

**Relatório Corporativo da
I Reunião Técnica do Arranjo HLB
dos Citros “Soluções inovadoras
e integradas para a superação
da doença huanglongbing
(HLB, ex-greening) dos citros”**



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Embrapa Clima Temperado
Embrapa Instrumentação
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Embrapa Meio Ambiente
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Documentos 218

Relatório Corporativo da I Reunião Técnica do Arranjo HLB dos Citros “Soluções inovadoras e in- tegradas para a superação da doença huanglongbing (HLB, ex-greening) dos citros”

Eduardo Augusto Girardi

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,

Jeanne Scardini Marinho Prado

Dori Edson Nava

Izulmé Rita Imaculada Santos

Eduardo Sanches Stuchi

Juliana Freitas-Astua

Fábio de Lima Gurgel

Luiz Alexandre Nogueira de Sá

Márcio Martinello Sanches

Eduardo Chumbinho Andrade

Francisco Ferraz Laranjeira

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/mandioca-e-fruticultura

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa*
Secretária-executiva: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*
Membro: *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 gramatical: *Adriana Villar Tullio Marinho*

Normalização bibliográfica: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Editoração eletrônica: *Anapaula Rosário Lopes e Lindauline Moreno*

Foto da capa: *Eduardo Augusto Girardi*

1ª edição

Versão online (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

Relatório Corporativo da I Reunião Técnica do Arranjo HLB dos Citros: "Soluções inovadoras e integradas para a superação da doença huanglongbing (HLB, ex-greening) dos citros" / Eduardo Augusto Girardi [et. al.]. – Cruz das Almas, BA : Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017.

45 p. il. ; 21 cm. – (Documentos/ Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017).

ISSN 1809-4996, 218.

1. Fruta cítrica. 2. Doença de planta. I. Girardi, Eduardo Augusto. II. Milori, Débora Marcondes Bastos Pereira. III. Prado, Jeanne Scardini Marinho. IV. Nava, Dori Edson. V. Santos, Izulmé Rita Imaculada. VI. Stuchi, Eduardo Sanches. VII. Freitas-Astua, Juliana. VIII. Gurgel, Fábio de Lima. IX. Sá, Luiz Alexandre Nogueira de. X. Sanches, Márcio Martinello. XI. Andrade, Eduardo Chumbinho. XII. Laranjeira, Francisco. XIII. Título. XIV. Série.

CDD 634.304

©Embrapa 2017

Autores

Eduardo Augusto Girardi

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil.

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

Física, doutora em Física, pesquisadora da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil.

Jeanne Scardini Marinho Prado

Engenheira-agrônoma, doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil.

Dori Edson Nava

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

Izulmé Rita Imaculada Santos

Bióloga, doutora em Fisiologia do Estresse Vegetal, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil.

Eduardo Sanches Stuchi

Engenheiro-agrônomo, doutor em Produção Vegetal, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil.

Juliana Freitas-Astua

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil.

Fábio de Lima Gurgel

Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, Brasil.

Luiz Alexandre Nogueira de Sá

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil.

Márcio Martinello Sanches

Biólogo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil.

Eduardo Chumbinho Andrade

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil.

Francisco Ferraz Laranjeira

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil.

Apresentação

O Huanglongbing dos citros ou HLB é uma grave ameaça à sustentabilidade da citricultura no Brasil e em diferentes regiões produtoras do mundo. Essa doença vem causando a redução da produção e da qualidade dos frutos, o encurtamento da vida útil dos pomares e o aumento significativo dos custos de produção. Entre os diversos impactos, aquele de viés social é dos mais preocupantes, uma vez que a diminuição da área plantada está relacionada à saída do citricultor dessa atividade, substituída por outras culturas, muitas vezes menos rentáveis e que geram menos empregos.

Em 2013, a Embrapa Mandioca e Fruticultura iniciou a coordenação do arranjo de projetos “Soluções inovadoras e integradas para a superação da doença Huanglongbing (HLB, ex-greening) dos citros”, dentro do Sistema Embrapa de Gestão e em completo alinhamento com as diretrizes do Portfólio de Sanidade Vegetal. Com essa iniciativa, a empresa demonstrou a priorização desse problema de solução complexa, apresentando seis linhas estratégicas de pesquisa para direcionamento de atuação de seu corpo técnico: analítica/instrumentação, biomatemática, controle biológico, sistemas de produção, melhoramento genético e biotecnologia. A sinergia de esforços com outras instituições de pesquisa e de extensão, seja no processo de inteligência, seja na operacionalização dos projetos, vem sendo um pilar estratégico na construção do arranjo.

Nesse Documento, a equipe componente do Arranjo HLB apresenta uma síntese das atividades desenvolvidas no período 2013-2016, após a realização da I Reunião Técnica realizada durante o International Citrus Congress em Foz do Iguaçu, em setembro de 2016. Discute-se o cenário da citricultura na presença do HLB e as perspectivas para novos objetivos de pesquisa em curto, médio e longo prazo. A programação técnica do arranjo pode ser evidenciada a partir da produção científica apresentada durante esse congresso. Certamente, somente soluções integradas fundamentadas em sólido avanço de conhecimento serão capazes de aperfeiçoar o manejo dessa doença.

Dr. Alberto Duarte Vilarinhos
Chefe Geral da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Sumário

Introdução	9
Composição do Grupo Gestor para o próximo biênio	11
Atualização do cenário sobre HLB	11
Estatísticas resumidas do arranjo	14
Síntese dos projetos concluídos e em execução	14
Limitações e desafios à execução do arranjo	23
Planejamento de objetivos específicos prioritários e novas propostas	24
Representação das Unidades na RT	26
Resumos científicos [XIII International Citrus Congress (2016: Foz do Iguaçu, Brazil)	26

Relatório Corporativo da I Reunião Técnica do Arranjo HLB dos Citros “Soluções inovadoras e integradas para a superação da doença huanglongbing (HLB, ex-greening) dos citros”

Eduardo Augusto Girardi

Déborá Marcondes Bastos Pereira Milori

Jeanne Scardini Marinho Prado

Dori Edson Nava

Izulmé Rita Imaculada Santos

Eduardo Sanches Stuchi

Juliana Freitas-Astua

Fábio de Lima Gurgel

Luiz Alexandre Nogueira de Sá

Márcio Martinello Sanches

Eduardo Chumbinho Andrade

Francisco Ferraz Laranjeira

Introdução

Sumário Executivo: Em 22 de setembro de 2016, realizou-se a I Reunião Técnica (RT) do Arranjo HLB da Embrapa, durante o International Citrus Congress (ICC), em Foz do Iguaçu-PR. Os objetivos da RT incluíram deliberar sobre a composição do GGAr para o próximo biênio, atualizar o cenário sobre a doença huanglongbing (HLB), apresentar estatísticas do arranjo e da síntese dos projetos concluídos e em execução, discutir principais limitações e desafios à execução da programação e reavaliar objetivos específicos prioritários e novas propostas para o arranjo. Optou-se pela estratégia de realizar uma RT corporativa, sendo o componente científico direcionado para a programação do congresso que hospedou a RT. Dezenove resumos científicos relacionados ao arranjo foram apresentados, nas linhas de pesquisa em analítica/instrumentação, biomatemática, controle biológico, sistemas de produção, melhoramento genético e biotecnologia. Os agentes causais (*Candidatus Liberibacter spp.*)

e os vetores (*Diaphorina citri* e *Trioza erytreae*) estão em franca disseminação por todas as regiões citrícolas do mundo, constituindo a principal ameaça à sustentabilidade desse agronegócio. Em São Paulo - Brasil, e Flórida - EUA, as duas maiores regiões produtoras de laranja do mundo, o HLB afeta 18% e 80% das plantas, respectivamente, após 12 anos de sua constatação, causando perdas expressivas em produção e ampliando custos. Investimentos em pesquisa direcionada à solução aumentaram significativamente nos últimos dez anos, resultando em impressionante avanço do conhecimento evidenciado por aumento da publicação científica na casa de 15x. Em curto prazo, o aperfeiçoamento do manejo regional para redução da infecção primária pode reduzir o progresso do HLB; em médio prazo, práticas mais sustentáveis de controle do vetor e de cultivo intensivo de citros contribuirão para manutenção da competitividade da citricultura, enquanto soluções biotecnológicas e de resistência genética sejam obtidas em longo prazo. O Arranjo HLB da Embrapa, com duração prevista para 2013-2023, vem contribuindo com pesquisas e ações de transferência de tecnologia a partir de uma rede de 16 projetos que envolvem 70 pesquisadores da empresa, 18 Unidades e 17 instituições parceiras. A gestão harmoniosa dessa equipe, focando em alcance de resultados, é desafiadora. Os principais resultados e perspectivas que constituem as linhas prioritárias de continuação dos esforços incluem equipamentos de diagnose precoce e análise de imagens, otimização dos critérios e métodos de monitoramento do vetor e de Clas para tomada de decisão de controle, desenvolvimento de práticas e insumos alternativos ou complementares ao controle químico com inseticidas sintéticos, avaliação de sistemas intensivos de cultivo baseados em adensamento de plantio e uso de porta-enxertos ananizantes em combinação de variedades copa com maior valor agregado, tecnologias de controle baseada em RNAi e Bt e variedades resistentes obtidas por transformação genética. O HLB continua e deverá continuar sendo um problema de solução complexa nos próximos anos, sendo parcerias fundamentais para garantir o andamento das iniciativas de controle, pesquisa e inovação.

