

## **Epidemiologia do *huanglongbing* e suas implicações para o manejo da doença**

Renato Beozzo Bassanezi<sup>1\*</sup>, Sílvio Aparecido Lopes<sup>1</sup>, José Belasque Júnior<sup>1</sup>,  
Marcel Bellato Spósito<sup>1</sup>, Pedro Takao Yamamoto<sup>1</sup>, Marcelo Pedreira de Miranda<sup>1</sup>,  
Diva do Carmo Teixeira<sup>1</sup> & Nelson Arno Wulff<sup>1</sup>

### **RESUMO**

Os recentes relatos da presença do *huanglongbing* (HLB) em algumas das maiores regiões produtoras de citros em países das Américas do Sul, Central e do Norte, principalmente o estado de São Paulo no Brasil e o estado da Flórida nos Estados Unidos, confirmam a grande capacidade de disseminação e progresso desta devastadora doença que coloca em risco a sustentabilidade do agronegócio citrícola nestes países. Anteriormente a estes relatos, poucos estudos epidemiológicos quantitativos haviam sido conduzidos por causa das dificuldades e dos riscos de se manter estes estudos por vários anos seguidos em pomares sem nenhum controle e pela própria natureza complexa deste patossistema, que inclui um longo período de incubação e sazonalidade de expressão dos sintomas. Apesar disso, nos últimos anos, informações úteis têm sido obtidas por estudos epidemiológicos realizados em São Paulo e na Flórida com respeito aos processos espaço-temporais que levam ao aumento do HLB, isto é, como a doença se dissemina e como progride. Estas informações são úteis para o estabelecimento e validação de estratégias eficientes de manejo desta doença, assim como para estimar a longevidade econômica e biológica de um determinado pomar sob determinadas condições de manejo. O objetivo desta revisão é fornecer informações atualizadas sobre a caracterização das epidemias de HLB e alertar os citricultores e agentes de defesa fitossanitária sobre a importância da adoção imediata de medidas quarentenárias para impedir a introdução do HLB em áreas livres da doença, assim como da importância da adoção de estratégias regionais de controle.

**Termos de indexação:** HLB, *greening*, epidemiologia, disseminação da doença, progresso da doença, danos.

### **SUMMARY**

#### **Huanglongbing epidemiology and implications for disease management**

The recent reports of *huanglongbing* (HLB) in some of the major citrus areas of South, North and Central American countries, mainly in São Paulo State in Brazil and Florida State in USA, confirm the great spread and progress capabilities of this devastating disease that threat the sustainability of citrus agribusiness in those countries. Before these reports, few quantitative epidemiological studies had been conducted because the risks and difficulties of

<sup>1</sup> Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), Av. Adhemar Pereira de Barros 201, 14807-040 Araraquara-SP

\* Autor para correspondência - E-mail: rbbassanezi@fundecitrus.com.br

keeping those studies for several years in orchards without any control, and for the complex nature of this pathosystem which includes long incubation period and seasonality of symptoms expression. Despite of that, in the last years, useful information has been obtained from new epidemiological studies conducted in São Paulo and Florida concerning the spatio-temporal processes that lead to the increase of HLB disease, how it spreads, and how it progresses. This information can be used to determine and validate efficient management strategies as well as to predict the economic and biological longevity of an orchard under particular management conditions. The objective of this review is to provide an update of recent characterizations of HLB epidemics and alert citrus growers and phytosanitary agencies about the importance of immediate adoption of quarantine measurements to avoid HLB introduction in disease free areas, as well as on the importance to implement a regional control strategies for the disease.

