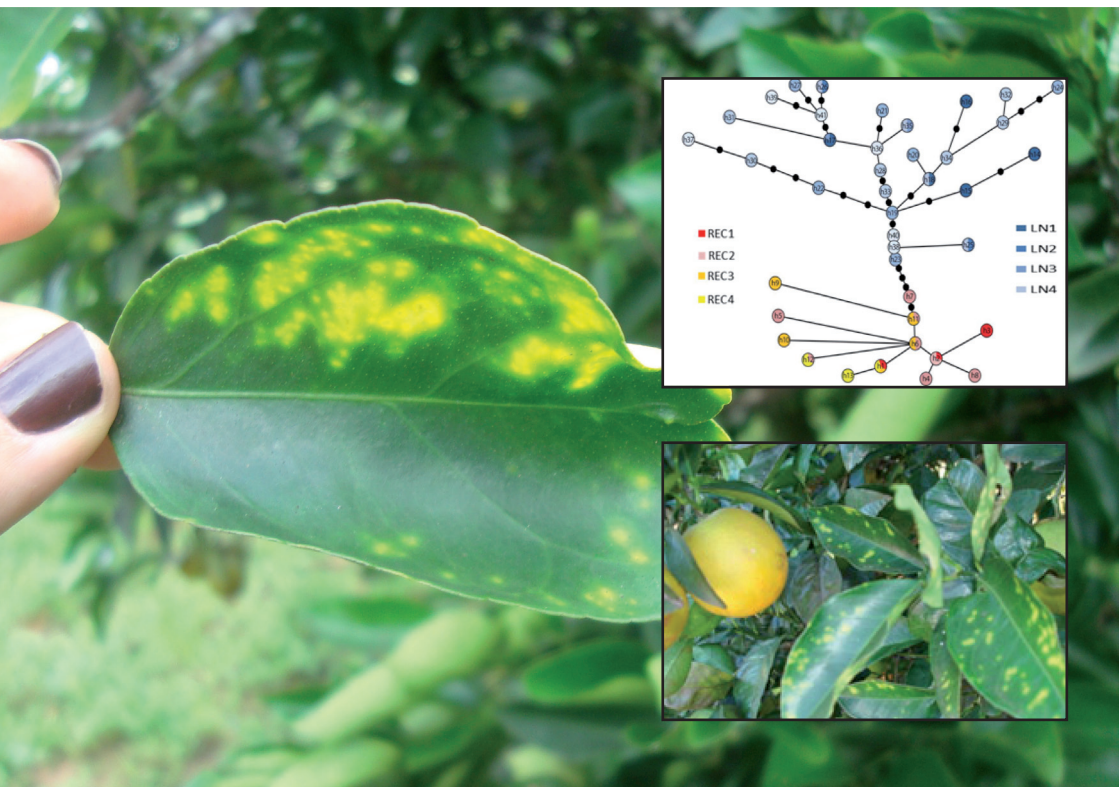


## Rede de Pesquisa para o Estudo do Patossistema da clorose variegada dos citros no Estado da Bahia: resultados de quatro anos de avaliações



ISSN 1809-5003

Outubro, 2017

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 85***

## **Rede de Pesquisa para o Estudo do Patossistema da clorose variegada dos citros no Estado da Bahia: resultados de quatro anos de avaliações**

*Eliozéas Vicente de Almeida  
Alessandra Selbach Schnadelbach  
Antonio Souza do Nascimento  
Cristiane de Jesus Barbosa  
Emanuel Felipe Medeiros Abreu  
Francisco Ferraz Laranjeira  
Hermes Peixoto Santos Filho  
Indiara Pereira da Silva  
Joelito de Oliveira Rezende  
José Mário Carvalho de Oliveira  
Luciana Veiga Barbosa  
Marcelo Pedreira de Miranda  
Sílvia Helena Galvão de Miranda  
Suely Xavier de Brito Silva  
Vinicius Oliveira Casais  
Wilson Sampaio de Azevedo Filho*

Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Cruz das Almas, BA  
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

### **Embrapa Mandioca e Fruticultura**

Rua Embrapa - s/n, Caixa Postal 007  
44380-000, Cruz das Almas, Ba  
Fone: (75) 3312-8048  
Fax: (75) 3312-8097  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

### **Unidade responsável pelo conteúdo e edição**

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Comitê de publicações da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Presidente: *Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa*

Secretária-executiva: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Membros: *Áurea Fabiana Apolinário Albuquerque Gerum*

*Cícero Cartaxo de Lucena*

*Clóvis Oliveira de Almeida*

*Eliseth de Souza Viana*

*Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki*

*Leandro de Souza Rocha*

*Marcela da Silva Nascimento*

*Tullio Raphael Pereira de Pádua*

Revisão de texto: *Adriana Villar Tullio Marinho*

Normalização bibliográfica: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Editoração: *Anapaula Rosário Lopes e Lindauline Moreno*

Fotos da capa: *Cristiane de Jesus Barbosa*

### **1ª edição**

Versão on-line (2017).

#### **Todos os direitos reservados**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Mandioca e Fruticultura

---

Rede de Pesquisa para o Estudo do Patossistema da clorose variegada dos citros no Estado da Bahia: resultados de quatro anos de avaliações / Eliozéas Vicente de Almeida ... [et. al.]. – Cruz das Almas, BA : Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017.

27 p. : il. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-5003; 85).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. Fruta cítrica. 2. Doença de planta. I. Almeida, Eliozéas Vicente de. II. Schnadelbach, Alessandra Selbach. III. Nascimento, Antonio Souza do. IV. Barbosa, Cristiane de Jesus. V. Abreu, Emanuel Felipe Medeiros. VI. Laranjeira, Francisco Ferraz. VII. Santos Filho, Hermes Peixoto. VIII. Silva, Indiará Pereira da. IX. Rezende, Joelito de Oliveira. X. Oliveira, José Mário Carvalho de. XI. Barbosa, Luciana Veiga. XII. Miranda, Marcelo Pedreira de. XIII. Miranda, Sílvia Helena Galvão de. XIV. Silva, Suely Xavier de Brito. XV. Casais, Vinicius Oliveira. XVI. Azevedo Filho, Wilson Sampaio de. XVII. Título. XVIII. Série.

