

Levantamento de huanglongbing (HLB) em citros  
no Brasil e diagnose dos agentes etiológicos



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento*

**BOLETIM DE PESQUISA  
E DESENVOLVIMENTO  
337**

**Levantamento de huanglongbing  
(HLB) em citros no Brasil e diagnose  
dos agentes etiológicos**

*Márcio Martinello Sanches  
Nelson Arno Wulff  
Michele Regina Lopes Silva  
Rui Pereira Leite Júnior  
Ester Alice Ferreira  
Jumara Fernandes dos Santos  
Marcelo Lopes-Silva  
Marília Bittencourt de Oliveira Angarten  
Alessandra Keiko Nakasone Ishida  
Roberto Pedroso de Oliveira  
Bruna Eliza Gonçalves de Luccas  
Jairo João Carbonari  
Olinda Maria Martins*

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Brasília, DF  
2018**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Parque Estação Biológica  
PqEB, Av. W5 Norte (final)  
70970-717, Brasília, DF  
Fone: +55 (61) 3448-4700  
Fax: +55 (61) 3340-3624  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações  
da Unidade Responsável

Presidente  
*Marília Lobo Burle*

Secretária-Executiva  
*Ana Flávia do N. Dias Côrtes*

Membros  
*Antonieta Nassif Salomão; Diva Maria Alencar Dusi; Francisco Guilherme V. Schmidt; João Batista Teixeira; João Batista Tavares da Silva; Maria Cléria Valadares Inglis; Rosamares Rocha Galvão; Tânia da Silveira Agostini Costa*

Supervisão editorial  
*Ana Flávia do N. Dias Côrtes*

Revisão de texto  
*João Batista Teixeira*

Normalização bibliográfica  
*Rosamares Rocha Galvão*

Tratamento das ilustrações  
*Adilson Werneck*

Projeto gráfico da coleção  
*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica  
*Adilson Werneck*

Foto da capa  
*Acervo Embrapa*

**1ª edição**  
1ª impressão (ano): tiragem

**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 Recursos Genéticos e Biotecnologia

---

Levantamento de HLB em citros no Brasil e diagnose dos agentes etiológicos /  
Márcio Martinello Sanches... [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos  
e Biotecnologia, 2018.

21 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos  
e Biotecnologia, 337).

1. Doença de citros. 2. Huanglonabing (HLB) 3. 'Ca. Liberibacter'. 4. *Candidatus Liberibacter asiaticus* I. Sanches, Márcio Martinello. II. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. III. Série

634.3 – CDD 21

## Sumário

---

Resumo .....	5
Abstract .....	7
Introdução.....	8
Material e Métodos .....	10
Resultados e Discussão .....	12
Conclusões.....	16
Agradecimentos.....	16
Referências .....	17



## Levantamento de huanglongbing (HLB) em citros no Brasil e diagnose dos agentes etiológicos

Márcio Martinello Sanches<sup>1</sup>

Nelson Arno Wulff<sup>2</sup>

Michele Regina Lopes Silva<sup>3</sup>

Rui Pereira Leite Júnior<sup>4</sup>

Ester Alice Ferreira<sup>5</sup>

Jumara Fernandes dos Santos<sup>6</sup>

Marcelo Lopes-Silva<sup>7</sup>

Marília Bittencourt de Oliveira Angarten<sup>8</sup>

Alessandra Keiko Nakasone Ishida<sup>9</sup>

Roberto Pedroso de Oliveira<sup>10</sup>

Bruna Eliza Gonçalves de Luccas<sup>11</sup>

Jairo João Carbonari<sup>12</sup>

Olinda Maria Martins<sup>13</sup>

**Resumo** – O huanglongbing (HLB) é a doença de citros mais importante no mundo. No Brasil tem como agentes etiológicos ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ e ‘*Ca. Liberibacter americanus*’. Também há associação de fitoplasmas do grupo 16SrIX com sintomas de HLB, porém tratando-se de outro patossistema. No Brasil, ‘*Ca. Liberibacter*’ é uma praga regulamentada com