**Index terms:** HLB, greening, epidemiology, disease spread, disease progress, crop loss.

## INTRODUÇÃO

Epidemias de *huanglongbing* (HLB), também conhecida como *greening*, têm seu início após a introdução da sua bactéria associada, juntamente com seu vetor, em pomares antes livres da doença. Três espécies de bactérias, conhecidas como *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* e *Ca. L. americanus*, têm sido associadas ao HLB (Bové et al., 2008). Entretanto, *Ca. L. asiaticus* é a mais disseminada e prevalecente espécie associada às epidemias de HLB nos países das Américas do Sul, Central e do Norte. A espécie *Ca. L. africanus* não foi relatada nas Américas e *Ca. L. americanus* foi detectada até o momento somente no Brasil (Bové et al., 2008). Assim como *Ca. L. americanus* (Lopes & Frare, 2008), *Ca. L. asiaticus* pode ser transmitida por enxertia de tecidos infectados (Lin, 1963), mas a transmissão natural no campo se dá por meio de um inseto vetor, o psilídeo asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Capoor et al., 1967). *Ca. L. asiaticus* é mais eficientemente transmitida, tanto pelo psilídeo como por enxertia de tecidos, que *Ca. L. americanus*, provavelmente, porque atinge maiores concentrações dentro das plantas infectadas (Lopes et al., 2009a). Além disso, *Ca. L. asiaticus* é menos sensível ao calor que *Ca. L. americanus* (Lopes et al., 2009b).

O psilídeo vetor, *D. citri*, tem uma gama de hospedeiros que inclui muitas espécies de citros e espécies próximas ou não ao citros (Halbert & Manjunath, 2004) e pode se movimentar ativamente por vôos curtos ou ser carregado a longas distâncias

por massas de ar. Embora não seja conclusiva, existem evidências do movimento a longa distância do HLB pelo psilídeo vetor. No início da epidemia de HLB no estado da Flórida, Estados Unidos, a distância das áreas residenciais infectadas no sul do estado até o plantio comercial mais próximo era de aproximadamente 88 km (Gottwald et al., 2007a). O fato deste pomar comercial ser relativamente isolado e não ter plantado mudas cítricas provenientes de fontes externas à propriedade, é uma evidência circunstancial de que o HLB foi introduzido nesta plantação via psilídeos infectivos que cruzaram a região do *Everglades*, uma área sem citros, e infectaram as bordas do lado leste desta propriedade de citros logo a oeste do *Everglades* (S. E. Halbert, dados não publicados, citados por Manjunath et al., 2008). Neste caso, tal disseminação a longa distância poderia ser relacionada ao movimento de massas de ar durante os furacões e tempestades tropicais que afetaram a Flórida recentemente e que teriam carregado os vetores infectivos além do *Everglades* até os pomares comerciais (Gottwald et al., 2007a). O potencial de disseminação a longa distância torna a prevenção da introdução e a inibição do estabelecimento de *D. citri* infectado em novas áreas muito difícil.

Além de hospedar o inseto vetor, todas as espécies de citros e várias rutáceas usadas como ornamentais também podem hospedar *Ca. L. asiaticus* (Halbert & Manjunath, 2004). Entre as plantas hospedeiras de *Ca. L. asiaticus* que não são do gênero *Citrus* citam-se *Severinia buxifolia* (Hung et al., 2001), *Limonia acidissima* (Hung et al., 2000), *Verpris lanceolata* (Korsten et al., 1996) e, com destaque, a *Murraya* spp.

(Lopes et al., 2006), uma planta hospedeira preferencial de *D. citri* (Aubert, 1987) e também hospedeira de *Ca. L. americanus* no Brasil (Lopes et al., 2005). Na Flórida acredita-se que o comércio de plantas de *Murraya* spp. tenha transportado o psílideo vetor infectado com *Ca. L. asiaticus* e facilitado a disseminação do HLB (Manjunath et al., 2008). Embora tenha sido investigado por diferentes grupos de pesquisa e os resultados sejam controversos, o potencial de sementes de citros em introduzir o HLB em novas áreas parece remoto, uma vez que a passagem da bactéria da planta infectada para as sementes, parece ser evento bastante raro ou nulo (Hartung et al., 2008).