CDD 634.304

© Embrapa 2017

# Sumário

Resumo .....	5
Abstract.....	7
Introdução.....	9
Material e Métodos.....	11
Determinação da estrutura genética de populações de <i>X. fastidiosa</i> na Bahia por meio de marcadores SSR .....	12
Estudos epidemiológicos da CVC na citricultura do Recôncavo Sul...	13
Manejo da CVC em sistema de plantio convencional e em sistema de porta-enxerto e formação da muda em local definitivo ...	16
Estimativa dos prejuízos econômicos da CVC no Estado da Bahia ...	17
Resultados e Discussão.....	18
Determinação da estrutura genética de populações de <i>X. fastidiosa</i> na Bahia por meio de marcadores SSR .....	18
Estudos epidemiológicos da CVC na citricultura do Recôncavo Sul...	19
Manejo da CVC em sistema de plantio convencional, em sistema de porta-enxerto e formação da muda em local definitivo ...	22
Atividade: Estimativa dos prejuízos econômicos da CVC no Estado da Bahia .....	23
Conclusões.....	24
Agradecimentos .....	25
Referências .....	25



# Rede de Pesquisa para o Estudo do Patossistema da clorose variegada dos citros no Estado da Bahia: resultados de quatro anos de avaliações

---

*Eliozéas Vicente de Almeida*<sup>1</sup>  
*Alessandra Selbach Schnadelbach*<sup>3</sup>  
*Antonio Souza do Nascimento*<sup>2</sup>  
*Cristiane de Jesus Barbosa*<sup>2</sup>  
*Emanuel Felipe Medeiros Abreu*<sup>2</sup>  
*Francisco Ferraz Laranjeira*<sup>2</sup>  
*Hermes Peixoto Santos Filho*<sup>2</sup>  
*Indiara Pereira da Silva*<sup>4</sup>  
*Joelito de Oliveira Rezende*<sup>4</sup>  
*José Mário Carvalho de Oliveira*<sup>5</sup>  
*Luciana Veiga Barbosa*<sup>3</sup>  
*Marcelo Pedreira de Miranda*<sup>6</sup>  
*Sílvia Helena Galvão de Miranda*<sup>7</sup>  
*Suely Xavier de Brito Silva*<sup>5</sup>  
*Vinicius Oliveira Casais*<sup>8</sup>  
*Wilson Sampaio de Azevedo Filho*<sup>9</sup>

## RESUMO

A Bahia ocupa o segundo lugar na produção de citros do país, empregando cerca de 100 mil trabalhadores na sua cadeia produtiva. Cabe destacar que a citricultura baiana encontra-se em franca expansão, com a abertura de novas fronteiras de plantio. O Estado é reconhecido como área livre de pragas importantes, como o *huanglongbing* dos citros (HLB). Não obstante, é área de ocorrência da clorose variegada dos citros (CVC), causada pela bactéria *Xylella fastidiosa subsp.* pouca veiculada por cigarrinhas, que tem sido relatada como o fator mais limitante à cultura no Litoral Norte e no Recôncavo Sul, principais regiões

---

<sup>1</sup>Secretaria de Desenvolvimento Rural do Estado da Bahia.

<sup>2</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

<sup>3</sup>Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia.

<sup>4</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

<sup>5</sup>Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia.

<sup>6</sup>Fundo de Defesa da Citricultura.

<sup>7</sup>Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

<sup>8</sup>Instituto Federal Baiano.

<sup>9</sup>Universidade Federal de São Carlos.

produtoras do Estado. Este Boletim de Pesquisa apresenta os resultados gerados pelo projeto “Rede de pesquisa para o estudo do patossistema da CVC dos citros na Bahia, seus danos econômicos e desenvolvimento de tecnologias de manejo para as condições de cultivo do estado, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, no período de 2012 a 2016. O objetivo do projeto foi obter informações para as condições do Estado da Bahia, sobre a diversidade genética e a epidemiologia do agente da CVC, do comportamento da doença no sistema de plantio da muda em local definitivo que ainda é adotado na região do Litoral Norte do Estado e dos danos econômicos causados pela doença para a cadeia produtiva de citros. Para tanto, foi adotada uma abordagem interdisciplinar, com a utilização de ferramentas biotecnológicas, fitotécnicas e econômicas, reunindo as *expertises* de pesquisadores e técnicos, estaduais e do Brasil, numa rede de pesquisa composta por Secretaria de Desenvolvimento Rural da Bahia (SDR), Centro Tecnológico da Agropecuária da Bahia (CETAB-SEAGRI), Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (IB-UFBA), Embrapa Mandioca e Fruticultura, Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), Universidade de São Carlos (UFSCAR) e Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP). Os principais resultados obtidos neste projeto foram a determinação da elevada diversidade genética das populações do agente causal da CVC no Estado da Bahia, que se agruparam geograficamente no Litoral Norte e no Recôncavo Sul. Observou-se a maior incidência da CVC no Litoral Norte, quando comparada à do Recôncavo Sul. A avaliação epidemiológica mostrou que o padrão espacial da CVC nos pomares do Estado é agregado e que não há risco de dispersão associado ao material de propagação proveniente das plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Verificou-se que o boldo, *Vernonia condensata*, tem potencial como planta armadilha para o manejo integrado das cigarrinhas de xilema no pomar de citros. O prejuízo potencial direto da CVC para os pomares de laranja do Estado pode vir a superar 207 milhões de reais, considerando uma taxa de expansão da doença de 0,99% para os próximos 10 anos. Estabeleceram-se as condições experimentais para determinar o comportamento da CVC no sistema de plantio da muda em local definitivo adotado no Estado.

# Research network for Citrus Variegated Chlorosis pathosystem study in Bahia state, Brazil: results of four years of assessments

---

## ABSTRACT

The state of Bahia is the second larger producer of citrus in the country. Around 100 thousand workers are employed in its productive chain. It is important to emphasize that the citriculture of Bahia is thriving and it is opening new agricultural frontiers. The state is also recognized as a free area for relevant diseases like the citrus *Huanglongbing* (HLB). Nevertheless, it is an area of occurrence of the Citrus Variegated Chlorosis (CVC), caused by the bacterium *Xylella fastidiosa* subsp. *Pauca*, which is disseminated by leafhoppers. This disease has been considered as the most limiting factor to the citriculture in Litoral Norte and Recôncavo Sul, the main producing areas in the state of Bahia. This Research Bulletin presents the results generated by the Project RESEARCH NETWORK FOR CITRUS VARIEGATED CHLOROSIS PATHOSYSTEM STUDY IN BAHIA, ITS ECONOMIC DAMAGE AND MANAGEMENT TECHNOLOGY DEVELOPMENT FOR CITRUS GROWING CONDITIONS IN THE STATE, funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB in the 2012-2106 period. The objective of this project was to obtain information about the genetic diversity and the epidemiology of the CVC agent specific to the growing conditions in the state of Bahia, the disease's behavior in the planting system, still adopted in



Litoral Norte, of cultivating young plants later moved to a definitive place, and about the economic damages caused by the disease in the citrus productive chain. In order to do so, an interdisciplinary approach, utilizing biotechnological, phytotechnical and economic tools was adopted. The expertises of technicians and researchers were gathered in a research network composed by Secretaria de Desenvolvimento Rural da Bahia (SDR), Centro Tecnológico da Agropecuária da Bahia (CETAB-SEAGRI), Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (IB-UFBA), Embrapa Mandioca e Fruticultura, Agencia Estadual de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Fundo Nacional de Citricultura (Fundecitrus), Universidade de São Carlos (UCS) and Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ). The main results obtained in this Project were: the detection of high genetic diversity in populations of the CVC agent in Bahia, which were geographically grouped in Litoral Norte and Recôncavo Sul; a higher incidence of CVC in the Litoral Norte region, when compared to Recôncavo Sul; the disease's spatial pattern in the state's orchards and the inexistence of risk of dispersion associated with the propagation material from the mother plants of citrus from the Banco Ativo de Germoplasma (Active Germplasm Bank) of Embrapa Mandioca e Fruticultura. It was also verified that the boldo, *Vernonia condensata*, has potential as a trap plant for the integrated management of xylem leafhoppers in citrus orchards. The potential direct loss caused by the CVC in the state's orchards can be bigger than 207 million of reais, considering a disease expansion rate of 0,99% for the next 10 years. Furthermore, experimental conditions were established in order to determine the behavior of CVC in a plantation system of young plants in a definitive place adopted in the state.