Composição do Grupo Gestor para o próximo biênio

Indicou-se a renovação do GGAr para o biênio 09/2016-09/2018, sendo eventuais substituições nesse período comunicadas ao DPD: Eduardo Augusto Girardi (Embrapa Mandioca e Fruticultura), Débora Marcondes Bastos Pereira Milori (Embrapa Instrumentação), Jeanne Scardini Marinho Prado (Embrapa Meio Ambiente), Dori Edson Nava (Embrapa Clima Temperado) e Izulmé Rita Imaculada Santos (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia).

Atualização do cenário sobre HLB

Durante o ICC, o tema HLB foi amplamente discutido em apresentações, *workshops* e na programação científica, apresentando-se dados atualizados sobre essa doença. O HLB está presente nos principais países produtores de citros na maioria dos continentes, à exceção de Europa e Austrália. Na Ásia, ocorre desde o Japão até o Irã, incluindo ilhas do Pacífico e sendo causado por *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Clas), sendo transmitido pelo psilídeo *Diaphorina citri*. Esses ocorrem, também, nas Américas do Norte, Central e do Sul, além de *Candidatus Liberibacter americanus* (Clam) em baixíssima frequência no Brasil. Na África, o vetor é *Trioza erytrae*, que transmite *Candidatus Liberibacter africanus* (Claf), embora já se constate a presença conjunta de Clas e *D. citri* na Etiópia. Na Europa, reportou-se recentemente *T. erytrae* em Portugal e na Espanha. Ou seja, os agentes causais e os vetores do HLB estão se disseminando amplamente pelo mundo, ameaçando todos os polos citrícolas.

Na Flórida, EUA, segundo maior produtor de laranjas do mundo, a doença afeta 100% dos talhões comerciais, com 80% de plantas sintomáticas, desde a constatação em 2005. Uma consequência direta dessa infestação elevada é a redução gradativa da produção no estado, com redução de aproximadamente 50% no período 2005-2016. Em São Paulo, Brasil, maior produtor de laranjas do mundo, o HLB foi

reportado em 2004 e, em 2016, 18% das árvores apresentavam sintomas da doença. A diferença do progresso entre as duas regiões é explicada, principalmente, pela adoção da erradicação de plantas doentes em São Paulo, de forma sistemática especialmente nos anos iniciais da doença, além do uso de mudas protegidas já ter sido incorporado ao sistema produtivo e, principalmente, de haver controle químico contínuo do vetor em áreas de manejo regional. A incidência da doença se manteve estável nos dois últimos anos, observando-se redução de área plantada pela erradicação de pomares mais velhos com maior incidência, embora esta tenha crescido em pomares com menos de 5 anos. Em Minas Gerais e no Paraná, o HLB apresenta expansão tanto na sua distribuição geográfica como em número de plantas doentes. Em todas as regiões do país, por fim, há presença do vetor *D. citri*.

Dessa maneira, projeta-se a continuação da disseminação do HLB como principal doença da citricultura, reduzindo a produção e ampliando os custos desta nas áreas onde ocorre, na ordem de 5 a 10% do custo total, além de exigir ações de defesa naquelas ainda indenes. O setor de citros ainda enfrenta um cenário de mercado consumidor decrescente, notadamente no segmento de sucos industrializados, com reduções anuais na ordem de 5% em escala global, o que torna ainda mais desafiador, pois estímulos à demanda são restringidos pelo risco da oferta insuficiente ou cara. Vive-se, assim, um xeque-mate.

Soluções definitivas ou cura ainda não foram obtidas e não há perspectiva de alcance em curto e médio prazo. Os principais avanços científicos se referem ao conhecimento sobre o patossistema, embora o cultivo *in vitro* de Clas ainda não tenha sido dominado, e ao controle regional do vetor e da doença, com efeitos notáveis na redução de seu progresso. Os desafios que persistem e implicam nas principais linhas de pesquisa corrente incluem tecnologias mais sustentáveis para controle do vetor e do agente causal e para a intensificação do cultivo visando a um maior patamar de produtividade. A resistência

genética, via melhoramento convencional ou biotecnologia, é considerada a solução em longo prazo e demanda maiores investimentos e esforços.

Os investimentos na Flórida, direcionados à pesquisa com HLB no período 2007-2016, contabilizam aproximadamente US\$ 110 milhões, capitaneados pela Citrus Research and Development Foundation (CRDF) e tendo a Universidade da Flórida e o ARS-USDA como principais instituições executoras da programação. No período 2006-2016 no Brasil, investiram-se cerca de R\$ 80 milhões, sendo a Embrapa a segunda instituição com maior investimento, após o Fundecitrus e à frente da Fapesp e CNPq, com destaque ainda para o Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, IAPAR e a ESALQ/USP como principais executores da programação científica dedicada à doença. Os outros principais países produtores (China, Índia, México, África do Sul, entre outros) apresentam investimentos crescentes para pesquisa, e a Europa está se organizando para conduzir um consórcio entre os países produtores do Mediterrâneo frente à ameaça de invasão iminente por *Ca. Liberibacter spp.*

A evolução do impacto científico decorrente do HLB pode ser evidenciada pelo crescimento de citações para "huanglongbing", na base Google Scholar. Em 1950-2003 (54 anos), reportam-se 410 citações, em 2004-2011 (8 anos), 2.450 citações, e, apenas nos últimos 4,5 anos (2012-2016 até setembro), 3.350 citações. Em 2004/2005, o HLB foi reportado no Brasil e nos EUA. Apesar desse impressionante avanço em pesquisa, a transferência de tecnologias ainda representa um desafio: estudos conduzidos no âmbito de projetos componentes do Arranjo HLB indicam que, em regiões idênticas no Brasil, o risco de introdução e disseminação do HLB é elevado para 80% dos produtores familiares, que, em sua maioria, desconhecem esse patossistema, e, mesmo em regiões com cultivo empresarial onde a doença já ocorre, o nível médio de adoção de tecnologias de controle já disponíveis pode ser de apenas 52% entre produtores independentes.

Estatísticas resumidas do arranjo

O arranjo HLB “Soluções inovadoras e integradas para a superação da doença huanglongbing (HLB, ex-greening) dos citros” tem duração prevista em sua carta-consulta para o período 2013-2023. Atualmente, é composto por oito projetos de Macroprograma 2, sete de Macroprograma 3 e um projeto de Macroprograma 6, entre concluídos, em execução e apropriados. Ao todo, os projetos componentes envolvem 70 pesquisadores da Embrapa, com diferentes graus de atuação, e 18 Unidades colaboradoras, nove das quais lideram macroprogramas (em ordem decrescente, Mandioca e Fruticultura, Meio Ambiente, Recursos Genéticos e Biotecnologia, Instrumentação, SRI-Labex EUA, Clima Temperado, Florestas e Acre). Os projetos são conduzidos em parceria com 17 instituições de pesquisa e extensão em todas as regiões e biomas do país, com destaque para Fundo de Defesa da Citricultura, Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agrônômico, Instituto Agrônômico do Paraná, universidades (USP, UNESP, UFSCar, UFRB, UESC, UEFS, UFRGS, University of Florida, entre outras), Citrosuco e diversas outras empresas e produtores em 18 estados brasileiros. O público-alvo é constituído, prioritariamente, por produtores, indústrias, fornecedores, instituições de pesquisa e agências de governança. Em 09/2016, havia 86 resultados associados a projetos do Arranjo HLB cadastrados na plataforma IDEARE. Aproximadamente 46% dos objetivos específicos ainda não apresentavam resultados associados.