Em suma, as formas reconhecidas de introdução do HLB e início das epidemias são: i) a transmissão local e regional por *D. citri*; ii) o transporte de psílideo infectivo em materiais vegetais, incluindo citros e outras espécies hospedeiras do psílideo; iii) o transporte de plantas de citros infectadas, e iv) o transporte de plantas próximas aos citros infectadas e usadas como ornamentais. A restrição da movimentação natural do psílideo vetor, principalmente a longas distâncias, é uma tarefa difícil. Entretanto, medidas quarentenárias que visem redução da movimentação de plantas hospedeiras da bactéria e/ou do vetor, de áreas infestadas para áreas livres da doença, deveriam ser adotadas e reforçadas. A aplicação dos testes de detecção por PCR ou PCR em tempo real (Li et al., 2007; Teixeira et al., 2008), que aumentam um pouco a sensibilidade da detecção de *Liberibacter* mesmo em tecidos assintomáticos de plantas infectadas, poderiam auxiliar na restrição do transporte de hospedeiros infectados.

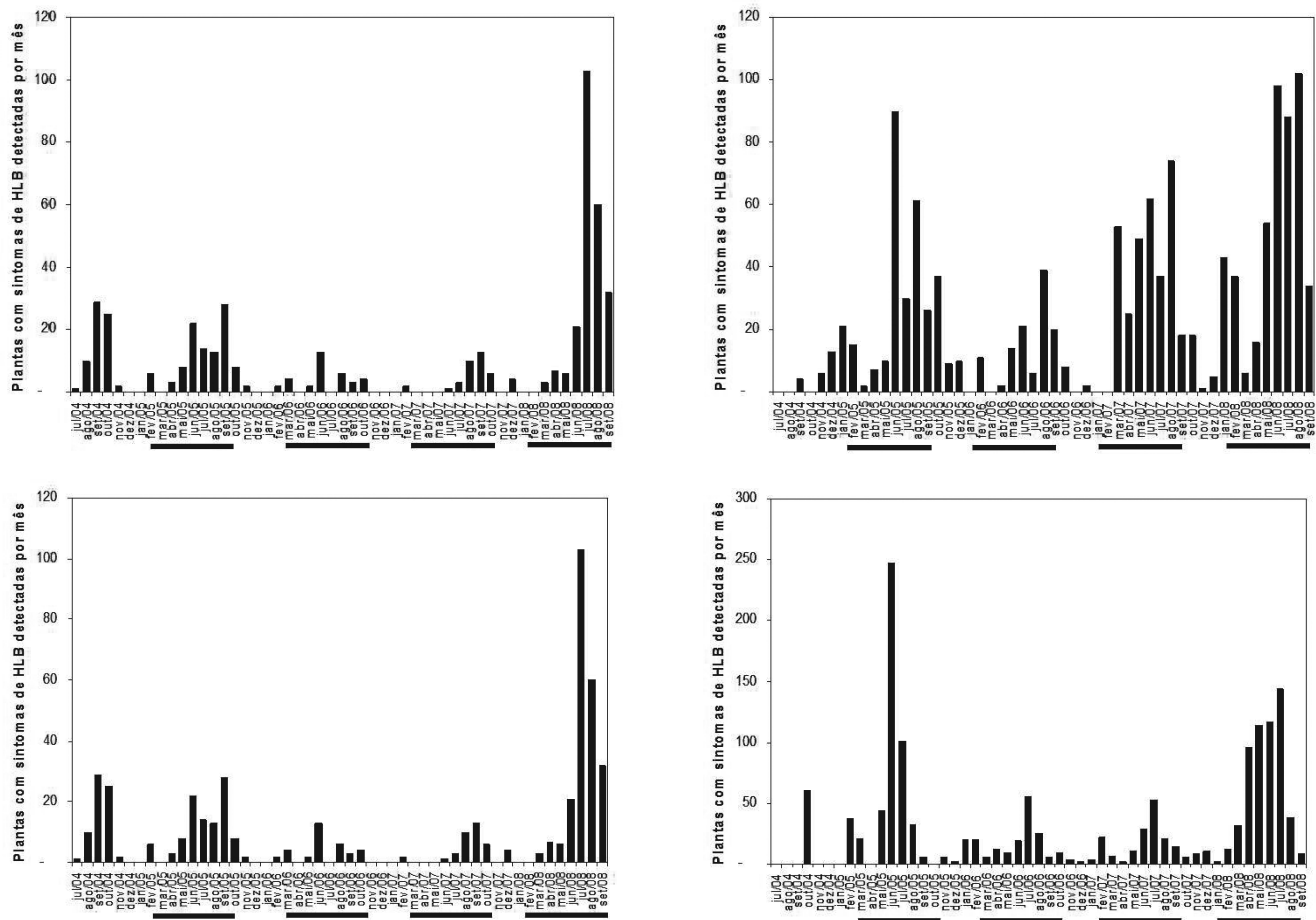
#### **CARACTERÍSTICAS DO HLB QUE DIFICULTAM O ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA DOENÇA E SUAS IMPLICAÇÕES NO MANEJO**