## INTRODUÇÃO

A Bahia é o segundo maior estado produtor de citros do Brasil (IBGE, 2016). Essa produção é concentrada nas regiões Litoral Norte e Recôncavo Sul, que são responsáveis pelo abastecimento do mercado. Vem ocorrendo a abertura de novas fronteiras para o plantio na Chapada Diamantina, no Oeste e no Vale do São Francisco. A clorose variegada dos citros (CVC) limita a produção e o comércio dos frutos. Já afetou mais de um terço dos 200 milhões de pés de laranja do Estado de São Paulo. Na Bahia, nenhum estudo havia sido realizado até o momento para inferir sobre a produção e os impactos econômicos da CVC na citricultura. A falta dessa informação dificulta o manejo da doença no estado, bem como a atuação governamental no sentido de conter a disseminação da mesma. Nesse sentido, é importante estimar os impactos econômicos decorrentes da disseminação da CVC na Bahia.

A CVC é uma doença causada pela bactéria *Xylella fastidiosa subsp. Pauca*, que foi constatada pela primeira vez no Brasil em 1987, em pomares de Colina, SP (DE NEGRI, 1990). Está restrita ao xilema das plantas afetadas. Os principais sintomas observados são clorose nas folhas maduras das copas, as quais se apresentam com pontuações circulares e amareladas em sua face superior e, na face inferior, apresentam lesões de cor palha, às vezes necrosadas. Com o agravamento da doença, os frutos ficam queimados pelo sol e com tamanho reduzido, amarelado e endurecidos, com maturação precoce. Nesse estágio, são imprestáveis para o comércio (ROSSETTI; DE NEGRI, 2011).

A CVC é transmitida por cigarrinhas e material vegetativo infectado, e não existe relato de transmissão por instrumentos cortantes ou pela semente (ROSSETTI; DE NEGRI, 2011). Entre os principais agentes transmissores de *X. fastidiosa*, destacam-se as cigarrinhas, que pertencem à ordem Hemiptera, tendo como principal família as *Cicadellidae*. As cigarrinhas da subfamília *Cicadellinae Dilobopterus costalimai* Young, *Acrogonia citrina* Cavichioli & Marucci, *Oncometopia facialis* Signoret e *Macugonalia leucomelas* Walker são algumas das

principais espécies que transmitem a bactéria para plantas cítricas sadias após sua aquisição, durante a alimentação em plantas doentes (LOPES et al., 1996, ROBERTO et al., 1996). Na Bahia, somente foram realizados levantamentos de cigarrinhas possíveis vetoras da CVC, em três propriedades no município de Rio Real, Litoral Norte da Bahia (MIRANDA et al., 2009). Os resultados obtidos para o Litoral Norte da Bahia apontaram a necessidade de que estudos semelhantes sejam desenvolvidos nas outras regiões produtoras, principalmente o Recôncavo Sul, onde a doença foi detectada mais recentemente.

Acredita-se que a variação na severidade de sintomas da CVC em campo possa estar influenciada pela presença de diferentes linhagens da bactéria. Marcadores moleculares têm sido empregados com sucesso em estudos de variabilidade genética e caracterização ecológica e epidemiológica de linhagens de *X. fastidiosa* de outros estados brasileiros (ROSATO et al., 1998; COLLETA-FILHO et al., 2011; MEHTA et al., 2001). No entanto, estudos de linhagens ocorrentes na Bahia eram inexistentes. Avanços na compreensão da *X. fastidiosa* em nível de estrutura populacional e diversidade genética serão de grande ajuda para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo local da doença.

O manejo da CVC deve ser realizado mediante a integração de diversas ações (SANTOS FILHO et al., 2010), sendo relevante utilizar mudas sadias, certificadas, adquiridas em viveiros credenciados, protegidos com telas antiáfídeos. Recomenda-se também a erradicação ou a eliminação de plantas jovens severamente afetadas e a poda dos ramos com sintomas. Para o controle dos insetos, o que se tem feito é o monitoramento das cigarrinhas e o controle químico com inseticidas sistêmicos (YAMAMOTO et al., 2002).

Um dos grandes desafios atuais para o manejo da CVC na Bahia é a preferência dos produtores em estabelecer o plantio da muda no local definitivo na formação dos novos pomares, o que implica num maior risco de contaminação precoce das mudas com a bactéria (BRITO et al., 2006). Estudos devem ser realizados para obter informações sobre o manejo da doença nessas condições.

Estudos anteriores mostraram que a CVC apresentou maior incidência no Estado da Bahia, nos municípios que fazem fronteira com o

Estado de Sergipe. A presença e a disseminação da CVC nessa região foram relacionadas ao manejo inadequado de viveiros, ao uso massivo de variedade copa suscetível, extrema concentração de pomares de laranja doce em municípios de alta incidência e ausência de medidas específicas de controle da doença (LARANJEIRA et al., 2008). Entretanto, pouco se sabe sobre a epidemiologia da doença no Recôncavo Sul do Estado e informações devem ser obtidas para melhor conduzir o manejo da mesma nessa região. Muitos estudos epidemiológicos sobre a CVC nas regiões citrícolas de São Paulo permitiram conhecer melhor esse patossistema, determinar as épocas mais favoráveis à infecção e as diferenças no padrão espacial e temporal da doença em cada região (LARANJEIRA et al., 2003ab, 2004).

Este Boletim de Pesquisa apresenta os resultados gerados pelo Projeto “Rede de pesquisa para o estudo do patossistema da CVC na Bahia, seus danos econômicos e desenvolvimento de tecnologias de manejo para as condições de cultivo do estado”, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, no período de 2012 a 2106. O objetivo do projeto foi obter informações para as condições do Estado da Bahia sobre a diversidade genética e a epidemiologia do agente da CVC, do comportamento da doença no sistema de plantio da muda em local definitivo ainda adotado no Estado e dos danos econômicos causados pela doença para a cadeia produtiva de citros.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução deste projeto, foram utilizadas ferramentas biotecnológicas, fitotécnicas e econômicas, reunindo as *expertises* de pesquisadores em uma Rede Institucional composta pela Secretaria de Desenvolvimento Rural da Bahia (SDR), Centro Tecnológico da Agropecuária da Bahia (CETAB-SEAGRI), Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (IB-UFBA), Embrapa Mandioca e Fruticultura, Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), Universidade de São Carlos (UCS) e Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ).