Síntese dos projetos concluídos e em execução

Nos quadros a seguir, apresentam-se a síntese sobre os projetos componentes do Arranjo HLB (concluídos e em execução) e os principais resultados associados. Os projetos estão organizados em seis linhas de pesquisa, consideradas estratégicas para solução de controle do HLB: analítica/instrumentação, biomatemática, controle biológico,

sistemas de produção, melhoramento genético e biotecnologia. Foram incluídos apenas projetos com escopo direcionado ao tema HLB, seja integralmente, seja em função de incluir atividades específicas.

Análítica/Instrumentação

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Controle do Citrus Greening (HLB): ferramentas de diagnóstico para construção de mapas de infestação	04/2012-03/2014	1. Mapas de infestação de HLB em pomares comerciais, com base em análise de imagem	MP Embrapa	180.728,15
Biofotônica aplicada ao diagnóstico precoce de Greening (HLB)	12/2010-11/2012	1. Equipamento biofotônico para diagnose precoce de HLB (sintomático e assintomático) em campo e em laboratório	FAPESP	Private
GeoTecnologias para inspeção, gerenciamento e análise da Propagação de Greening (HLB) nos citros	12/2010-11/2013	1. Sistema de diagnose de HLB baseado em imagens aéreas e processamento de dados		40.000,00

Biomatemática

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Huanglongbing dos citros: abordagem biomatemática como suporte à defesa fitossanitária	01/2011-12/2014	<ol style="list-style-type: none"> 1. Rede sentinela para monitorar HLB/ <i>D. citri</i> em regiões indenés 2. Software Cryptica <i>software</i>: modelagem da disseminação do HLB 3. Critérios de inspeção de HLB em regiões sujeitas à invasão 	MP Embrapa	498.142,05
HLB BioMath fase 2: abordagem biomatemática como suporte à defesa fitossanitária e avaliação <i>ex-ante</i> de tecnologias de manejo	05/2015-04/2018	<ol style="list-style-type: none"> 1. Otimização do manejo regional e do sistema de alerta fitossanitário 2. Critérios para monitoramento e controle de <i>D. citri</i> 3. Estratégia <i>push and pull</i> para controle de <i>D. citri</i> 	MP Embrapa	636.111,00

Controle biológico e fitopatologia

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Uso de Bt para o manejo do HLB pela redução da população de <i>D. citri</i>	02/2017-07/2019	1. Formulação à base de Bt para controle de <i>D. citri</i> via aplicação sistêmica e de contato	MP Embrapa	187.379,75
Manejo e biodiversidade de Psylloidea associados ao sistema integração lavoura-pecuária-floresta e à citricultura no Brasil	03/2013-12/2016	1. Identificação de uma nova espécie de psilídeo em pomares de citros em São Paulo	MP Embrapa	628.847,90
Controle biológico e técnicas alternativas para o manejo do psilídeo-dos-citros	03/2014-02/2017	1. Importação e avaliação de <i>D. aligarhensis</i> como parasitoide complementar de <i>D. citri</i> no Brasil 2. Monitoramento, criação e liberação de <i>T. radiata</i> em seis regiões brasileiras 3. Inibidores sintéticos e naturais de proteases com potencial para controle de <i>D. citri</i> 4. Semioquímicos de <i>Citrus</i> e de outros gêneros com potencial repelente de <i>D. citri</i>	MP Embrapa	1.493.598,05

Continua...

Continuação (Controle biológico e fitopatologia)

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Utilização do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> L. (Piperaceae) no controle do psilídeo dos citros	08/2014-07/2017	1. Formulação à base de óleo essencial e derivados de dilapiol para controle de <i>D. citri</i>	MP Embrapa	156.054,81
Ocorrência e caracterização de fitoplasmas associados a sintomas de HLB em citros e sua interação com <i>Candidatus Liberibacter</i> spp.	11/2014-10/2017	1. Conhecimento sobre a distribuição e a biologia de fitoplasmas associados a sintomas de HLB em polos citrícolas do Brasil	MP Embrapa	161.949,60
Potencial de controle de <i>Diaphorina citri</i> via ondas mecânicas e eletromagnéticas	10/2014-09/2017	1. Armadilhas luminosas e retornáveis para <i>D. citri</i> 2. Equipamento baseado em ondas mecânicas e luminosas para controle de <i>D. citri</i>	FAPESB	213.267,08
Estudo das interações entre vetores e patógenos causadores de doenças de citros visando ao desenvolvimento de estratégias de controle	10/2014-10/2018	3. Leitor eletrônico de armadilhas adesivas 1. Conhecimento sobre relações Clas – <i>D. citri</i> – citros visando identificar mecanismos de controle	Embrapa- CAPES	420.300,00

Sistemas de produção

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Análise de risco e tecnologias de manejo do HLB efetivas para agricultura familiar	05/2014-04/2017	<ol style="list-style-type: none"> Mapas de risco para invasão de HLB em seis polos de citricultura familiar Transferência de tecnologias disponíveis para controle de HLB com foco em agricultura familiar 	MP Embrapa	435.368,95
Sistemas de produção ecologicamente intensivos de coco e de citros no Norte e no Nordeste do Brasil	09/2012-02/2016	<ol style="list-style-type: none"> Sistemas de produção de baixo ingresso e consorciados para mitigação de riscos em regiões citrícolas tropicais 	MP Embrapa	1.143.725,47
Práticas intensivas de manejo fitotécnico para sistemas de produção de citros em áreas endêmicas de HLB	03/2014-02/2017	<ol style="list-style-type: none"> Adensamento de plantio em regiões endêmicas de HLB Mudas para replanta e mudas para sistema adensado Importância da murta como planta armadilha Consortiação entre laranja e seringueira 	MP Embrapa	1.637.734,97

Continua...

Continuação (Sistemas de produção)

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Práticas intensivas de manejo fitotécnico para sistemas de produção de citros em áreas endêmicas de HLB	03/2014-02/2017	5. Aplicação de inseticidas sistêmicos para porta-enxertos ananicanos	MP Embrapa	1.637.734,97
		6. Plantio em ângulo e altura de poda para condução de laranja em sistema intensivo		
Huanglongbing (HLB, ex-greening): Análise de sobrevivência de combinações cítricas e de sistemas de plantio associada à seleção para resistência	06/2015-05/2017	7. Uso de caolin e poda para manejo de <i>D. citri</i> e citros	FAPESP	204.583,90
		1. 116 combinações copa e porta-enxerto avaliadas para dinâmica da brotação e selecionadas visando controle de <i>D. citri</i>		
Novas combinações copa/porta-enxerto para a citricultura do Estado da Bahia: propagação em ambiente protegido e implantação de pomares ultra-adensados	07/2011-06/2013	1. Recomendação da produção protegida de mudas cítricas e diagnose atualizada sobre a cadeia de mudas na Bahia	FAPESB	92.401,00
		2. Instalação e avaliação de copas/porta-enxertos em pomares adensados em três ecossistemas no Nordeste brasileiro		

Melhoramento genético

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Criação e seleção de variedades de citros mediante procedimentos clássicos e biotecnológicos, com ênfase no controle do huanglongbing (HLB) e na tolerância à seca	06/2014-05/2018	<p>1. Ao menos uma dezena de porta-enxertos semiananizantes selecionados para colheita facilitada, tolerância à seca, elevada eficiência produtiva e potencial controle de <i>Clas/D. citri</i></p> <p>2. Tangerinas apirenas de alto valor em região tropical, laranjas para suco NFC e seleções superiores de lima ácida Tahiti</p> <p>3. ~800 genótipos de citros avaliados para resposta a <i>Clas/D. citri</i></p>	MP Embrapa	4.181.407,20
Criação e seleção de variedades de citros mediante procedimentos convencionais e biotecnológicos, com ênfase em porta-enxertos adaptados a estresses abióticos e bióticos	10/2010-07/2014	Idem	MP Embrapa	1.249.142,93

Biotecnologia

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Desenvolvimento de metodologias para criopreservação e crioterapia para <i>Citrus sinensis</i> , <i>Citrus reticulata</i> , e <i>Poncirus trifoliata</i>	07/2015-06/2017	<ol style="list-style-type: none"> 1. Preservação em longo prazo de citros livres de HLB 2. Regeneração de plantas matrizes livres de HLB a partir de plantas elite infectadas em campo 	MP Embrapa	149.942,83
Huanglongbing (ex-greening) dos citros: desenvolvendo abordagens biotecnológicas de manejo	10/2008-03/2012	<ol style="list-style-type: none"> 1. Identificação de três isolados de Bt com potencial de controle de <i>D. citri</i> e uso em transformação de citros 2. Sequenciamento do genoma de <i>Citrus</i> 3. Peptídeos antimicrobianos testados para controle de Clas 4. Plantas cítricas transgênicas candidatas para controle de Clas 	MP Embrapa	1.438.926,00
Obtenção de plantas de citros transformadas com promotores tecido-específicos ou genes candidatos a conferir resistência ao huanglongbing (ex-greening)	11/2013-10/2016	<ol style="list-style-type: none"> 1. Genótipos de citros transformados com potencial de resistência/tolerância ao HLB 	CNPq	78.526,85

Continua...