Estudos quantitativos sobre a epidemiologia do HLB, isto é, sobre como a doença progride no tempo e no espaço, são de difícil condução e interpretação, como bem apontaram Gottwald et al. (2007a). Por causa dos devastadores efeitos do HLB, com rápidas e severas perdas de produção e qualidade de frutas, há um grande receio por parte dos citricultores em permitir a manutenção de fontes de inóculo ou parcelas sem a

adoção de qualquer medida de controle numa área próxima às plantações suscetíveis. Isto torna muito difícil a obtenção de locais para o estudo nos quais a doença possa progredir sem intervenções e a epidemia possa ser seguida por vários anos para se entender completamente seu potencial epidemiológico.

Outra dificuldade está no longo e, provavelmente, variável período de incubação da doença, isto é, o tempo entre a transmissão da bactéria pelo psílideo vetor e o aparecimento dos primeiros sintomas visuais, que pode ser de meses a mais de um ano dependendo talvez da época de infecção, combinação de copa e porta-enxerto e da idade da planta (McClellan & Oberholzer, 1965; Catling, 1970; Zhao, 1981; Aubert, 1987; Gottwald et al., 1989; Yamamoto et al., 2006). A maior incidência de plantas com sintomas visuais é observada entre o final do verão e o início da primavera, com máxima detecção ocorrendo entre o outono e o inverno (Figura 1). A expressão mais intensa dos sintomas nesta época do ano indica que a causa deve estar nas menores temperaturas prevalentes nestas épocas, que, ao contrário das temperaturas mais altas da primavera e verão, não reduzem as taxas de multiplicação da bactéria nos tecidos das plantas, como já demonstrado em experimentos conduzidos em câmaras de crescimento (Lopes et al., 2009b). A existência de épocas mais favoráveis à expressão dos sintomas de HLB sugere que as árvores expressando o início dos sintomas em um mesmo período podem ter sido infectadas em diferentes épocas no passado, o que dificulta o monitoramento das plantas infectadas baseado na incidência de plantas com sintomas visuais.

Na prática, a presença de psílideos infectivos durante todo o ano e não somente na época de maiores populações (primavera/verão), torna o monitoramento e o controle do vetor necessários e constantes durante o ano todo. Por outro lado, a inspeção e eliminação das plantas sintomáticas são mais efetivas na época mais favorável para a expressão dos sintomas. Por causa da sazonalidade de expressão de sintomas do HLB e seu longo período de incubação, a avaliação da eficiência das medidas de controle adotadas deve ser medida com base na comparação entre a incidência de plantas sintomáticas acumulada a cada período de pelo menos um ano e não após cada inspeção ou aplicação de inseticida.

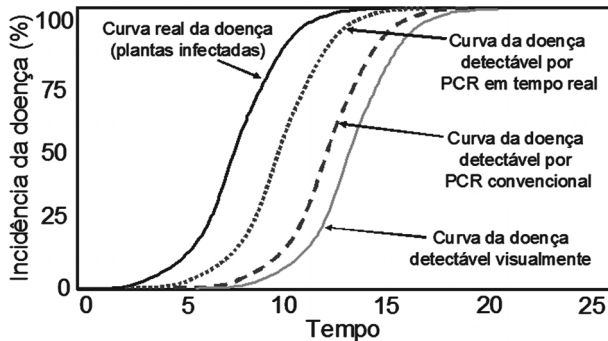


**Figura 1.** Expressão sazonal dos sintomas de HLB em quatro pomares no estado de São Paulo. Barras verticais representam o número de plantas com sintomas de HLB encontradas em cada inspeção mensal. Barras horizontais representam o período entre o final do verão e o início da primavera.