## **Determinação da estrutura genética de populações de *X. fastidiosa* na Bahia por meio de marcadores SSR**

Foram utilizadas plantas de pomares de laranja doce com sintomas da CVC (CVC) presentes em duas das principais regiões produtoras de citros do Estado da Bahia – Litoral Norte (LIT) e Recôncavo Sul (REC) – caracterizadas como de clima tropical quente e úmido. Na região do Litoral Norte, foram selecionados pomares nos municípios de Itapicuru, LIT1; Inhambupe, LIT2; Rio Real, LIT3 e Jandaíra, LIT4. Na região do Recôncavo Sul, os pomares foram selecionados em Muritiba, REC1 e REC3; Governador Mangabeira, REC2 e Castro Alves, REC4. Todos os pomares selecionados estavam formados por plantas de laranja doce ‘Pêra-D6’ sobre limão Cravo. De cada pomar, foram selecionadas cerca de dez plantas com sintomas característicos de CVC. Cada planta foi considerada como uma fonte, da qual se coletou uma amostra constituída de dez folhas com sintomas, o que totalizou 41 amostras por região. Para comparação com populações da bactéria presente em São Paulo, também foram utilizadas dez amostras de DNA de *X. fastidiosa* subsp. pauca fornecidas pela Clínica Fitopatológica do Instituto Agrônomo de Campinas. O DNA de cada amostra foi extraído segundo o protocolo de DELLAPORTA et al. (1983). A comprovação da presença da bactéria nas amostras foi realizada por meio da PCR, com uso dos iniciadores diagnósticos, RST31 e RST33 (MINSAVAGE et al., 1994). Para avaliar a diversidade genética, foram utilizados os iniciadores OSSR9, OSSR17, CSSR4, CSSR12, CSSR20 e ASSR20, já utilizados para a caracterização de polimorfismos em *X. fastidiosa* (LIN et al., 2005). A amplificação via PCR foi realizada conforme Lin et al. (2005). As análises de diversidade genética foram realizadas inter e intrapopulações para *X. fastidiosa* das duas regiões estudadas. Cada pomar selecionado foi considerado uma população. O programa GenAlex 6.2 foi utilizado para a determinação da frequência de loci polimórficos e o número de alelos exclusivos, além de gerar a matriz de distância baseada na distância e na identidade genética de Nei (NEI, 1978). A análise molecular de variância (ANOVA) também foi feita como Gen Alex 6.2, com auxílio do programa Arlequin 3.5.

O índice de Stoddart & Taylor, que dá maior peso a genótipos mais frequentes, e o índice de Hills, que dá maior peso a genótipos raros, foram utilizados para analisar a diversidade genética das populações e foram obtidos com uso dos pacotes Vegan e Vegetarian implementados na plataforma R. A análise fenética, com base no índice de similaridade genética de Nei – ‘*unbiased genetic identity*’ (NEI, 1978) – e no método de Ward, como algoritmo de agrupamento, foi realizada no programa Past (HAMMER et al., 2001). O programa Arlequin 3.5 foi empregado no cálculo do *minimum spanning tree* (MST) e do ‘*minimum spanning network*’ (MSN), para determinar a covariância entre as regiões, entre as populações dentro das regiões e entre os indivíduos dentro das populações. A determinação do número de agrupamentos genéticos no conjunto de dados de microssatélites, a partir de abordagem bayesiana, foi realizada no programa Structure 2.3 (PRITCHARD et al., 2000). O resultado das análises foi submetido à análise no *site* Structure Harvester, para o cálculo de  $\Delta k$ , e no Hapstar 0.7, para a construção da rede de haplótipos.

## Estudos epidemiológicos da CVC na citricultura do Recôncavo Sul

### Análise espacial e temporal da CVC no Recôncavo Baiano

Para este estudo, foram selecionadas duas áreas de laranja Pêra, enxertada em limoeiro Cravo, no município de Governador Mangabeira-BA. Determinaram-se a percentagem de ramos sintomáticos, percentagem de ramos infectados (sintomáticos + assintomáticos) e número de brotações novas. Para tanto, foram marcadas 5 plantas sintomáticas em cada área, selecionadas ao acaso e avaliadas mensalmente no período de abril de 2014 a abril de 2015. A detecção da bactéria foi feita por qPCR, utilizando os *primers* CVC-1 e o CCSM-1. Também foi quantificado o risco de dispersão da CVC associado ao material de propagação no Recôncavo Sul, visando inferir a respeito da disponibilidade de inóculo da bactéria e sobre o risco de disseminação da CVC na região. Para essa análise, foi necessário definir a quantidade máxima de folhas por amostra composta para que a presença da bactéria fosse positiva por meio da técnica de

qPCR. Para disponibilidade de inóculo, após a otimização da técnica de qPCR, a presença da bactéria *Xf* subsp. *pauca* foi analisada utilizando 7 folhas por amostra composta. As amostras foram coletadas em fontes de material de propagação do banco de plantas matrizes de citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

### **Prevalência, incidência e severidade da CVC no Recôncavo e Litoral Norte da Bahia**

O trabalho foi desenvolvido nos polos de citricultura do Litoral Norte e Recôncavo da Bahia abrangendo 11 e sete municípios respectivamente. Por meio de amostragem, efetuou-se o levantamento da CVC em 3.760 plantas nas duas regiões. Utilizaram-se os seguintes parâmetros:

- “0” – planta sem sintoma;
- “1” – plantas com uma folha e até um ramo com sintomas;
- “2” – plantas com até 50% da copa sintomática;
- “3” – plantas com sintomas de ramos e frutos em mais de 50% da copa.

### **Cigarrinhas de xilema vetoras da CVC catalogadas para o Recôncavo da Bahia**

Esta atividade foi desenvolvida em pomares dos municípios de Valença, Castro Alves, Conceição do Almeida, Sapeaçu, Cruz das Almas, Governador Mangabeira e Muritiba. As cigarrinhas, prováveis vetoras da CVC, foram obtidas mediante captura direta na copa das laranjeiras, ou por meio de armadilhas amarelas adesivas, instaladas pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) em pomares com comprovada ocorrência da CVC. Para a captura de insetos vivos, utilizaram-se frascos de vidro e tubos de ensaio ocorrendo de forma manual uma a uma e, para o acondicionamento desses insetos, utilizaram-se sacos de voal. O material coletado foi transportado em caixa de isopor com gelo para o laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas. Quinzenalmente, as armadilhas adesivas foram retiradas do campo, acondicionadas em caixilhos de madeira e encaminhadas para o mesmo laboratório. A remoção dos insetos capturados nas armadilhas adesivas

realizou-se com uso de estiletos, bem como os indivíduos coletados foram armazenados e acondicionados em microtubos tipo *ependorff*, contendo álcool a 70% e identificados. A identificação em nível de espécies ficou a cargo do taxonomista Dr. Wilson Sampaio de Azevedo Filho, da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Todos os exemplares de cigarrinhas foram fotografados com câmara acoplada em microscópio LEICA EZ4 HD, cujas imagens foram submetidas ao programa LEICA APPLICATION SUITE Version 2,0 para compor um catálogo de imagens e identificação das principais espécies de cigarrinhas transmissoras da CVC na citricultura do Recôncavo Sul.