Continuação (Biotecnologia)

Projeto	Vigência	Principais resultados e perspectivas	Fomento	Orçamento (R\$)
Novas abordagens de RNA interferente para controle do psilídeo <i>Diaphorina citri</i> , vetor do agente causal do Huanglongbing do citros	08/2012-07/2016	1. Molécula dsRNA MET-1 para controle de <i>D. citri</i> 2. Nanocarreadores para formulação sistêmica e de contato à base de MET-1/ iRNA	Embrapa SRI / Labex-EUA	88.000,00
Recursos captados em 2008–2016 (custeio + investimento, sem salários)				15.316.138,49

Limitações e desafios à execução do arranjo

A programação do Arranjo HLB é caracterizada por pesquisas contínuas, com resultados previstos em médio e longo prazo, dada a natureza perene dos citros e crítica de Clas, e a complexidade tecnológica das soluções propostas. O cenário é muito dinâmico e os grupos de pesquisa são competitivos, com possibilidades frequentes de avanços e novos resultados atingidos em escala mundial. Sendo assim, a execução do arranjo é seriamente limitada por restrições orçamentárias que implicam em interrupção ou atraso das atividades. A captação externa é fundamental como complementação, embora o presente momento seja restritivo. A parceria com a iniciativa privada e com outras instituições públicas e privadas de pesquisa é fundamental ao alcance de resultados mais ambiciosos, de modo que o adequado relacionamento institucional com estes entes constitui ponto crítico.

As iniciativas para submissão de um projeto de gestão do arranjo não foram bem-sucedidas até o momento, existindo dificuldade em se elaborar uma proposta que empregue ferramentas de gestão

necessárias ao bom andamento da programação e consoantes à operação da Embrapa. Por fim, destaca-se que a motivação e o engajamento das equipes componentes do arranjo são um desafio ao GGAr. O tema do arranjo, embora constitua um problema de solução complexa e, assim, atraente como desafio científico e com impacto reconhecido no setor produtivo, é distante da missão principal da maioria das Unidades participantes. Estas Unidades são constantemente submetidas a inúmeras demandas que alteram o foco de atuação dos pesquisadores e das equipes, bem como desestimuladas pelas dificuldades orçamentárias em projetos aprovados.

Planejamento de objetivos específicos prioritários e novas propostas

Considerando-se o cenário apresentado, durante a RT definiu-se pela manutenção da maioria dos objetivos específicos incluídos na carta, consultados do Arranjo HLB. A linha de pesquisa com maior número de projetos em execução é a de controle biológico, em que se preveem novas propostas desdobradas dos trabalhos em curso. Métodos e produtos alternativos para o controle mais sustentável do vetor apresentam elevado potencial de incorporação imediata pela cadeia produtiva. O aperfeiçoamento do manejo regional também é uma linha prioritária para otimização do controle em curto prazo, notadamente pela abordagem de manejo de borda em paisagem heterogênea, dada a característica de maior relevância da infecção primária no controle efetivo do HLB. A finalização de tecnologias de diagnóstico precoce e a ocorrência de novas oportunidades para análise de imagens constituem possibilidades para a instrumentação, assim como a própria viabilidade da colheita mecanizada, que foi abandonada nos EUA especialmente pelo maior dano físico observado em pomares infectados por HLB, e pela razão do segmento de citros ser menos atraente aos fabricantes do que outras *commodities*.

Objetivos específicos originalmente previstos no Arranjo HLB sobre uso de nutrientes e similares para profilaxia e cultivo *in vitro* de Clas foram suspensos em função da baixa probabilidade de sucesso dados os resultados pouco efetivos obtidos por diversos grupos de pesquisa. Por outro lado, estudos sobre melhoramento genético e abordagens biotecnológicas de manejo podem representar um diferencial de contribuição pela Embrapa, seja pela exploração de seu variado patrimônio genético, seja pela possibilidade de colaboração com diferentes parceiros em pesquisas inovadoras. Destacam-se aqui a seleção de variedades copa, com maior valor agregado, e de porta-enxertos ananizantes, preferencialmente apresentando baixa ou nenhuma titulação de Clas, a tecnologia RNAi via *delivery* e a transformação genética com genes *cry*.

Os resultados associados ao Arranjo HLB são classificados em sua maioria como avanço do conhecimento, como era esperado em fase inicial de implementação de projetos e para aprimoramento das ferramentas de controle já disponíveis. Espera-se que outros resultados, como processos, insumos e cultivares, entre outros passíveis de proteção intelectual, sejam alcançados na medida em que o conhecimento gerado seja aplicado em soluções tecnológicas. Consequentemente, as áreas de comunicação e de transferência de tecnologias terão papel cada vez mais relevante na programação do Arranjo HLB.

Em conclusão, o HLB continua e deverá continuar sendo um problema de solução complexa nos próximos anos, ameaçando a sustentabilidade da citricultura como conhecemos. Soluções de resistência genética constituem a estratégia mais promissora em longo prazo, para as quais parcerias são fundamentais, visando ao andamento a contento das atuais e de novas iniciativas. O desafio para o controle do HLB pode ser ilustrado por considerações realizadas durante o ICC: a solução definitiva do HLB é um marco histórico sem precedente na Ciência Agrônômica ("*That's an unprecedented paramount milestone in Plant Science*").

Representação das Unidades na RT

- Eduardo Augusto Girardi – Embrapa Mandioca e Fruticultura
- Eduardo Sanches Stuchi – Embrapa Mandioca e Fruticultura
- Juliana Freitas-Astua – Embrapa Mandioca e Fruticultura
- Fábio de Lima Gurgel – Embrapa Amazônia Oriental
- Luiz Alexandre Nogueira de Sá – Embrapa Meio Ambiente
- Márcio Martinello Sanches – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Resumos científicos [XIII International Citrus Congress (2016: Foz do Iguaçu, Brazil)].

Abstract Book / Editors: Dirceu Mattos Jr. ... [et al.]. Campinas: IAC; Londrina: IAPAR, 2016. 238 p. Disponível em: <http://www.icc2016.com/images/icc2016/downloads/Abstract_Book_ICC_2016.pdf>. Acesso em 01/11/2016]

Durante o ICC 2016, a equipe da Embrapa, nas suas diversas Unidades e linhas de pesquisa, em parceria com diferentes instituições de pesquisa, apresentou 19 resumos científicos versando especificamente sobre resultados relacionados ao HLB e associados a projetos componentes do Arranjo HLB, os quais serão expostos a seguir. Outros 10 resumos foram também apresentados, estes sobre ampla gama de assuntos de interesse da citricultura. Além da realização da RT do Arranjo HLB, a Embrapa contribuiu, na programação do ICC, com duas palestras técnicas, respectivamente a respeito da percepção dos consumidores sobre organismos geneticamente modificados e da colheita mecanizada, expondo elementos de discussão sobre o impacto do HLB, bem como um *workshop* para tratar do tema “HLB e interações porta-enxerto/sistema radicular” e a coordenação de três sessões científicas. A estratégia de inserção da RT durante a realização do ICC se mostrou apropriada, na medida em que a produção científica foi apresentada no mais importante evento do setor, com otimização do uso de recursos e permitindo bom grau de divulgação e, principalmente, interação com a comunidade citrícola nacional e internacional.