Devido à existência de um período de tempo entre a transmissão pelo vetor e a expressão dos sintomas, é comum que uma planta assintomática, ou cujos sintomas foram não detectáveis visualmente, possa ter atuado como fonte de infecção para várias outras plantas até sua detecção pela inspeção e posterior eliminação. Até o presente, não se tem a habilidade de detectar a infecção durante alguns ou até vários meses após a transmissão pelo vetor. Em muitos casos, a detecção da bactéria por métodos moleculares em folhas assintomáticas ocorre quase próxima à manifestação visual dos sintomas. Por outro lado, já foi demonstrado experimentalmente que em plantas sem qualquer sintoma foliar evidente a concentração de *Ca. L. asiaticus* pode ser tão alta quanto a concentração nas mesmas plantas quando estas passaram a expressar os sintomas característicos

de HLB, três meses mais tarde (Lopes et al., 2009a). Isto sugere fortemente que, no campo, plantas infectadas podem estar atuando como fontes de contaminação de outras plantas antes de expressar qualquer sintoma visual característico de HLB. É sabido também que para árvores apresentando apenas poucos sintomas de HLB, a infecção é completamente ou quase completamente sistêmica, entretanto a concentração bacteriana é variável em porções individuais da árvore e pode estar abaixo do limiar de detecção do teste de PCR (Gottwald et al., 2008, Tatineni et al., 2008; Teixeira et al., 2008). Assim, mesmo se uma árvore estiver infectada, amostras coletadas de uma parte da planta com baixa ou nenhuma quantidade da bactéria (usualmente assintomática) irão gerar resultados negativos. Embora o teste de PCR permita detectar muitas infecções

assintomáticas, apenas uma porção das infecções mais recentes e assintomáticas na planta serão detectadas (Figura 2). No momento, o teste de PCR é complexo e consome bastante tempo. A habilidade de processar milhares de amostras necessárias para seguir uma epidemia de HLB, com métodos como PCR, ainda permanece proibitiva quanto à quantidade de mão de obra e custos.

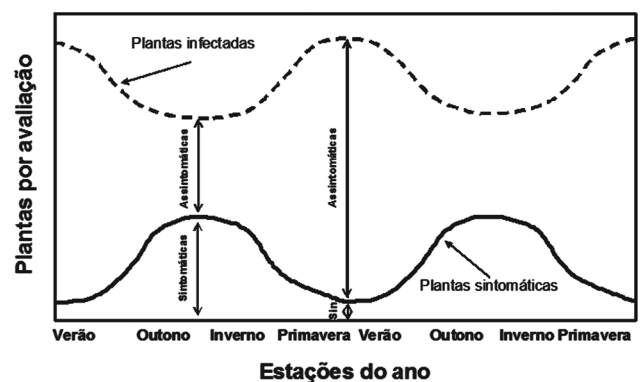


**Figura 2.** Curvas hipotéticas de progresso do HLB.

Irey et al. (2006) observaram com o uso do PCR em tempo real um número semelhante de árvores sintomáticas e de árvores assintomáticas e HLB-positivas. Assim, quando uma dada inspeção visual revela  $n$  plantas sintomáticas, pode-se assumir que na realidade existem aproximadamente  $2n$  de plantas infectadas e mais uma população adicional de plantas infectadas que permanecem não detectáveis pelo método de PCR em tempo real. Como este experimento foi conduzido no inverno, a melhor época para a detecção visual dos sintomas de HLB, a relação entre a incidência de árvores infectadas e árvores sintomáticas provavelmente seria muito maior se as avaliações fossem feitas durante a primavera e verão. Num recente estudo epidemiológico realizado no estado da Flórida, Gottwald et al. (comunicação pessoal) estimaram que para cada planta sintomática nos talhões estudados existiam, em média, 13 (entre 2 e 56) árvores HLB-positivas e assintomáticas e expressaram sintomas nas avaliações subsequentes. Desta forma, em pomares com HLB há um considerável número de plantas infectadas, mas em condições subclínicas para sua detecção visual. Considerando que as infecções ocorram durante o ano todo, mas que as maiores taxas de infecção estejam relacionadas com maiores populações de psilídeos, que