### **Atratividade de cigarrinhas de xilema (Hemiptera: Cicadellidae e Cercopidae) pelo boldo, *Vernonia condensata* Becker, em pomar de laranja Pera**

O trabalho foi desenvolvido em um pomar de laranja Pera com cerca de oito anos de idade. As capturas das cigarrinhas foram realizadas quinzenalmente entre janeiro de 2014 e janeiro de 2015, totalizando 26 coletas, no município de Governador Mangabeira-BA, com alto índice de CVC. Dois lotes de quatro mudas de boldo, *V. condensata*, foram plantados nas entrelinhas do pomar em maio de 2013. Quinzenalmente, no período de janeiro a maio de 2014, realizaram-se coletas manuais de cigarrinhas (Cicadellidae e Cercopidae), utilizando-se rede entomológica e/ou tubos de ensaios. O material coletado foi transportado para o Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizado em Cruz das Almas-BA. No laboratório, os insetos foram quantificados e separados, com base nas características morfológicas: coloração, formato da cabeça, tipo de asa, formato e posicionamento dos olhos, e tamanho do indivíduo. O material foi acondicionado em frascos de vidro contendo álcool a 70% e enviado para identificação por taxinomista: Dr. Wilson Azevedo Filho. O boldo mostrou-se atrativo para espécies de cigarrinhas da subfamília Cicadellinae, potenciais vetoras de *Xylella fastidiosa*, com destaque para *Oncometopia clarior* e *Acrogonia citrina*, as quais têm com presença constante, além de *Homalodisca spottii* e *Tapajosa fulvopunctata*, espécies acessórias, revelando seu potencial como planta armadilha no manejo integrado das cigarrinhas de xilema no pomar de citros.



## Manejo da CVC em sistema de plantio convencional e em sistema de porta-enxerto e formação da muda em local definitivo

O experimento foi instalado na Fazenda Lagoa do Coco em Rio Real, Bahia, em faixa em blocos casualizados, com 8 repetições, compostas de 24 plantas/parcela, duas combinações (Pera x limão Cravo e Pera x tangerina Sunki), com e sem controle químico e 2 métodos de plantios (mudas protegidas e plantio direto no campo), parte com subsolagem e outra parte sem subsolagem, numa área de  $41.472 \text{ m}^2 = 4,15 \text{ ha}$ , com número total de 2.304 plantas e com total de 1.152 plantas por combinação. Inicialmente, foi feita a marcação da área e realizada a subsolagem e a abertura de covas para plantio das sementes no local definitivo. As sementes foram obtidas em plantas do bloco de sementes da Embrapa Mandioca e Fruticultura, e as borbulhas para a confecção das mudas teladas e das mudas a serem enxertadas nos porta-enxertos obtidos em local definitivo foram coletadas em borbulheiras teladas e certificadas na Embrapa Mandioca e Fruticultura da variedade copa Pera D6 e das variedades dos porta-enxertos Sunki Tropical e limão Cravo Santa Cruz. A enxertia das plantas em local definitivo obedeceu a um sistema de plantio onde se coloca cerca de 20 sementes diretamente num sulco preparado para tal e, após a germinação das sementes e o desenvolvimento das plantas, são escolhidas, em cada sulco de plantio, aquelas que estejam num tamanho médio semelhante. No tratamento com controle as sementes foram tratadas antes do plantio e, após o plantio, submetidas diretamente no solo a um tratamento via *drench*, com nova pulverização aos 30 e aos 60 dias, com Thiametoxan em pulverização no caule e nas folhas na dosagem de 0,7 g i. a. por planta, o que também aconteceu nas mudas protegidas 30 e 60 dias após o plantio. Foi realizado um levantamento da presença de plantas com CVC em volta da área experimental, que consiste em dois talhões com plantas de 8 anos de idade de copa de laranjeira 'Pera sobre limoeiro 'Cravo', para estabelecer a incidência e a severidade de CVC, neste caso, usando-se uma escala descritiva em que 0 representa plantas sem sintomas; 1, plantas com uma folha e até um ramo da copa com

sintomas; 2, plantas com mais de um ramo e até 50% da copa com sintomas; e 3, plantas com mais de 50% da copa exibindo sintomas em folhas e frutos, a mesma que será usada para avaliação das plantas na área experimental. Essas avaliações em talhões vizinhos à área experimental foram feitas para conhecimento do potencial de inóculo existente, uma vez que a disseminação da doença está sendo feita de modo natural por intermédio de cigarrinhas. As avaliações visuais foram feitas por dois avaliadores, em dois períodos, março e outubro de 2015, em todas as plantas do experimento buscando sintomas de CVC nas folhas das plantas. Foram realizadas coletas de 62 amostras de folhas das plantas dos tratamentos com controle e sem controle e enviadas para o Laboratório de Pesquisas e Diagnóstico do Fundecitrus, São Paulo. As amostras foram analisadas em qPCR com *primers* e sondas específicas para bactérias associadas ao HLB (*Ca. Liberibacter asiaticus*; *Ca. Liberibacter americanus*; Fitoplasma do grupo IX) e ao CVC (*X. fastidiosa*).

## **Estimativa dos prejuízos econômicos da CVC no Estado da Bahia**

Foi realizada a projeção da área plantada com laranja na Bahia para um horizonte de 10 anos, tomando como base os dados disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE para o ano de 2012 (IBGE, 2014). Portanto, o período de projeção é de 2013 a 2022. Adotou-se como hipótese de trabalho uma taxa de expansão anual de 0,99%. Em seguida, foi realizada a estimativa dos fatores de produção principais utilizados na citricultura baiana, de modo a projetar os fluxos financeiros do setor em termos de custos e dos impactos da doença sobre os mesmos. Com base nos coeficientes técnicos, estimaram-se todos os custos e todas as receitas para o período em estudo, de modo a construir o fluxo de caixa da atividade. A receita da citricultura foi calculada com base na produção em toneladas de laranja. Para tanto, considerou-se que o preço da tonelada de laranja não sofreria alteração durante o período de estudo. Tomou-se como valor médio a tonelada de mesa para o Estado da Bahia, divulgado pelo IBGE para o ano de