CHARACTERIZATION OF CITRUS FARMS PRODUCTION SYSTEMS USED IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

Sulzbach M, Oliveira RP, Waquil PD, Girardi EA, Gonzatto MP & Schwarz SF
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; Embrapa
Clima Temperado, Pelotas, RS e Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA,
Brazil; e-mail: pgonzatt@gmail.com

Brazil is the second world largest citrus producer and the State of Rio Grande do Sul is the sixth largest national producer, with about 570 thousand tons of citrus fruits in 2013. The state's citrus chain has different characteristics, consisting mostly of small family-based farms. This study aimed to diagnose the production system used in RS, through a structured questionnaire composed of 18 questions to 163 growers, residents in 35 locations in the RS. The selected locations have the citrus industry as an important activity for the local economy and the number of interviewed farmers varied according to the existing cultivated area in each. The interviewed farmers in each city were selected by non-probability sampling and convenience and the information obtained was planned, generating quantitative and qualitative data. There were features prevalent in the visited farms, such as aging of the rural population, low level of education of growers, mainly family labor employment and concern about the shortage of work observed in rural areas. However, they resented long experience in the citrus activity and obtain good yields, similar to the average recorded in the State.

Financial support: CAPES and CNPq.

Keywords: citriculture; diagnosis; family farming.

EXPLORATORY SEARCH FOR BIOLOGICAL CONTROL AGENTS OF THE ASIAN CITRUS PSYLLID *Diaphorina citri*

Lan S¹, Radabaugh G², Morgan DJW² & Hoddle MS³

¹Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brazil; ²California Department of Food and Agriculture (CDFA), Riverside, CA, USA; ³University of California, Riverside, CA, USA; e-mail: luiz.sa@embrapa.br

Brazil is the largest producer of oranges and second largest producer of citrus, accounting for 30% of world production of orange, 50% of orange juice and 85% of the world market of this commodity valued at US\$ 14.6 billion per year and is responsible for generating 350,000 jobs in the country. Huanglongbing disease (HLB), caused by the phloem bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., is the biggest threat to the country's citrus industry. HLB is already present in the African, American (North, Central and South) and Asian continents. In Brazil, it was detected in 2004 in the *State of* São Paulo. The aim of this research was to carry out exploratory search for biological control agents of *D. citri*, focusing on the parasitoid *Diaphorencyrtus aligarhensis* in California, USA. The rearing methodology of the pest consisted of cages containing seedlings of *Murraya paniculata*. A population of over 1,000 adults of the pest under controlled conditions (temperature 24 ± 2 °C, RH $70 \pm 10\%$ and photoperiod 14:10) was developed. The parasitoid was imported on Sept, 28th 2015 from Riverside-CA (as Permit MAPA No. 431/2015). Only four adults of *D. aligarhensis* imported emerged and it was not possible to establish population of this bioagent in quarantine laboratory. The procedures will be repeated as more individuals are imported in 2016.

Financial support: Embrapa, CDFA and UC Riverside.

Keywords: quarantine facilities; classical biological control; parasitoid.

INHIBITOR OF CYSTEINE PROTEASE AND MORTALITY OF

Diaphorina citri

Marinho-Prado JS, Palomo YIFA, Garcia PTM, Venâncio L & Sá LAN
Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brazil; e-mail: luiz.sa@embrapa.br

The Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), is considered an important pest of citrus by its ability to transmit the HLB disease. Thus, the aim of this study was to evaluate the potential of protease inhibitors for the control of this insect. The tests were performed with *Murraya paniculata* plants. The following aqueous solutions were applied: (1) distilled water (control), (2) Triton X-100 (0.1 mL L⁻¹) and (3) cysteine proteinase inhibitor E-64 (0.05 mg mL⁻¹) and Triton X -100 (0.1 mL L⁻¹). Four treatments were performed: solutions (1), (2) and (3) were applied four days before the release of the insects on the plants and for the last treatment, solution (3) was applied immediately before the insect's release. The solutions were applied to the stem of the plant, 20 mL per plant. Were used five plants per treatment. Ten adults of *D. citri* were released on each plant after four hours of starvation. Each plant was maintained in a cage and mortality was observed for five days. The data was analyzed by Tukey test ($p > 0.05$). There was no significant difference in mortality of insects among the treatments. Enzymatic analysis showed that there is enzymatic activity of cysteine proteases in the *D. citri* midgut; thus, the low mortality after ingestion of this compound may indicate the need to adapt the bioassay method.

Financial support: Embrapa.

Keywords: E-64; Asian citrus psyllid; huanglongbing

ANALYSIS OF ENVIRONMENTAL IMPACT INDICATORS, BEST MANAGEMENT PRACTICES AND TECHNOLOGY ADOPTION FOR HLB CONTROL – THE VIEW OF ORCHARD TECHNICAL MANAGERS

Rodrigues GS¹, Stuchi ES², Albuquerque AFA², Barizon RRM¹ & Girardi EA²

¹Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brazil; ²Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; e-mail: eduardo.girardi@embrapa.br

This study refers to the assessment of environmental impacts caused by the incidence of HLB in Brazil, as well as the adoption of Good Management Practices (GMP) and specific actions of disease control, according to the verification of indicators carried out with groups of technical consultants in citrus. The multicriteria analysis (Ambitec-Agro method) comprises indicators for verification of (i) environmental impacts of HLB on citrus production (38 indicators); (ii) adherence to GMP recommended in the Technical Standards for Integrated Citrus Production (NTEPIC, IN no. 42 of 07/07/2008) (89 indicators); and (iii) the adoption of specific technologies for the disease control, based on scientific literature recommendations and the 'ten commandments to control HLB' FUNDECITRUS, 2015) (31 indicators). Thirty technical advisors expressed their knowledge about the average levels of HLB incidence, its impacts and control practices for a productive universe represented by 130.840 ha, corresponding to approximately 67 million plants. The weighted average HLB incidence in these orchards (several producing regions in the country) was estimated at 8.3%, ranging from under 5% to over 20%. The multicriteria weighted index of environmental impacts of disease incidence (scale ± 1) amounted to -0.12, with particular reference to increased use of chemicals and energy consumption. The weighted index of conformity with the NTEPIC reached 69%, while the weighted recommended adoption of HLB control practices reached 58%. Recommendations of actions to mitigate environmental impacts and optimize management practices for HLB control have been proposed, based on these estimates, as guides for improved technical action by the consultants and assisted farmers.

Financial support: Embrapa.

Keywords: impact assessment; HLB control; best management practices.

SURVEY FOR PHYTOPLASMAS AND *Candidatus Liberibacter* FROM HLB-SYMPTOMATIC CITRUS PLANTS IN BRAZIL

Sanches MM¹, Wulf NA², Ferreira EA³, Santos JF⁴, Angarten MBO⁵, Carbonari JJ⁶, Oliveira RP⁷ & Martis OM¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brazil; ²Fundecitrus, Araraquara, SP, Brazil; ³Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), Lavras, MG, Brazil; ⁴ADAB, Alagoinhas, BA, Brazil; ⁵Seagri, Brasília, DF, Brazil; ⁶MAPA, Porto Alegre, RS, Brazil; ⁷Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brazil; e-mail: marcio.sanches@embrapa.br

The huanglongbing (HLB) is the most important citrus disease in the world. In Brazil, phytoplasmas from 16SrIX group were associated with symptomatic-HLB citrus plants in both States of São Paulo and Bahia in *Ca. Liberibacter*-free plants. This work had the objective to investigate the presence of phytoplasmas in HLB-symptomatic citrus plants in other regions of Brazil to monitor the spread of these phytoplasmas and their association with *Ca. Liberibacter*. Leaves of sweet orange, lemon and mandarin from commercial citrus orchards in the States of RS (Southern region), MG (southeastern region), DF (Midwestern region) and BA (northeastern region) with typical HLB-symptoms were collected and submitted to diagnosis. The PCR or qPCR with specific primers for *Ca. Liberibacter asiaticus/ americanus* and 16SrIX phytoplasma were used. No phytoplasmas were detected in 102 samples collected from 130 citrus orchards. The *Ca. Liberibacter asiaticus* was detected in MG in the regions of Bonfim, Campanha and Perdões. There was no detection of *Ca. Liberibacter* in RS, DF and BA, currently HLB-free areas. The survey will continue in order to elucidate the importance of phytoplasmas in HLB-symptomatic citrus plants.

Financial support: Embrapa.

Keywords: 16SrIX-Phytoplasma; *Ca. Liberibacter*; huanglongbing.