---

<sup>1</sup> Biólogo, Dr. em Proteção de Plantas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup> Biólogo, Dr. em Microbiologia agrícola, Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus)

<sup>3</sup> Bióloga, Dr. em Fitopatologia, Área de Proteção de Plantas, Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR)

<sup>4</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Dr. em Fitopatologia, Área de Proteção de Plantas, Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR)

<sup>5</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Dr. em Fruticultura, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG-MG)

<sup>6</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB)

<sup>7</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Dr. em Entomologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>8</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvol. Rural do DF (Seagri-DF)

<sup>9</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Dr. em Fitopatologia, Embrapa Amazônia Oriental

<sup>10</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Dr. em Ciências, Embrapa Clima Temperado

<sup>11</sup> Bióloga, Centro Universitário de Brasília (UNICEUB)

<sup>12</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

<sup>13</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Dr. em Fitopatologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

o status de quarentenária presente nos Estados de São Paulo (SP), Minas Gerais (MG) e Paraná (PR). Este levantamento teve como objetivos identificar a presença de plantas com sintomas de HLB em pomares de citros e realizar a diagnose dos agentes etiológicos. Pomares de laranja doce, limeira e tangerineira nos Estados da Bahia (BA), Pará (PA), Rio Grande do Sul (RS), Minas Gerais (MG) e Paraná (PR), e no Distrito Federal (DF), foram inspecionados para sintomas semelhantes a HLB e amostras de folhas, frutos e insetos vetores foram coletadas e submetidas à diagnose. As regiões afetadas pelo HLB nos Estados de São Paulo e Minas Gerais (Triângulo Mineiro) não foram amostradas pelo maior histórico de ocorrência da doença. Foram realizados testes PCR ou qPCR com primers específicos para 'Ca. Liberibacter asiaticus/americanus' e 'Ca. Phytoplasma spp.'. Um total de 324 amostras foliares e 70 insetos *Diaphorina citri* foram analisados a partir de 252 pomares inspecionados. Houve detecção de 'Ca. Liberibacter asiaticus' nos Estados do Paraná e Minas Gerais, sendo, neste último Estado, encontrado em novas regiões produtoras. Fitoplasmas foram encontrados apenas no DF, com baixa incidência, não acarretando até o momento prejuízos em virtude de confusão de sintomas com HLB. Não houve detecção de 'Ca. Liberibacter asiaticus/americanus' no RS, BA, DF e PA, atualmente áreas livres de HLB.

**Termos para indexação:** Huanglongbing, 'Ca. Liberibacter', *Diaphorina citri*, Fitoplasma 16SrIX .

**Abstract** – The huanglongbing (HLB) is the most important citrus disease in the world. In Brazil it has been caused by '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' and '*Ca. Liberibacter americanus*'. Also, phytoplasmas from 16SrIX group were associated with symptomatic-HLB citrus plants, however, it consists in another pathosystem. In Brazil, '*Ca. Liberibacter*' is a regulated pest present only in São Paulo, Minas Gerais (MG) and Paraná (PR) States. This survey had the objective to identify the presence of HLB symptoms in citrus orchards and to diagnose the etiologic agents. Orchards of sweet orange, lemon and mandarin from Bahia (BA), Pará (PA), Rio Grande do Sul (RS), Minas Gerais (MG) and Paraná (PR) States and Distrito Federal (DF) were inspected to find HLB-like symptoms. Leaves and fruits samples and insect vectors individuals were collected to diagnosis. The regions of São Paulo and Minas Gerais (triângulo mineiro) with longer history of HLB were not sampled. The PCR or qPCR tests with specific primers to '*Ca. Liberibacter asiaticus/americanus*' and phytoplasmas ('*Ca. phytoplasma spp.*') were performed. A total of 324 leaves samples and 70 insects *Diaphorina citri* were analyzed from 252 orchards inspected. It has occurred detection of '*Ca. Liberibacter asiaticus*' in PR and MG, in this last State it was found in new producing regions. Phytoplasmas were found only in DF, with low incidence and no economic losses happened until the moment, due to the similarity of symptoms to HLB. There was no detection of '*Ca. Liberibacter asiaticus/americanus*' in RS, BA, DF e PA, currently HLB-free areas.