2012, corrigido para os anos de 2013 a 2022, utilizando-se a meta de inflação divulgada pelo Banco Central do Brasil, para o ano de 2013. A partir da área projetada para o Estado, foi estimada a quantidade em toneladas de laranja por ano, considerando-se a produtividade média atual de 20 toneladas por hectare. Ficou estabelecido como prejuízo a redução no indicador de viabilidade econômica da citricultura, e foi considerado como indicador o valor presente líquido (VPL), que considera o efeito da dimensão tempo nos valores monetários. Finalmente, foram adotadas três taxas de desconto real: 6% a.a, 8% a.a e 10%, possibilitando a comparação dos respectivos VPLs e a consequente estimativa dos impactos econômicos da CVC na citricultura baiana. Os valores utilizados no estudo, como a receita com os citros e os custos, foram corrigidos para os 10 anos de projeção, tomando por base a meta de inflação de 4,5%, fixada pelo Banco Central do Brasil, para o ano de 2013, Resolução 3.991, de 30 de junho de 2011.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Determinação da estrutura genética de populações de *X. fastidiosa* na Bahia por meio de marcadores SSR**

Dos seis *primers* testados, quatro permitiram identificar 22 loci polimórficos. De forma geral, as populações de *X. fastidiosa* presentes em citros do Estado da Bahia apresentaram elevada diversidade genética. Observou-se também que as populações do Litoral Norte mostraram maior diversidade genética quando comparadas às populações do Recôncavo Sul. Uma explicação para esse comportamento pode estar relacionada às múltiplas entradas de material propagativo infectado, ao longo do tempo, nessa região. Situação semelhante ocorreu na década de 1980, quando houve detecção da CVC na região Nordeste do Brasil (MEHTA et al., 2001; LARANJEIRA et al., 2008), atribuída ao transporte de mudas contaminadas de São Paulo para Sergipe (MEHTA et al., 2001). Foi igualmente constatado que as populações do Recôncavo Sul apresentaram 13 haplótipos, e, as do Litoral Norte, 29. A análise

genética revelou que as populações bacterianas do Recôncavo Sul têm mais similaridade com as das amostras de São Paulo do que com as do Litoral Norte. Este agrupamento, por regiões geográficas, tem sido preferencialmente utilizado em outros estudos de *X. fastidiosa* em citros. Existem indícios de que a introdução da bactéria na região do Recôncavo Sul ocorreu a partir de material proveniente do Estado de São Paulo.

As informações geradas sobre a diversidade de *X. fastidiosa* na Bahia poderão servir de subsídio para elaboração de estratégia de manejo regional da CVC mais eficiente. Os resultados das análises moleculares são indicativos de que mais de um evento de introdução do patógeno ocorreu no Estado da Bahia, o que serve de alerta para as autoridades fitossanitárias e reforça a necessidade de manutenção de barreiras, principalmente ao se considerar a possibilidade de recombinação entre as populações da Bahia e a introdução de novas variantes vindas de outros estados produtores.

## **Estudos epidemiológicos da CVC na citricultura do Recôncavo Sul**

A proporção de ramos sintomáticos mostrou tendência crescente no período de maio até agosto, seguido de declínio no período de setembro a abril, porém com pico de outubro a dezembro para as duas áreas amostradas. Os resultados aqui apresentados são diferentes dos relatados por Laranjeira et al (2003) para São Paulo. De acordo com o autor, os sintomas da CVC são mais expressivos durante o período de setembro a março, correspondentes à primavera e ao verão. Aqui foi observada maior expressão de sintomas de maio a agosto, bem como um maior número de brotações. Essas informações indicam que a expressão de sintomas pode estar ligada com as questões climáticas de cada região.

Por meio da análise do índice de dispersão (ID) e da aplicação da lei de Taylor modificada, determinou-se o padrão espacial da doença,

analisando a incidência de plantas afetadas em cada *quadrat*. A maioria das avaliações apresentou valor calculado de ID estatisticamente superior a 1 ( $X^2$ ,  $P < 0,05$ ), indicando uma dependência espacial entre plantas das sub-áreas. A aplicação da lei de Taylor modificada para todos os tamanhos de *quadrats* apontou agregação, indicando interação entre plantas de uma mesma vizinhança. O padrão espacial das plantas afetadas não apresentou diferenças significativas entre as áreas avaliadas, indicando em ambos os casos tendência à agregação. Esses resultados não diferem dos padrões observados para a mesma doença em outras regiões do Brasil (LARANJEIRA et al., 2000; LARANJEIRA et al., 2004; ROBERTO et al., 2002).

A quantidade máxima de folhas por amostra composta para que a presença da bactéria fosse positiva por meio da técnica de qPCR foi de até 8 folhas. Todas as amostras testes apresentaram-se positivas, com Cts entre 26 e 33, independente da quantidade de folhas por amostra ou variedade cítrica. Foi coletado o total de 190 amostras de variedades diferentes no banco de matrizes. Nas análises para o banco de plantas matrizes, todas as amostras apresentaram resultado negativo para a presença do patógeno, resultados que corroboram os obtidos por Velame et al. (2011), o qual demonstrou, através da técnica de PCR convencional, que as plantas básicas e as mudas da borbulheira da Embrapa Mandioca e Fruticultura não estavam infectadas com CVC. Além da manutenção de plantas matrizes indexadas para a produção de sementes e porta enxertos, a Embrapa Mandioca e Fruticultura possui borbulheira protegida de vetores da CVC, a qual contribui na produção de mudas cítricas para a região. Dentro desse aspecto, não há risco de dispersão associado ao material de propagação proveniente do BAG de citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Apesar de relevante em ambas as regiões, a incidência da CVC foi maior no Litoral Norte, atingindo 60% no município de Aporá, enquanto que, no Recôncavo Baiano, não ultrapassa os 21%, registrados no município de Governador Mangabeira. Esse cenário já era esperado, considerando que sintomas da CVC no Litoral Norte foram detectados

12 anos antes que no Recôncavo (SANTOS FILHO et al., 2010). Ademais, a região do Litoral Norte tem intensa atividade de produção de mudas cítricas a céu aberto, possibilitando a contaminação das mesmas pelos insetos vetores, abundantes naquelas condições. Considerando o último levantamento realizado no Litoral Norte, em que a incidência era relativamente baixa, em torno de 20% o referido parâmetro indica progresso da doença naquela região (LARANJEIRA et al., 2008),.

Quanto à severidade da doença na região do Recôncavo Sul, pode-se afirmar que os sintomas de CVC são iniciais nos pomares de Cabaceiras do Paraguaçu, Sapeaçu e Castro Alves, diferentemente daqueles situados em Muritiba e Governador Mangabeira cuja severidade atinge grau 3. Esse comportamento pode ser determinado por ser este o município onde primeiro se detectou a CVC no Recôncavo Sul (SANTOS FILHO et al., 2010). Na região do Litoral Norte, 72% dos municípios apresentam pomares com sintomas da CVC em todos os três graus de severidade avaliados, denotando que medidas de manejo, provavelmente, não são adotadas para o controle da doença. Desta forma, pode-se concluir que a incidência da CVC no Litoral Norte é três vezes maior do que no Recôncavo Baiano, resultado esperado já que a detecção da CVC foi mais recente nesta última região (SANTOS FILHO et al., 2010).