COMPARATIVE ANALYSIS OF PROTEIN PROFILES OF TWO CITRUS GENOTYPES INFESTED BY *Diaphorina citri*

Oliveira TM, Aguiar AS, Guedes MS, Castro NMG, Pereira FM, Filho MAC, Gesteira AS, Fancelli M & Micheli F

Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, BA, Brazil; Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), Cruz das Almas, BA, Brazil; Cirad, UMR AGAP, Montpellier, France; e-mail: tmaga21b@gmail.com

The psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) is an important pest of citrus, it is the vector of bacteria causing the huanglongbing (HLB), one of the most severe diseases affecting the global citrus industry. In order to control infestation of plants by *D. citri* and propagation of the bacteria after infestation, it is important to know the molecular response of the host in response to such infestation. In this work, a comparative analysis of protein profiles was carried from leaf tissue of two citrus genotypes present in the Active Germplasm Bank of Embrapa Cassava and Tropical Fruits (Cruz das Almas - BA), by two dimensional electrophoresis. The protein profiles were obtained in Sunki Maravilha (*Citrus sunki* hort. ex. Tanaka) and Valencia (*Citrus sinensis*) infested and not infested by *D. citri*. A total of 543 spots were detected in Valencia. Among them, 129 spots were common to both treatments, 191 spots were exclusive of infestation treatment with the psyllid and 223 spots were exclusive of the control condition. In Sunki Maravilha, 898 spots were identified, 62 spots were common to treatment, 249 spots were exclusive of the infestation treatment with the psyllid and 337 spots were exclusive of the control. The data revealed protein changes in genotypes in response to infestation by *D. citri*. Proteins whose abundance has changed or proteins exclusive of each infestation treatment will be identified by mass spectrometry and could be targets for the development of the pest management methods.

Financial support: Embrapa Mandioca e Fruticultura and CNPq.

Keywords: citrus; 2D PAGE; differentially expressed.

YIELD AND HUANGLONGBING PROGRESS AT FOUR TREE SPACINGS OF SWEET ORANGE

Stuchi ES¹, Girardi EA¹, Laranjeira FF¹ & Bassanezi RB²

¹Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; ²Fundecitrus, Araraquara, SP, Brazil; e-mail: francisco.laranjeira@embrapa.br

The current HLB management consists of using healthy nursery trees, symptomatic trees eradication and the vector control under a regionally coordinated program. Additional cultural practices that increase and anticipate economical return are preferable under HLB constraint, such higher tree densities. The influence of tree spacing on HLB progress is not well studied. We evaluated fruit yield and HLB progress of Valencia sweet orange on Swingle citrumelo planted at 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0 x 2.0 m under rain-fed cultivation in Bebedouro-SP, Brazil. Monthly insecticide sprays were applied for the vector control. HLB incidence was estimated as the proportion of symptomatic trees identified at different intervals during six years from planting. Experimental site was randomized blocks, with 3 rows of 25 trees within six replications. In the first four harvests, fruit yield was positively correlated to the planting density, ranging from 37.9 to 62.7 t ha⁻¹, whereas average fruit production per tree was equivalent. HLB incidence was higher and the disease progress faster at lower planting densities (Cox Proportional-Hazards Regression, $p = 0.0017$). First symptomatic trees were found 20 months after planting, with eradication. HLB incidence after six years was ~49% for 4.0 and 5.0 x 2.0 m and ~60% for 6.0 and 7.0 x 2.0 m. Under vector control, primary infection is more relevant for HLB dissemination; as a result, high density plantings lead to lower proportion of infected trees considering the same number of invading vectors. The psyllid dispersion is also disfavored by the proximity of the trees due to barrier effect and lower wind movement within the rows. Larger areas with trees at different ages should be evaluated to test these hypotheses with impact on HLB management.

Financial support: FAPESP, Fundecitrus and Embrapa.

Keywords: HLB incidence; high density planting; survival analysis.

GENETIC STRUCTURE OF *Candidatus Liberibacter asiaticus* IN BRAZIL: THE GEOGRAPHIC REGIONS AND HOST EFFECTS

Bovanaes L¹, Stuchi ES², Safady NG², Francisco CS³, Gil MCS³ & Coletta-Filho HD³

¹UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP, Brazil; ²Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; ³Instituto Agronômico (IAC), Centro de Citricultura, Cordeirópolis, SP, Brazil; e-mail: helvecio@centrodecitricultura.br

Citrus huanglongbing (HLB) disease was emerged as a primary threat to citrus production worldwide associated with the phloem-limited and psyllid-vectored bacterial (*Candidatus Liberibacter asiaticus* – CLAs). In Brazil the HLB was first reported on 2004 and quickly spread for all geographic regions of Sao Paulo State (SPS), Parana (PR) and Minas Gerais (MG). However, information about genetic diverse of this bacterial is poorly known. Here we tested the H₀: both different geographic regions and citrus species shape the genetic diversity in CLAs populations. To test total DNA from 200 infected plants was PCR amplified by 9 sets of forward-label florescent dye microsatellites primers. Moderately low levels of genetic diversity (H_{Nei} = 0.11 to 0.26) were observed through all populations. By Wright's F-statistics (F_{ST}) no statistic difference was observed among CLAs populations from all 7 previously subdivide geographic regions of SPS and from MG (F_{ST} < 0.088). But significant F_{ST} values (0.118-0.199) were obtained for CLAs population from PR compared against SPS and MG. On the other hand, highest and significant values for F_{ST} index (0.290-0.455) were observed comparing CLAs populations from sweet orange tress from SPS, MG and PR against the populations from different citrus species grown at Southeast region of SPS. The same results were obtained by both Bayesian- and principal coordinate analysis. All CLAs isolates were clustered in three genetically different populations composed by isolates from: 1. all SPS regions plus MG, 2. PR and 3. different citrus species. In conclusion, after a decade of HLB outbreak in Brazil genetically homogenous populations of CLAs infecting sweet orange were observed at different geographic regions, but not for different citrus genotypes.

Financial support: CNPq.

Keywords: greening; Short Sequence Repeats; population genetics.

SURVEILLANCE SYSTEM PLANT HEALTH: HLB PREVENTION PILOT PROJECT IN BAHIA, BRAZIL

Silva SXB, Laranjeira FF, Aguilera GM & Sánchez GA

¹Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), Salvador, BA, Brazil; ²Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; ³Colegio de Postgraduados (COLPOS), Montecillo, México; e-mail: sukabrito@hotmail.com

In Brazil, since 2004, HLB is restricted to the states of São Paulo, Minas Gerais and Paraná. Bahia, the second national orange producer, has 66,413 ha of harvested area. To increase the efficiency of surveillance before the HLB invasion in Bahia, the objective of this work is to implant a guided surveillance system: i) detection inspection (symptomatic hosts and infective vectors); ii) delimitation inspection (focus delimitation); iii) verification tracking (evaluation of actins to eradicate and/or prevent spread). Monthly frequency monitoring in six checkpoints, equally distributed between urban and rural areas producing regions: Litoral Norte, Recôncavo Baiano, Chapada Diamantia and West; and more six points in the metropolitan region of Salvador. Monitoring routes will cover commercial and domestic plantations; nurseries and packing houses. For detection of *Candidatus* L. ssp., the collected samples will be subjected to Polymerase Chain Reaction (PCR). To positive results, the Contingency Plan will be used. In Phase-I at a cost of US\$ 75,000, the project foresees the development of a web platform for making data and generation of information for the plant protection agency and production sector.

Financial support: SBDA and COLPOS.

Keywords: plant health; agricultural defense; huanglongbing.

SOLF – SYSTEM FOR DATA ACQUISITION IN OLFACTOMETER BIOASSAYS

Sousa MR, Silva TSM, Girardi EA, Coelho-Filho MA & Fancelli M
Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil;
e-mail: marilene.fancelli@embrapa.br

Olfactometer bioassays are useful for studying the behavioral responses of insects to volatiles of different sources: host or non-host plants, other insects or to synthetic blends. Data collection must reflect the shift in the insect behavior as it is affected by the sources of odor. The software SOLF (system for data acquisition in olfactometer bioassays) was developed by a team belonged to the Vegetal Ecophysiology Lab at Embrapa Cassava & Fruits as a demand of a project titled "Biological control and alternative technologies for the management of the *Citrus Psyllid*", part of the research activities inserted in an arrangement of Embrapa focused at the huanglongbing citrus management. This software is applied to collect and manage the results obtained in olfactometer bioassays conducted with *Diaphorina citri* Kuwayama and also with other insect species. Before the implementation of SOLF, data collection in olfactometer bioassays was manually transcript in lab notebooks. The main benefits of SOLF are the automatization and optimization of data acquisition process during the olfactometry bioassays, which turns the acquisition of data faster, more efficient and less subject to error, leading to a better control of the process.

Financial support: Embrapa.