ocorrem durante a primavera e verão, e que a expressão dos sintomas de HLB se concentra no outono e inverno, espera-se que a razão entre plantas sintomáticas e plantas infectadas (sintomáticas + assintomáticas) seja bastante variável durante o ano, sendo menor no outono e inverno e maior na primavera e verão (Figura 3). Esta informação é bastante útil e pode fornecer pistas para estratégias de manejo da doença, como a necessidade de inspeções frequentes e contínuas, e para a tomada de decisão relativa à vida útil produtiva de um pomar. Se a incidência visual da doença em determinada época do ano for conhecida, poder-se-á estimar a incidência subclínica e, por sua vez, a incidência total. Esta estimativa potencialmente fornece uma medida para determinar o limiar de incidência visual da doença acima do qual será mais econômico remover todo o pomar e replantar a área com mudas livres de doença do que continuar tentando manejar o pomar quando ele for marginal ou não rentável por mais tempo (Gottwald et al., 2007a).

Mesmo com estas dificuldades e limitações em mente, informações úteis têm sido obtidas por recentes estudos epidemiológicos com respeito aos processos espaço-temporais que levam ao aumento do HLB, como a doença se dissemina e como progride. Estas informações podem ser usadas para estimar a longevidade econômica e biológica de um determinado pomar, definir e aperfeiçoar possíveis estratégias de manejo e estudar a sua influência e eficácia no controle do HLB (Gottwald et al., 2007a).



**Figura 3.** Relação hipotética entre plantas com sintomas de HLB e plantas infectadas assintomáticas ao longo do ano em função da sazonalidade de infecção e de expressão de sintomas.



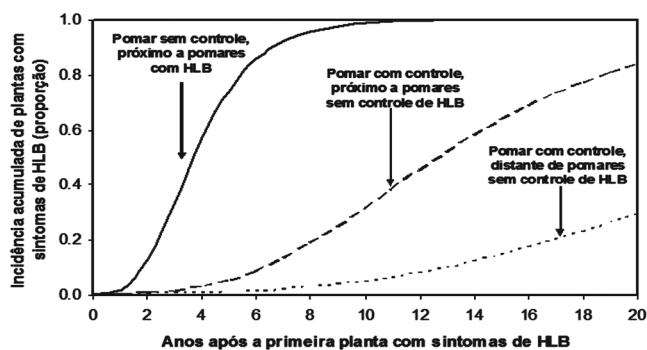
## ASPECTOS TEMPORAIS DA EPIDEMIA DE HLB E IMPLICAÇÕES NO MANEJO DA DOENÇA

Epidemias de HLB são poliéticas, isto é, necessitam de alguns anos para mostrar significativo aumento na intensidade de doença, mesmo quando a população de vetores é alta e as fontes de inóculo são abundantes, e a quantidade de inóculo que inicia a epidemia num ano é praticamente igual à quantidade de inóculo final do ano anterior. Contudo, levando em consideração a natureza perene da cultura de citros, com retorno esperado do capital investido após sete anos e expectativa de vida econômica maior que 15 anos, a epidemia de HLB é considerada rápida e devastadora. Como, na maioria dos casos, o pomar se torna improdutivo e acaba sendo removido antes que se atinjam altas incidências, a assíntota da curva de incidência da doença não é alcançada e a coleta de dados temporais da evolução da doença fica incompleta. Por esta razão, os modelos matemáticos exponencial, logístico e de Gompertz têm adequadamente descrito o progresso do HLB ao longo do tempo tendo como base os dados de incidência acumulada anual (Gottwald et al., 1989; Bassanezi et al., 2006a; Gottwald et al., 2007b).