**Index terms:** Huanglongbing, '*Ca. Liberibacter*', *Diaphorina citri*, Phytoplasma 16SrIX

## Introdução

---

A citricultura é uma cultura que faz parte do agronegócio brasileiro. É uma das mais importantes do Brasil, sendo que os citros (laranjas, tangerinas, limas e limões) estão entre as frutas mais consumidas pela população, tendo, em consequência, papel fundamental na dieta alimentar dos brasileiros de todas as classes sociais. O Brasil responde por mais de 70% do mercado mundial de suco de laranja e exporta 97% do que produz (Kist et al., 2016). A produção de citros vem sendo realizada em todos os Estados, sob diferentes sistemas de produção, tanto de base familiar quanto empresarial, reflexo da diversidade de clima e de solo das regiões de cultivo, das tecnologias adotadas pelos produtores e das exigências dos diferentes mercados consumidores (sucos e frutas in natura).

Problemas fitossanitários têm causado danos expressivos à citricultura brasileira, ocasionando redução de produção e de qualidade dos frutos e morte de plantas, demandando enormes gastos com defensivos, tratamentos culturais e replantio de pomares. Estima-se que na última década, as pragas e doenças foram responsáveis pela erradicação de 40 milhões de árvores, sendo as principais a Clorose Variegada dos Citros, a Morte Súbita dos Citros, o Cancro Cítrico e o Huanglongbing-HLB (Neves et al., 2010). Essa última é a doença mais destrutiva dos citros e preocupa atualmente citricultores no mundo inteiro. No Brasil a doença tem sido relatada desde 2004 (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005) e restringe-se aos Estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais, sendo o seu agente patogênico uma praga regulamentada presente.

O HLB é causado pelas bactérias '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', '*Ca. L. americanus*' e '*Ca. L. africanus*' limitadas ao floema das plantas e transmitidas pelos insetos vetores *Diaphorina citri* e *Trioza erythrae* (Bové, 2006), sendo que no Brasil ocorre '*Ca. L. americanus*' e '*Ca. L. asiaticus*' ambas transmitidas por *D. citri*. As plantas afetadas exibem folhas mosqueadas (clorose assimétrica) e folhas com sintomas similares aos provocados por deficiências minerais, particularmente de zinco, manganês e ferro. Ocorre também a deformação dos frutos, abortamento de sementes, queda de folhas e de frutos e morte de brotações (Da Graça, 1991). Os agentes causais ('*Candidatus Liberibacter* spp.') e os vetores (*Diaphorina citri* e *Trioza erythrae*) estão em

franca disseminação por todas as regiões citrícolas do mundo, constituindo a principal ameaça à sustentabilidade da cadeia citrícola. 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 na produção e ampliando custos (Girardi et al., 2017).

As variedades comerciais de citros são suscetíveis ao HLB (Boscariol-Camargo et al., 2010; Halbert; Manjunath, 2004) e não há métodos de controle curativos, não sendo recomendada a poda dos ramos afetados (Lopes et al., 2007). Recomenda-se o manejo regional do HLB, com o controle do vetor e erradicação de plantas sintomáticas sistematicamente (Bassanezi et al., 2010).

Os fitoplasmas do grupo 16SrIX foram associados a plantas de citros com sintomas de HLB, mas livres de '*Ca. L. americanus*' ou '*Ca. L. asiaticus*'. A doença foi observada em 11 municípios do Estado de São Paulo no ano de 2007 (Teixeira et al., 2008b). Além desse, outros relatos de fitoplasmas associados a sintomas de HLB ocorreram nos Estados da Bahia e Minas Gerais e também na China e no México (Chen et al., 2009; Lou et al., 2013; Wulff et al., 2015). Mesmo se tratando de doenças e patossistemas diferentes de HLB, a simples presença de sintomas semelhantes ao HLB em plantas infectadas por fitoplasmas pode causar prejuízos em virtude de medidas de erradicação em pomares e da dificuldade de comercialização de frutos.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi investigar a presença de sintomas de HLB em pomares de citros em diferentes regiões do Brasil, com ênfase nas regiões com pouco estudo sobre a ocorrência de fitoplasmas do grupo IX, bem como diagnosticar os agentes etiológicos presentes nas amostras coletadas.