Keywords: software; VOC's; insect behavior

DEVELOPMENT OF TAHITI ACID LIME [*Citrus latifolia* (YU. TANAKA) TANAKA] BUDDED TREES IN COMBINATION WITH DIFFERENT ROOTSTOCKS

Gurgel FL¹, Almeida MLM², Maximo GAS², Santa-Brígida MRS², Girardi EA³ & Soares Filho WS³

¹Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, Brazil; ²Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão Poço, PA, Brazil; ³Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; e-mail: fabio.gurgel@embrapa.br

The study evaluated in the municipality of Capitão Poço, PA, Brazil, the development of Tahiti acid lime budded trees in combination with eight rootstocks selected by the Citrus Breeding Program of Embrapa Cassava & Fruits - CBP, namely: Sunki Tropical mandarin, Indio citrandarin, besides the hybrids HTR - 053, TSKC x (LCR x TR) - 059, TSKC x (LCR x TR) - 073, TSKC x TRFD - 003, TSKC x TRFD - 006 and LVK x LCR - 038. Morphological evaluations were carried out on the development of nucellar seedlings of the different rootstocks and check the percentage of success in grafting. The characters evaluated at the development phase of rootstocks were: plant height, stem diameter, number of leaves and number of thorns. The genotypes that stood out for these traits were 'Indio' citrandarin, TSKC x (LCR x TR) - 059 and TSKC x TRFD - 006. Rootstocks that had greater success in grafting were: TSKC x (LCR x TR) - 059 with 100% success, TSKC x (LCR x TR) - 073 with 98,1% success and LVK x LCR - 038 with 96,9% success.

Financial support: Fazenda Lima and Embrapa.

Keywords: *Citrus* spp.; *Poncirus trifoliata*; hybrids

MORPHOAGRONOMIC CHARACTERISTICS OF TAHITI ACID LIME [*Citrus latifolia* (YU. TANAKA) TANAKA] BUDDED TREES IN COMBINATION WITH DIFFERENT ROOTSTOCKS

Gurgel FL¹, Almeida MLM², Maximo GAS², Santa-Brígida MRS², Girardi EA³ & Soares Filho WS³

¹Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, Brazil; ²Universidade Federal Rural de Amazônia, Capitão Poço, PA, Brazil; ³Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; e-mail: fabio.gurgel@embrapa.br

A decisive factor in the implementation of a commercial orchard is the proper selection of varieties, scions and rootstocks, besides the correct choice of the budded trees.

This study aimed to evaluate, in the municipality of Capitão Poço-PA, the vegetative growth of Tahiti acid lime budded trees in combination with eight rootstocks selected by the Citrus Breeding Program of Embrapa Cassava & Fruits - CBP, namely: Sunki Tropical mandarin, Indio citrandarin, besides the hybrids HTR - 053, TSKC x (LCR x TR) - 059, TSKC x (LCR x TR) - 073, TSKC x TRFD - 003, TSKC x TRFD - 006 and LVK x LCR - 038. The grafting method was the budding, utilizing buds of a local Tahiti variety. The characters evaluated were height of the budded trees, basal stem diameter of the budded trees, stem diameter below the grafting line and stem diameter above the grafting line. The rootstocks that determined best vegetative development to the budded trees of 'Tahiti acid lime were: 'Indio' citrandarin, LVK x LCR - 038 and TSKC x TRFD - 006.

Financial support: Fazenda Lima and Embrapa.

Keywords: *Citrus* spp.; *Poncirus trifoliata*; hybrids.

DEVELOPMENT OF A NON-TRANSGENIC RNAI TO CONTROL INSECT PEST IN CITRUS

Andrade EC & Hunter WB

Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil;

e-mail: eduardo.andrade@embrapa.br

RNA interference (RNAi) is a gene regulating mechanism in eukaryotes, resulting in sequence-specific degradation of RNAs. Recent scientific studies demonstrate the feasibility of use RNAi-based strategies to control insect pest in plants. Our are focus on development of non-transgenic RNAi-based approaches to control insects. In citrus, the Asian citrus psyllid (ACP), vector of HLB and the *Diaprepes abbreviatus* (citrus root weevil, CRW), a chewing pest that affects both roots and leaves. In order to develop RNAi approach to control ACP and CRW, we screened dsRNA molecules designed its transcripts. Each dsRNA was tested in feeding bioassay designed for each insect. For ACP, dsRNA was absorbed in citrus flush for 24hrs and caged with adults. For CRW a dsRNA solution was sprayed over a leaf bouquet and caged with 20 adults. Insect mortality was scored for 15 (ACP) and 20 days (CRW). Results obtained shows that insect mortality varied among dsRNAs molecules. ACP mortality started at 6-7dpf, with higher rates achieved with dsRNA ENRG-1, DETOX-1 and MET-1. CRW mortality started 7dpf, with mortality induced by dsRNA "S" reaching 100% after 20 days. These results indicate that ACP and CRW are susceptible to orally ingested dsRNA, opening a possibility to use nontransgenic RNAi strategies to control both insects.

Financial support: Embrapa Labex and USDA/ARS.

Keywords: huanglongbing; greening; gene suppression.

MOVING TOWARDS NON-TRANSGENIC RNAI-BASED TREATMENTS IN CITRUS

Andrade EC, Hunter WB, Baldwin E & Stover E

Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil;

e-mail: eduardo.andrade@embrapa.br

RNA interference (RNAi) is a breakthrough technology that continues to demonstrate the potential for management of insect pests. To move the development of nontransgenic RNAi approaches to control insects in citrus, studies were established to evaluate the movement and persistence of dsRNA the plants tissues, juice and soil. Potted citrus trees were treated by root drench with up to 200 μg dsRNA or by topical spray on the foliage. Field citrus trees received doses of 200 mg of dsRNA applied to root zone. Raw juice, 20L, was spiked with dsRNA to a final concentration of 10 ng μL . The dsRNA dynamic obtained showed that in potted plants the dsRNA was detected at the top of tree canopy (2 meters tall) as soon as 3hpt and remained detectable up to 40 dpt. DsRNA applied by foliar spray was detected in non-sprayed leaves, showing systemic movement of the molecule. In field trees, dsRNA was detected up to 3 months. The dsRNA was detected in old and new growth and in fruit peel, demonstrating that the dsRNA moves to new growing tissues. Although the dsRNA was detected on the fruit peel, the persistence of dsRNA in fresh juice was relatively short, being degraded in raw juice after 24 hrs. Preliminary results on soils analysis showed complete degradation of dsRNA in 3days.

Financial support: Embrapa Labex and USDA/ARS.

Keywords: insect control; gene suppression; environmental fate.

PROMISING HYBRID ROOTSTOCKS FOR VALENCIA SWEET ORANGE, IN SOUTHERN BRAZIL

Kirinus MBM, Silva PS, Barreto CF, Malgarim MB, Oliveira RP & Soares Filho WS
Universidade Federal de Pelotas; Embrapa, Brazil; e-mail: marinesfaem@gmail.com

Among the aspects that enable higher crop yield, one of the most important is the use of suitable rootstocks, adapted to the soil and climate conditions of each region. This study proposed to identify, among 13 rootstocks, in Pelotas, South Brazil, those that induce good fruit production and quality to Valencia orange (*Citrus sinensis*). The analyzed variables were: in the field, canopy height (m), canopy volume (m³) and production efficiency (kg m⁻³); in the fruits, diameter (mm), integral weight (g), juice (%), pH, titratable acidity (TA), soluble solids (SS), ascorbic acid (AA). In field analysis, rootstocks HTR207, TSKC x CTQT1439035 and TSKC x CTQT1434 004 had lower canopy height and volume and the HTR207 rootstock showed better production efficiency. In fruit analysis, the rootstock that showed more significant diameter was LVK x LCR010 and the integral weight was TSKC x TRBK007. The juice level was higher for the rootstock HTR207. The pH did not vary significantly among the rootstocks analyzed. The rootstock which was found smaller AT and SS levels was the LVK x LCR010, while rootstocks TSKC x TRDP023, HTR207 and TSKC x CTQT1439 035 achieved high SS content levels. Rootstocks TSKC x CTTR028 and TSKC x TRDP 023 showed higher AA levels. In this evaluation rootstocks provided positive changes in Valencia sweet orange tree production and fruit quality. In general, the rootstock HTR207 stood out in relation to the others.

Financial support: CNPq, CAPES and Embrapa.