### ***Cigarrinhas de xilema vetoras da *X. fastidiosa*, catalogadas para o Recôncavo baiano***

Foram identificadas 36 morfoespécies de cigarrinhas. Levaram-se em consideração características morfológicas do inseto: padrão de asa; coloração; formato de cabeça; posicionamento e formato dos olhos; tamanho do indivíduo: *Acrogoniacitrina*; *Oncometopia clarior*; *Macugonalia leucomelas*; *Macugonalia cavifrons*; *Diedrocephala variegata*; *Homalodisca spottii*; *Tapajosa fulvopunctata*; *Hortensia similis*, além de *Gypona* sp. Segundo relatos sobre a eficiência de transmissibilidade da CVC, *Macugonalia leucomelas* e *Acrogonia citrina* possuem eficiência na transmissão da CVC. Do total de cigarrinhas

capturadas, ressalta-se a presença de dois gêneros já descritos na literatura como vetoras de *X. fastidiosa* (LOPES et al., 1996, ROBERTO et al., 1996): *Acrogonia* e *Oncometopia*. As espécies *O. clarior* e *A. citrina* foram recedentes relatadas para o Recôncavo da Bahia (Oliveira et al., 2014), como as de maior frequência: 57,8% e 22,9%, respectivamente, sugerindo e/ou justificando a elevada presença da CVC, nos pomares dessa região.

### **Atratividade de cigarrinhas de xilema (Hemiptera: Cicadellidae e Cercopidae) pelo boldo, *V. condensata* Becker em pomar de laranja Pera**

Foram coletados 109 exemplares de cigarrinhas das seguintes espécies (número /frequência): *Oncometopia clarior* (63 / 57,8%); *Acrogonia citrina* (25 / 22,9%); *Homalodisca spottii* (9 / 8,3%); *Tapajosa fulvopunctata* (7 / 6,4%); *Hortensia similis* (3 / 2,7%) e *Crossogonalia hectica* (2 / 1,8%). O boldo, *V. condensata*, demonstrou ser eficiente na atratividade das cigarrinhas de xilema. A planta de boldo, *V. condensata*, apresentou potencial de uso como planta armadilha para cigarrinhas vetoras de *Xylella fastidiosa*, em pomares de citros, especialmente na agricultura familiar. Essa indicação pode ser sustentada por BENTO et al (2008), quando comprovou a atratividade por voláteis dessa planta para a espécie *Bucephalagonia xanthophis*, em laboratório.

### **Manejo da CVC em sistema de plantio convencional, em sistema de porta-enxerto e formação da muda em local definitivo**

As plantas obtidas e plantadas em campo, tanto oriundas de mudas protegidas assim quanto de mudas obtidas por enxertia em local definitivo, possuem biomassa semelhantes, assim como diâmetro do tronco com média de 5 cm e altura com cerca de 1,0 metro. Os resultados do levantamento da presença de plantas com CVC, em volta da área experimental, apontaram incidência de 33% de plantas afetadas e com severidade média estimada de plantas com nível 3. Foram também encontradas nessas áreas a presença de larva

minadora, pulgão preto e mancha de graxa. Com referência à presença de cigarrinhas foram encontrados espécimes das famílias Cercopidae e Cicadelidae. Os resultados das avaliações visuais não mostraram sintomas da CVC em nenhuma planta. As amostras analisadas em qPCR com *primers* e sondas específicos para bactérias associadas ao HLB (*Ca. Liberibacter asiaticus*; *Ca. Liberibacter americanus*; Fitoplasma do grupo IX) e agente da CVC na Fundecitrus foram negativas para a presença dos referidos patógenos. O experimento da maneira como foi concebido necessitará de um tempo maior do que o da existência do projeto para obter resultados mais substanciais por se tratar de trabalhos envolvendo uma planta perene que começa a produzir a partir do quarto ano, quando as avaliações de produtividade e a avaliação das pragas em estudos podem começar a mostrar os resultados esperados. Entretanto, ainda assim, os resultados obtidos até o momento permitem fornecer subsídios para alimentar um pacote tecnológico para o manejo de pragas em plantio convencional e em plantio da muda em local definitivo, atendendo ao descrito para o impacto tecnológico estabelecido quando da apresentação do projeto. Viu-se que não houve aparecimento de sintomas de nenhum dos agentes etiológicos durante o período de desenvolvimento do projeto, quer nas observações visuais quer na análise por qPCR. Na avaliação realizada para a detecção da presença de cigarrinhas, foram encontradas as morfo-espécies *Acrogonia citrina*, *Homalodisca spotii* e *Tapajosa fulvopumectata*, que já foram descritas na literatura como artrópodes vetores da CVC (LOPES et al., 1996, ROBERTO et al., 1996).

### **Atividade: Estimativa dos prejuízos econômicos da CVC no Estado da Bahia**

Por meio da análise da produtividade média dos pomares afetados e dos coeficientes técnicos da cultura, compararam-se o valor presente líquido (a diferentes taxas de desconto) de pomares sadios aos daqueles afetados pela bactéria. Os resultados revelaram que o prejuízo potencial direto da bactéria *X. fastidiosa* nos pomares de



laranjeira na Bahia, considerando uma taxa de expansão da doença de 0,99% para os próximos 10 anos, pode superar 207 milhões de reais. A este montante, podem ser adicionados os valores que não foram computados, mas que estão associados às atividades econômicas inerentes à citricultura, como a redução da comercialização de insumos, transporte, beneficiamento e comercialização da produção, além do recolhimento de impostos. Este estudo evidencia a importância da bactéria *X. fastidiosa* no Estado da Bahia, cuja relevância poderá aumentar se outras áreas produtoras de citros forem infestadas por essa praga.

## CONCLUSÕES

- As populações de *X. fastidiosa* presentes em citros no Estado da Bahia apresentam elevada diversidade genética, e as populações da bactéria das regiões do Recôncavo Sul e do Litoral Norte apresentam *pools* gênicos distintos e se agrupam geograficamente.
- As populações de *X. fastidiosa* presentes na região do Litoral Norte apresentam maior diversidade genética quando comparadas com as da região do Recôncavo Sul, indicando que a introdução da bactéria nessa região é, provavelmente, decorrente de material propagativo obtido fora do Estado da Bahia.
- O padrão espacial das plantas afetadas pela CVC pode ser caracterizado como levemente agregado.
- A incidência da CVC no Litoral Norte é três vezes maior do que no Recôncavo Baiano.
- Houve disponibilidade de inóculo da CVC e de biomassa hospedeira para cigarrinhas vetoras ao longo de todo o ano.
- Não há risco de dispersão associado ao material de propagação proveniente das plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma de citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

- O boldo, *Vernonia condensata*, demonstrou potencial como planta armadilha no manejo integrado das cigarrinhas de xilema no pomar de citros.
- A cigarrinha *O. clarior*, relatada como vetora da CVC em outros estados brasileiros, foi a de maior frequência determinada no Recôncavo Sul do Estado.
- Determinou-se que o prejuízo potencial direto da CVC para os pomares de laranjeira do estado pode superar 207 milhões de reais, considerando uma taxa de expansão da doença de 0,99% nos próximos 10 anos.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do projeto “Rede de Pesquisa para o Estudo do Patossistema da Clorose Variegada dos Citros no Estado da Bahia”. Ao produtor agrícola e engenheiro agrônomo Roberto Shibata, por ceder a área e por seu apoio na condução do ensaio de manejo da CVC na Fazenda Lagoa do Coco.