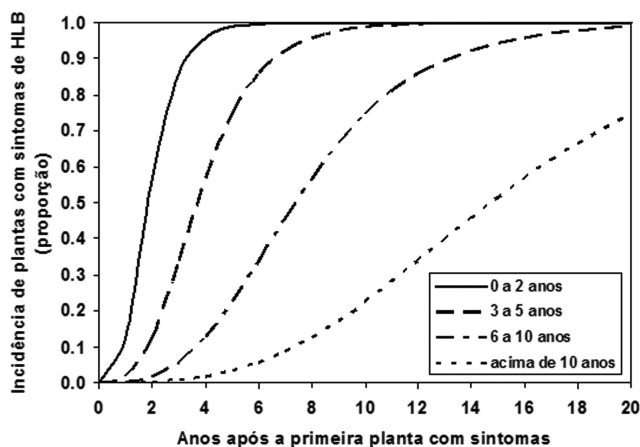
A incidência de HLB nos pomares pode alcançar mais de 95% das plantas em três a 13 anos após o aparecimento das primeiras plantas com sintomas (Catling & Atkinson, 1974; Aubert et al., 1984; Gottwald et al., 1989; Gottwald et al., 1991; Bassanezi et al., 2006a; Gatineu et al., 2006; Gottwald et al., 2007a; Gottwald et al., 2008b). A velocidade com que novas plantas são infectadas e mostram os sintomas de HLB ao longo do tempo depende (i) da extensão local das fontes de inóculo (plantas infectadas) e da população de insetos vetores, que por sua vez dependem da intensidade e rigor da adoção de medidas de manejo da doença, (ii) da proximidade de fontes de inóculo (plantas infectadas em pomares comerciais, de quintais e de áreas urbanas) e (iii) da idade das plantas no pomar no momento das primeiras infecções. Em São Paulo, foi estimado que a incidência de plantas sintomáticas em pomares jovens pode atingir 50% das plantas (i) em três anos se o pomar estiver próximo a pomares infectados e não houver adoção de medidas

de controle da doença, (ii) em 12 anos, se o pomar, mesmo adotando medidas de controle, estiver próximo a pomares que não controlam a doença, e (iii) em mais de 20 anos, se o pomar adotar o controle da doença e estiver distante de pomares que não controlam o HLB (Figura 4). Provavelmente, a maior atividade de seiva nas plantas jovens, aliada à sua maior atratividade aos vetores pela frequente e constante emissão de fluxos vegetativos, faz com que o aumento da incidência de HLB seja mais rápido nos pomares jovens que nos pomares adultos. Em pomares jovens com até três anos de plantio, próximos a fontes de inóculo ou nos quais não se realiza o controle do vetor e a eliminação de plantas sintomáticas, a incidência de plantas com HLB pode atingir mais de 50% em três a cinco anos após o aparecimento da primeira planta sintomática, enquanto que, nas mesmas condições, em pomares adultos se atingirá tal incidência em períodos superiores a cinco anos (Figura 5).

A evolução dos sintomas na planta, isto é, o aumento da severidade da doença, também pode ser rápida dependendo da idade ou porte da planta no momento da infecção, como também do número de infecções por planta, que normalmente podem ser múltiplas. Sintomas severos de HLB têm sido observados entre um a cinco anos após o aparecimento dos primeiros sintomas na planta (Lin, 1963; Schwarz



**Figura 4.** Estimativas de curvas médias de progresso da incidência de HLB (em proporção de plantas sintomáticas) em pomares entre 2 a 5 anos de idade, no estado de São Paulo, em função da adoção de medidas de controle baseadas na eliminação de plantas sintomáticas e controle do psilídeo vetor e em função da distância de pomares sem o controle da doença.



**Figura 5.** Evolução estimada da incidência de plantas com sintomas de HLB em pomares sem controle da doença em função da idade das plantas quando do aparecimento das primeiras plantas sintomáticas (Bassanezi & Bassanezi, 2008).