## Material e Métodos

### 1. Amostragem de folhas de citros e de *Diaphorina citri*

As inspeções foram realizadas em pomares comerciais ou caseiros de citros localizados nas diferentes regiões dos Estados de BA, MG, PA, PR, RS e no DF (Tabela 1). As inspeções visuais nos pomares buscaram sintomas típicos de HLB (mosqueado assimétrico nas folhas, folhas com nervuras corticosas, frutos com maturação irregular, frutos deformados, plantas com parte da copa apresentando amarelecimento). A partir de plantas cítricas sintomáticas foram coletadas amostras de frutos e amostras foliares compostas cada uma por dez folhas.

No Estado de RS, na ausência de plantas sintomáticas, efetuou-se a coleta de *Diaphorina citri* capturadas em armadilhas amarelas adesivas afixadas nos pomares. As inspeções foram realizadas em diferentes épocas do ano.

Tabela 1. Número de pomares inspecionados de acordo com a região dos Estados do Brasil

Estado	Região	Nº de pomares inspecionados
BA	Bom Jesus da Lapa e Jaguaripe	2
DF	Núcleo Rural Tabatinga, Núcleo Rural Taquara, Brazlândia	9
MG	Bonfim, Campanha e Perdões	13
PA	Castanhal, Garrafão do Norte, Capitão Poço, Marabá e São Domingos do Araguaia	53
PR	Regiões: Central, Noroeste, Norte, Norte Pioneiro e Sul	65
RS	Vale do Caí, Fronteira Oeste, região Noroeste e Alto Uruguai	110

## 2. Extração de DNA de plantas e insetos

As amostras de plantas e insetos foram submetidas à extração de DNA de acordo com a metodologia descrita por Murray e Thompson (1980). As amostras de folhas de laranja doce, limas ácidas, limões e tangerinas foram lavadas com detergente neutro e após a secagem, a nervura central de 10 folhas da mesma amostra foi picada e macerada. As amostras de insetos foram maceradas diretamente em tampão de extração. Albedos irregulares ou espessos provenientes de frutos sintomáticos também compuseram amostras para serem submetidas à extração de DNA.

## 3. Detecção dos patógenos

A detecção de '*Ca. L. americanus*' e '*Ca. L. asiaticus*' foi realizada por meio da metodologia duplex PCR (Teixeira et al. 2008a) utilizando os primers GB1/GB3 (Teixeira et al., 2005) e A2/J5 (Hocquellet et al., 1999) ou por PCR em tempo real (qPCR) de acordo com Teixeira et al. (2008a).

A detecção do fitoplasma do grupo 16SrIX foi realizada por amplificação por PCR utilizando os primers P1/P7, seguido de Nested PCR com os primers fU5/ rU3 e D7f2/ D7r2 (Seemüller et al. 1994; Lee et al. 1998). A técnica de PCR em tempo real (qPCR) utilizando os primers FITf e FITr e a sonda FITp (Wulff et al., 2015) também foi utilizada. As amostras de *D. citri* foram testadas apenas para presença de '*Ca. L. americanus/asiaticus*'.

## Resultados e Discussão

A bactéria 'Ca. L asiaticus' foi detectada apenas em amostras provenientes dos Estados de Paraná e Minas Gerais (Tabela 2). Não houve detecção de 'Ca. L americanus' ou 'Ca. L asiaticus' nos Estados de BA, PA, RS e no DF, áreas consideradas livres da doença HLB pela legislação do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Instrução Normativa nº59 de 18 de dezembro de 2013).

**Tabela 2.** Detecção de '*Candidatus Liberibacter spp.*' e Fitoplasma em amostras de citros coletadas em diferentes regiões do Brasil.