## REFERÊNCIAS

BRITO, A. S.; NEVES, P. M.; REZENDE, J. de O.; MAGALHÃES, A. F. de; SHIBATA, R. T.; COSTA, J. A. Lima da Pérsia com porta-enxerto semeado no local definitivo. **Bahia Agrícola**, v.7, p. 61-71, 2006.

BENTO, J. M. S.; ARAB, A.; ZACARIN, G. G.; SIGNORETTI, A. G. C.; SILVA, J. W. P. D. Attraction of *Bucephalagonia xanthophis* (Hemiptera: Cicadellidae) to volatiles of its natural host *Vernonia condensata* (Asteraceae). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, 65, n. 6, p. 634-638, 2008.

COLETTA-FILHO, H. D.; TAKITA, M. A.; SOUZA, A. A.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; MACHADO, M. A. Differentiation of Strains of *Xylella fastidiosa* by a variable Number of Tandem Repeat Analysis. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 67, p. 4091-4095, 2001.

DE NEGRI, J. D. **Clorose variegada dos citros**: uma nova anomalia afetando pomares em S. Paulo e Minas Gerais. Campinas: Extensão Rural, Coord. Ass. Téc. Integral CATI. 6p, 1990. (Comunicado Técnico nº 82).

DELLAPORTA S. L.; WOOD J.; HICKS, J. B. A plant DNA minipreparation: version II. **Plant. Mol Biol. Rep.**, v. 1 p. 19-21, 1983.

HAMMER, O; HARPER D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: palaeontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. p.9, 2001.

IBGE. **SIDRA**, 2014. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/pimpfbr/brasil>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

IBGE. **SIDRA**, 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/pimpfbr/brasil>>. Acesso em: 01 set. 2016.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; LOPES, J. R. S. Comportamento sazonal da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, 2003a.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIN FILHO A.; AMORIM L.; Berger R.; Gottwald T. R. Dinâmica Temporal da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**. São Paulo, v.28, 2003b.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIN FILHO A.; AMORIM L.; Gottwald T. R. Dinâmica Espacial da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**. São Paulo, v.28, 2004.

LARANJEIRA, F. F.; SILVA, L. G. ; FONSECA, E. ; SILVA, S. X. B.; SANTOS FILHO, H. P. ; LEDO, C. A. S. ; HAU, B. Prevalence, Incidence and Distribution of Citrus Variegated Chlorosis in Bahia, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 361-369, 2008.

LIN H.; CIVEROLO, E. L.; HU, R.; BARROS, S.; FRANCIS, M.; WALKER, M. A. Multilocus simple sequence repeat markers for differentiating strains and evaluating genetic diversity of *Xylella fastidiosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, p.4888- 4892, 2005.

LOPES, J. R. S. Mecanismos de transmissão de *Xylella fastidiosa* por cigarrinhas. **Laranja**, v. 17, p. 79-92, 1996.

MEHTA, A.; LEITE JR., R. P.; ROSATO, Y. B. Assessment of the genetic diversity of *Xylella fastidiosa* isolated from citrus in Brazil by PCR-RFLP of the 16S rDNA and 16S-23S intergenic spacer and rep-PCR fingerprinting. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 79, p. 53-59, 2001.

MINSAVAGE, G. V.; THOMPSON, C. M.; HOPKINS, D. L.; LEITE, R. M. V. B.; STALL, R. E. Development of a Polymerase Chain Reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, v.84, p. 456-461, 1994.

MIRANDA, M. P.; LOPES, J. R. S.; NASCIMENTO, A. S.; SANTOS, J. L.; CAVICHIOLI, R. R. Levantamento populacional de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) associadas à transmissão de *Xylella fastidiosa* em pomares cítricos do litoral Norte da Bahia. **Neotropical Entomology**, Springer, v. 38, n. 6, p.827-833, 2009.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. **Genetics**, v. 89, p.583-590, 1978.

OLIVEIRA, I. S.; SILVA, S. X. B.; CAVALCANTE, A. K. S.; NASCIMENTO, A. S. Status fitossanitário da clorose variegada dos citros (CVC) na Bahia e perfil dos citricultores. **Bahia Agrícola**, v. 9, p. 88-93, 2014.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945-959, 2000.

ROBERTO, S. R.; COUTINHO, A.; LIMA, J. E. O. de; MIRANDA, V. S.; CARLOS, E. F. Transmissão de xylella fastidiosa pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*, *Acrogonia terminalis* e *Oncometopia facialis* (Hemiptera Cicadellidae) em citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.517-518, 1996.

ROSATO, Y. B.; RODRIGUES NETO, J.; MIRANDA, V. S.; CARLOS, E. F.; MANFIO, G. P. Diversity of a *Xylella fastidiosa* population isolated from *Citrus sinensis* affected by citrus variegated chlorosis in Brazil. **Syst. Appl. Microbiol.** v. 21, p. 593-598, 1998.

ROSSETTI, V.; DE NEGRI, J. D. Clorose variegada dos citros Revisão. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 32, p. 61-66, 2011.

SANTOS FILHO, H. P.; BARBOSA C. J.; Laranjeira, F. F.; SILVA, S. X. de B. Clorose variegada dos citros ameaça a citricultura do recôncavo do Sul. **Citros em Foco**, v. 34, 2010.

VELAME, K. V. C.; ABREU, E. F. M.; RORYZ, A. K. P.; ANDRADE, E. C. de; PEREIRA, N. C.; BARBOSA, C. de J. Diagnóstico molecular de bactérias sistêmicas dos citros na Embrapa Mandioca e Fruticultura. In: JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 5., 2011, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2011. 1 p. 1 CD-ROM. PDF. 163)11.

YAMAMOTO, P.T.; ROBERTO, S. R.; PRIA JÚNIOR, W. D.; FELIPPE, M. R.; FREITAS, E. P. Espécies e flutuação populacional de cigarrinhas em viveiro de citros, no município de Mogi-Guaçu-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p. 389-394, 2002.



---

*Mandioca e Fruticultura*

MINISTÉRIO DA  
**AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO**