Keywords: hybrid; citrus; quality

POTENTIAL ROOTSTOCKS FOR VALENCIA SWEET ORANGE UNDER RAIN-FED CULTIVATION IN NORTHERN SÃO PAULO STATE, BRAZIL

Costa DP, Stuchi ES, Girardi EA, Ramos YC, Fadel AL, Passos OS, Gesteira AS & Soares Filho WS

Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; e-mail: eduardo.stuchi@embrapa.br

Northern Sao Paulo is characterized by high citrus sudden death (CSD) and blight pressure. Sweet orange varieties budded on Rangpur lime are eliminated by CSD in the region. On the other hand, CSD tolerant rootstocks usually demands supplementary irrigation. Therefore, alternative rootstocks must be CSD tolerant, induce high yield of fruits with juice quality sufficient for NFC and preferably be drought tolerant and decrease tree size, allowing high densities plantings and lower harvesting labor costs. These traits were evaluated for Valencia sweet orange on 25 hybrid rootstocks plus Dancy mandarin and the standard rootstock, Santa Cruz Rangpur lime (SCRL). *Citrus sunki*, *C. reshni*, *C. volkameriana*, *C. limonia*, *C. sinensis* and *Poncirus trifoliata* were the main parental of the evaluated hybrids. The experimental trial was carried out in Colombia, SP, Brazil, from 2009 to 2015 under rainfed cultivation. At 7 years-old, 74% of the rootstocks showed tree size similar or larger than SCRL whereas the remaining reduced tree size from 75 to 8% related to SCRL. Sacaton citrumelo was dwarfing and hybrids of *C. volkameriana* x *C. limonia* were semi-dwarfing. All rootstocks produced SS varying from 9.90 to 11.19 °Brix and maturation index (SS/acidity) from 13.32 to 18.66. No symptoms of blight, CSD or graft incompatibility were observed in trees up to 7 years old. A selection index was applied to the data considering mean yield per plant (2011-2015), yield efficiency (kg m⁻³, YE, 2011-2014) and the technological index (kg SS box⁻¹, TI, mean of 2012, 2013 and 2015). Twelve rootstocks had outperformed SCRL, but only four (citrange 25 and *C. reshni* x *P. trifoliata* Swingle 224, 287 and 71158) congregated lower tree size and YE, soluble solids (SS) and TI superior to SCRL.

Financial support: CAPES, Embrapa, UESC, EECB and Santa Maria Farm.

Keywords: varieties; breeding; citrus sudden death.

HLB AND CITRUS ROOTSTOCKS: WHAT THE GREENHOUSE AND FIELD ASSAYS TELL US?

Stuchi ES, Coletta-Filho HD, Santos M & Mourão Filho FAA

Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; IAC, Centro de Citricultura; Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, SP, Brazil; e-mail: eduardo.stuchi@embrapa.br

Huanglongbing (HLB), caused by *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs), is a highly destructive disease for citrus. Results suggest that rootstock variety can influence HLB intensity. We conducted field evaluations of HLB incidence on different scion and rootstock combinations. In greenhouse experiments (GE) we evaluated the response of 16 rootstock varieties budded with Valencia sweet orange (VSO) inoculated with CLAs infected budwood. Differences in HLB cumulative incidence (CI) were observed. Folha Murcha and São Miguel oranges had the lowest CI of 5.9 and 5%, respectively, when budded on Sunki mandarin and the highest on Rangpur lime, 81 and 47.8%, respectively. Folha Murcha, Natal and Valencia sweet oranges, Persian lime and Okitsu satsuma on Flying Dragon trifoliolate orange had a relatively low CI (<12%). In GE, fresh weight of root system (FWRS) was measured. Bacterial colonization in the VSO and as well as in the rootstock was monitored by qPCR at 8, 12 and 16 months after inoculation. CLAs-infected combinations reached reduction of FWRS of 55.3% compared to non-infected trees. Reduction of FWRS was less than 15% for CLAs-infected trees compared to non-infected trees for a few combinations, including on tetraploid Carrizo citrange (13.5%). CLAs root colonization differed among rootstock varieties in relation to their root loss, i.e., tetraploid Carrizo citrange had the lowest of bacterial tier in roots compared to other rootstocks. However, no significant difference of CLAs tier was observed in the Valencia scion on any of the rootstock varieties. Although these results demonstrate the potential effect of rootstock variety on HLB intensity and severity in the scion, further studies are necessary to better understand these relationships.

Financial support: CAPES, EECB and FAPESP.

Keywords: breeding; HLB tolerance; q-PCR.

SEMI-DWARFING ROOTSTOCKS FOR VALENCIA SWEET ORANGE UNDER RAIN-FED CULTIVATION IN NORTHERN SÃO PAULO STATE, BRAZIL

Costa DP¹, Stuchi ES², Girardi EA², Ramos YC², Vanucci ALS³, Leão HC³, Barbosa JC⁴, Maldonado Jr W⁴, Passos OS², Gesteira AS² & Soares Filho WS²

¹Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, BA, Brazil; ²Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil, Cruz das Almas, BA, Brazil; ³Citrosuco Agropecuária S/A, Matão, SP, Brazil; ⁴Univesidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Jaboticabal, SP, Brazil; e-mail: walter.soares@embrapa.br

Desired traits for new citrus rootstocks in Brazil include high yield of fruits with juice quality sufficient for NFC, drought tolerance and decreased tree size. These characteristic were evaluated for Valencia sweet orange on 44 citrus hybrids plus two standard rootstocks, Santa Cruz Rangpur lime (RL) and Tropical Sunki mandarin (SM). Rootstock parents consisted of mainly *Citrus sunki*, *C. limonia* and *Poncirus trifoliata*. The experimental trial was carried out in Colombia, SP, Brazil, from 2007 to 2015 under rainfed cultivation. At 9 years-old, 37% of the hybrids had similar or larger tree size compared to RL, while the remaining rootstocks reduced tree size from 50% to 20%. Five vigorous hybrids were selected for conventional planting with higher fruit yield, soluble solids (SS, kg per 40.8 kg box) and yield efficiency (kg of fruit per m³ of canopy volume) compared to RL and SM. Eight semi-dwarfing hybrids outperformed the standards and are indicated for high density orchards. All hybrid rootstocks produced SS varying from 10.58 to 12.62 °Brix and maturation index (SS/acidity) from 15 to 20. No symptoms of blight, sudden death or graft incompatibility were observed in trees up to 9 years-old. Drought tolerance based on leaf wilting rating positively correlated with fruit yield. The selection of new rootstocks that conjugate high yield and drought tolerance may consist in an appropriate method of indirect selection for HLB-tolerant rootstocks in drought stricken regions. HLB causes root loss and more severe damage under biotic and abiotic stresses and practices that favor root growth or preservation improve resilience of symptomatic trees. Therefore, yield maintenance in such regions under HLB constraint may rely on the use of drought-tolerant rootstocks.

Financial support: CAPES, Embrapa, Citrosuco, UESC and EECB.

Keywords: drought tolerance; hybridization; huanglongbing.

LIBERIBACTER MOVEMENT IN CITRUS SCION AND ROOTSTOCK

Raiol Jr LL¹, Silva PAA², Carvalho EV³, Girardi EA⁴ & Lopes SA²

¹UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP, Brazil; ²Fundecitrus, Araraquara, SP, Brazil; ³UFRRB and ⁴Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brazil; e-mail: silvio.lopes@fundecitrus.com.br

The process by which *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) colonizes the phloem of citrus trees is not well understood. Therefore, the CLAs pathway in the scion and rootstock was investigated for potted 1.5-yr-old Pera sweet orange on Rangpur lime trees. Half of the trees were girdled (GP) and half remained intact (IP). Girdling consisted of removing a 1-cm-wide bark ring from all the stem perimeter, 20 cm above the scion/rootstock junction. One CLAs-positive budstick (inoculum) was then grafted on one of two opposite shoots left on the scion, or on the rootstock below the girdling site. Leaves collected from the inoculated and non-inoculated scion shoots and from a non-inoculated rootstock sucker, were analyzed by qPCR 120 days later. On IPs (scion- or rootstock-inoculated), CLAs was found at all sampled sites. On scion inoculated GPs, CLAs was detected in the inoculated shoot only. On rootstock-inoculated GPs, CLAs was found below the girdling site only. The lack of detection of CLAs in the non-inoculated scion shoot of GPs indicates that CLAs does not move laterally within the canopy and suggests that the bacterial movement from the inoculated to non-inoculated side of a citrus tree occurs via the rootstock. However, girdling induced starch accumulation in leaves, first noticed at 30 days post-inoculation, may have influenced sap flow and, consequently, CLAs movement.

Financial support: FAPESP.

Keywords: HLB; qPCR; inoculation.



Mandioca e Fruticultura

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 14024