Região	Número de Amostras	Ca.L asiaticus*	Ca.L americanus*	Fitoplasma* 16SrIX
Alto Paraná-PR	3	2	0	0
Altônia-PR	1	1	0	0
Arapongas-PR	7	4	0	0
Assaí-PR	1	1	0	0
Astorga-PR	1	1	0	0
Bandeirantes-PR	1	1	0	0
Bela Vista do Paraíso-PR	1	0	0	0
Bom Jesus da Lapa-BA	5	0	0	0
Bom Sucesso-PR	2	1	0	0
Bonfim-MG	2	2	0	0
Brazlândia-DF	42	0	0	6
Cambará-PR	5	5	0	0
Cambé-PR	13	4	0	0
Campanha-MG	13	13	0	0
Castanhal-PA	3	0	0	0
Cerro Azul-PR	3	0	0	0
Congonhinhas-PR	1	1	0	0
Cornélio Procópio-PR	1	0	0	0
Ibiporã-PR	7	0	0	0

Ivaiporã-PR	1	0	0	0
Jaguapitã-PR	14	9	0	0
Jaguaripe-BA	4	0	0	0
Londrina-PR	33	7	0	0
Marabá-PA	8	0	0	0
Núcleo Rural Tabatinga-DF	25	0	0	0
Núcleo Rural Taquara-DF	31	0	0	0
Paranavaí-PR	4	3	0	0
Perdões-MG	20	8	0	0
Pitangueiras-PR	22	11	0	0
Rancho Alegre-PR	5	0	0	0
Rolândia-PR	41	20	0	0
Sabáudia-PR	2	0	0	0
Santa Cecília do Pavão-PR	1	1	0	0
São Domingos do Araguaia-PA	1	0	0	0

\* Número de amostras positivas.

Cabe ressaltar que, em MG, as amostras coletadas foram de tangerineira 'Ponkan' das áreas Sul e Central do Estado, sendo que, na área Central de MG, a constatação da doença ocorreu apenas a partir de 2016, indicando possível expansão da doença para novas áreas produtoras. No RS, não houve detecção de 'Ca. Liberibacter spp.' em 70 exemplares de *D. citri* coletados nos pomares do Estado.

Fitoplasma pertencente ao grupo 16SrIX foi detectado somente na região de Brazlândia no DF. As folhas não apresentavam sintomas típicos de HLB, embora apresentassem sintomas de deficiência nutricional e sintomas causados por outras pragas e/ou patógenos. Nenhuma amostra sintomática apresentou presença simultânea de 'Ca. Liberibacter' e fitoplasma.

O fato da maioria das plantas suspeitas apresentarem resultados negativos para 'Ca. Liberibacter' ou fitoplasmas deve-se a presença de outras pragas e doenças, ou também a sintomas de deficiência nutricional, que são

facilmente confundidos com sintomas de HLB. Estes pomares pertencem a pequenos produtores, pouco tecnificados e que não adotam as melhores práticas agronômicas no manejo do pomar.

Um fitoplasma do grupo 16SrIX já havia sido anteriormente diagnosticado, no ano de 2012, em amostras foliares de citros na Bahia (Silva et al., 2014), na região de Bom Jesus da Lapa, e em Minas Gerais, na região de Matias Cardoso (Wulff, comunicação pessoal)<sup>1</sup>. Nas coletas realizadas durante este projeto na mesma região da Bahia, não foi detectada a presença do fitoplasma. No Pará, houve diagnóstico prévio de fitoplasma em citros na região de Marabá, no ano de 2010 (Ishida, comunicação pessoal)<sup>2</sup>. Neste caso não houve a identificação do grupo ao qual pertencia o fitoplasma e novas coletas não foram possíveis em virtude da morte da planta amostrada. O recente relato de HLB na Colômbia (ICA, 2017), na fronteira com a Venezuela, ressalta a necessidade de vigilância na região norte do Brasil.

