenção de áreas livres de Huanglongbing / HLB, (*Candidatus Liberibacter* sp), Cancro cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*) e Morte súbita (agente etiológico indefinido); que a produção de material propagativo em ambiente protegido (telado) é relevante estratégia para conter a disseminação de pragas presentes e extremamente danosas, a exemplo da CVC (*Xylella fastidiosa*); que é dever do Governo do Estado, por meio da Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia, proteger e manter livre de pragas a agricultura praticada no território baiano; o que estabelece o Decreto Federal nº 24.114, de 12 de abril de 1934 e a Lei Estadual de Defesa Sanitária Vegetal nº 10.434 de 22 de dezembro de 2006.

RESOLVE:

Art. 1º Torna obrigatório o cadastramento na ADAB, de todas as unidades de produção (UP), a saber: os viveiros de produção de porta-enxertos, dos viveiros de produção de mudas, das borbulheiras e das plantas matrizes de citros.

Art. 2º Para o cadastramento das UP's, o produtor deverá encaminhar, anualmente à ADAB, solicitação contendo os seguintes documentos:

- I. Inscrição do produtor no registro nacional de sementes e mudas (RENASEM),
- II. Cadastramento da UP no RENASEM,
- III. Anotação de responsabilidade técnica (ART),
- IV. Croqui da área, quantidade e variedades utilizadas no período e a ficha de inscrição da UP.

Art. 3º A partir de janeiro de 2013, as sementeiras para a produção de porta-enxertos de citros, visando ao comércio de mudas, somente poderá ser feita em ambiente telado cuja malha tenha abertura máxima de 0,87mm x 0,30 mm e o teto seja coberto por plástico ou vidro;

Art. 4º A partir de 1º de janeiro de 2014 a produção de mudas cítricas e borbulhas somente poderão ser instaladas em ambiente telado cuja malha tenha abertura máxima de 0,87mm x 0,30 mm e o teto coberto por plástico ou vidro; Parágrafo único. Os porta-enxertos e borbulhas utilizados nos ambientes telados a que se refere o caput deste artigo deverão obrigatoriamente, ser provenientes de instalações teladas descritas anteriormente.

Art. 5º. A partir de 01 de janeiro de 2014 fica proibido, em todo território baiano, o trânsito e o comércio de porta-enxertos, borbulhas e mudas cítricas produzidas em ambiente sem proteção de tela com abertura máxima de 0,87m x 0,30mm.

Art. 6º O trânsito e o comércio interno do material de propagação produzido no território baiano serão permitidos, desde que acompanhado de permissão de trânsito de vegetais (PTV), fundamentada em certificado fitossanitário de origem (CFO).

Art. 7º Fica proibido o ingresso, o trânsito e o comércio de material propagativo de citros e plantas de murta (*Murraya paniculata*) procedente dos Estados da Unidade da Federação (UF) com ocorrência de HLB.

Art. 8º O ingresso de material propagativo do gênero Citros no Estado da Bahia, procedentes de outras Unidades da Federação, até o ano de 2014, dependerá de autorização da ADAB, mediante Análise de Risco de Pragas (ARP). O transporte do referido material deverá ser em veículo de carroceria fechada, lacrada na origem.

Art. 9º O descumprimento do disposto nesta Portaria sujeita o infrator às sanções estabelecidas pelas legislações estadual e federal de defesa sanitária vegetal, sem prejuízo das sanções civis e penais cabíveis.

Art. 10º. Esta portaria entra em vigor na data de sua publicação.

Paulo Emilio Torres Diretor Geral