O fato da não observação de fitoplasmas na mesma região onde fora anteriormente detectado verificou-se também no Distrito Federal. Ocorreu uma menor incidência de fitoplasmas na segunda coleta em relação à primeira realizada nas mesmas áreas. Isso também foi observado no Estado de São Paulo, inclusive na mesma planta diagnosticada como positivo, após certo período de tempo, tanto os sintomas como os fitoplasmas desapareceram na planta. Isso indica que, provavelmente, as plantas de citros não são boas hospedeiras do fitoplasma. A incidência da doença em citros aparentemente depende da vegetação espontânea junto ao pomar e de cultivos de crotalaria nas proximidades dos pomares (Wulff et al., 2015). Esta vegetação tem papel importante como reservatório tanto de fitoplasmas como de cigarrinhas vetoras.

Desta forma, ao contrário do HLB causado por '*Ca. L. asiaticus*' e '*Ca. L. americanus*', a doença causada por fitoplasmas do grupo 16SrIX tem uma baixa disseminação nos pomares e na própria planta infectada. Devido à baixa incidência observada até o momento, não se verifica a necessidade de medidas regulatórias adicionais às implementadas para o controle de HLB. No entanto, nas regiões onde ainda não ocorre o HLB, a diagnose laboratorial

---

<sup>1</sup> Comunicação por mensagem eletrônica

<sup>2</sup> Comunicação por mensagem eletrônica

é imprescindível para se esclarecer o agente etiológico de plantas com sintomas suspeitos desta doença.

No Rio Grande do Sul, o trabalho com monitoramento de HLB em plantas e *Diaphorina citri* foi iniciado em 2008. Desde então, 1360 pomares de citros foram inspecionados no Estado para presença de sintomas de HLB e nove mil ponteiros de plantas cítricas enviadas para análise para monitoramento de *D. citri*. A partir de 2010, o monitoramento do vetor passou a ser feito por armadilhas amarelas adesivas instaladas nos pomares. Até o presente momento, não foi detectado HLB em plantas sintomáticas e nos vetores coletados.

## Conclusões

---

1. O HLB não está presente em pomares de citros nos Estados de Rio Grande do Sul, Bahia, Pará e no Distrito Federal, áreas consideradas livres da doença.
2. Fitoplasmas do grupo 16SrIX foram detectados apenas no Distrito Federal e com baixa incidência em citros.

## Agradecimentos

---

À Embrapa, pelo auxílio financeiro. A Isis C. Oliveira da Embrapa e Daniela A. B. Coletti do Fundecitrus, pelo auxílio nas análises laboratoriais. A Danielly Guinhazi e Eliana Viana da Agência de Defesa Agropecuária do Pará - ADEPARÁ e Carina Ichida, Karlos Santana e Adailton Guimarães da Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal - SEAGRI/DF, pelo auxílio nas coletas de amostras de citros.

## Referências

---

BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A.; BELASQUE JÚNIOR, J.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A. Epidemia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 11-23, 2010.

BOSCARIOL-CAMARGO, R. L.; CRISTOFANI-YALY, M.; MALOSSO, A.; COLETTA-FILHO, H. D.; MACHADO, M. A. Avaliação de diferentes genótipos de citros à infecção por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 85-90, 2010.

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

CHEN, J.; PU, X.; DENG, X.; LIU, S.; LI, H.; CIVEROLO, E. A. Phytoplasma related to "*Candidatus Phytoplasma asteris*" detected in Citrus showing Huangongbing (yellow shoot disease) symptoms in Guangdong, P.R. China. **Phytopathology**, v. 99, p. 236-242, 2009.

COLETTA-FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; NEGRI, J. D.; PONPEU, J. J.; MACHADO, M. A. First report of the causal agent of huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, p. 1382, 2004.

DA GRAÇA, J. Citrus Greening disease. **Annual Review Phytopathology**, v. 29, p. 109-136, 1991.

GIRARDI, E. A.; MILORI, D. M. B. P.; PRADO, J. S. M.; NAVA, D. E.; SANTOS, I. R. I.; STUCHI, E. S.; FREITAS-ASTUA, J.; GURGEL, F. L.; SÁ, L. A. N.; SANCHES, M. M.; ANDRADE, E. C.; LARANJEIRA, F. **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"**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Documentos, 2018).

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

HOCQUELLET, A.; TOORAWA, P.; BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. Detection and identification of the two "*Candidatus Liberibacter sp.*" associated with citrus huanglongbing by PCR amplification of ribosomal proteingenes of the beta operon. **Molecular and Cellular Probes**, v. 13, p. 373-379, 1999.

ICA – Instituto Colombiano Agropecuario. **Resolución No. 00007109 (09/06/2017)**. 2017.

- KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; FILTER, C. F. **Anuário brasileiro de citros** 2016. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 64 p.
- LEE, I-M.; GUNDERSEN-RINDAL, D. E.; DAVIS, R. E.; BARTOSZYK, I. M. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA ribosomal protein gene sequences. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 48, p. 1153-1169, 1998.
- LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; YAMAMOTO, P. T.; AYRES, A. J.; BARBOSA, J. C. Ineffectiveness of pruning to control citrus huanglongbing caused by *Candidatus Liberibacter americanus*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, p. 463-468, 2007.
- LOU, B.; BAI, X.; BAI, Y.; DENG, C.; ROYCHOWDHURY, M.; CHEN, C.; SONG, Y. Detection and molecular characterization of a 16SrII-Aphytoplasma in grapefruit (*Citrus paradisi*) with huanglongbing-like symptoms in China. **Journal of Phytopathology**, v. 162, n. 6, p. 387-395, 2013.
- MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, v. 8, p. 4321-4325, 1980.
- NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. Ribeirão Preto: MARKESTRAT - Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégia - FEA-USP, 2010. 137 p.
- SEEMÜLLER, E.; SCHNEIDER, B.; MÄURER, R.; AHRENS, U.; DAIRE, X.; KISON, H.; LORENZ, K. H.; FIRRAO, G.; AVINENT, L.; SEARS, B. B. Phylogenetic classification of hytopathogenic mollicutes by sequence analyses of 16S ribosomal DNA. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 44, p. 440-446, 1994.
- SILVA, S. X. B.; ANDRADE, E. C.; NASCIMENTO, A. S.; BARBOSA, C. J.; GIRARDI, E. A.; FREITAS-ASTUA, J.; LARANJEIRA, F. F. Huanglongbing surveillance program actions in the State of Bahia, Brazil. **Journal of Citrus Pathology**, v. 1, n. 1, 2014. Special Section: IRC-HLB III (3rd International Research Conference on Huanglongbing, 2013, Orlando).
- TEIXEIRA, D. C.; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANET, J. T.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. "*Candidatus Liberibacter americanus*", associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1857-1862, 2005.
- TEIXEIRA, D. C.; SAILLARD, C.; COUTURE, C.; MARTINS, E.; WULFF, N. A.; YAMAMOTO, P. T.; EVEILLARD-JAGOUÉIX, S.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. *Candidatus Liberibacter americanus*, agent of huanglongbing disease

of citrus in Sao Paulo State, Brasil: distribution and quantification of the liberibacter in leaves of an affected sweet orange tree as determined by PCR methods. **Molecular and Cellular Probes**, v. 22, n. 3, p. 139-150, 2008a.

TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; MARTINS, E. C.; KITAJIMA, E. W.; BASSANEZI, R.; AYRES, S.; EVEILLARD, C.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J. M. A phytoplasma closely related to the pigeon pea witches broom phytoplasma (16SrIX) is associated with citrus huanglongbing symptoms in the state of São Paulo, Brazil. **Phytopathology**, v. 98, p. 977-984, 2008b.

WULFF, N. A.; TEIXEIRA, D. C.; MARTINS, E. C.; TOLOY, R. S.; BIANCO, L. F.; COLLETTI, D. A. B.; KITAJIMA, E. W.; BOVÉ, J. M. Sunn hemp, a major source-plant of the phytoplasma associated with huanglongbing symptoms of sweet orange in São Paulo State, Brazil. **Journal of Citrus Pathology**, v. 2, p. 1-14, 2015.



---

*Recursos Genéticos e  
Biotecnologia*