et al., 1973; Gottwald et al., 1989; Aubert, 1992). Em plantas jovens, quando os sintomas são evidentes, eles já ocupam uma grande proporção da copa da planta que pode chegar até 30%, enquanto que em plantas adultas quando do aparecimento dos primeiros sintomas, por causa do maior porte da planta, estes em geral nem chegam a tomar 5% da copa. Com o aumento da severidade dos sintomas, a produção e a qualidade dos frutos são proporcionalmente reduzidas. A produção é reduzida pela menor quantidade de frutos formados nestes ramos afetados e, principalmente, pela queda precoce dos frutos dos ramos sintomáticos, podendo ser diminuída até a quase totalidade (Schwarz, 1967; Catling & Atkinson, 1974; Aubert et al., 1984; Bassanezi et al., 2009a). Embora a maioria dos frutos afetados caia prematuramente, uma parte deles permanece na planta e pode ser colhida. Com o aumento da severidade, a porcentagem de frutos afetados que permanece na planta aumenta podendo chegar a até 40% dos frutos colhidos (Catling & Atkinson, 1974; Bassanezi et al., 2009a). Estes frutos afetados apresentam baixa qualidade, pois são menores, mais leves e com menor quantidade de suco. O suco de frutos afetados é mais ácido e com menor Brix, sólidos solúveis por fruto, sólidos solúveis por caixa e *ratio* (Bassanezi et al., 2009b).

Em função deste rápido progresso da doença, combinado com a redução da produção e qualidade de frutas, o pomar afetado pode se tornar economicamente

inviável dentro de sete a dez anos após o plantio (Aubert et al., 1984; Aubert, 1990; Gottwald et al., 1991; Roistacher, 1996). Usando uma abordagem simples para modelar o impacto do HLB na produção de citros em pomares sem o controle da doença, Bassanezi & Bassanezi (2008) estimaram que pomares infectados entre o primeiro e quinto anos de idade teriam acentuada redução na produtividade dois a quatro anos após o aparecimento das primeiras plantas com sintomas, enquanto que para pomares com mais de cinco anos de idade, uma redução significativa da produtividade seria mais comumente observada após cinco a dez anos do aparecimento das primeiras plantas com sintomas. Isto representa um problema para o manejo do HLB, uma vez que citricultores com pomares adultos afetados, alegando não terem prejuízos econômicos em curto prazo com a doença, relutam em eliminar as plantas sintomáticas ainda relativamente produtivas e, assim, acabam mantendo e aumentando a fonte de inóculo no pomar que, por sua vez, inviabilizará totalmente o estabelecimento de novos pomares na própria propriedade e na região, impossibilitando a renovação e continuidade da citricultura em longo prazo. Essa é uma das principais razões da urgente necessidade de um controle efetivo do HLB no estado de São Paulo, como discutido por Belasque Júnior et al. (2009), para se prevenir maiores danos aos citricultores e à citricultura brasileira.

## ASPECTOS ESPACIAIS DA EPIDEMIA DE HLB E IMPLICAÇÕES NO MANEJO DA DOENÇA

A dinâmica espacial do HLB foi inicialmente investigada nas Ilhas Reunião e na China (Gottwald et al., 1989; Gottwald et al., 1991) e, mais recentemente, no Brasil (Bassanezi et al., 2005) e nos Estados Unidos (Gottwald et al., 2007b; Gottwald & Irey, 2008; Gottwald et al., 2008a; Gottwald et al., 2008b).

O efeito de borda, ou maior concentração de plantas sintomáticas nas primeiras plantas da periferia das propriedades e talhões, é uma característica marcante do HLB (Bassanezi et al., 2005; Gottwald & Irey, 2008) (Figura 6). Altas concentrações de plantas sintomáticas têm sido observadas nas bordas das propriedades e também em grandes talhões nos primeiros 30 m com um gradiente de doença





**Figura 6.** Fotos aéreas de dois pomares de citros em São Paulo evidenciando concentração de plantas eliminadas com sintomas de HLB no perímetro dos talhões, “efeito de borda” (Fotos de J. M. Bové & J. Belasque Júnior).

decrecente do perímetro da propriedade, ou mesmo do talhão, para o seu centro (Gottwald & Irey, 2008). Também tem sido observado que infecções de HLB tendem a se acumular em maiores incidências na interface do plantio de citros com áreas sem citros, não apenas no perímetro do pomar, mas, também, em espaços internos da plantação criados por carregadores, canais, represas, matas, galpões de máquinas, sedes, *bins*, etc (Gottwald & Irey, 2008).

Alguma evidência de agregação entre plantas imediatamente adjacentes tem sido observada, mas esta agregação não é particularmente forte. Na maioria dos casos, quando observada, a agregação de plantas doentes dentro da linha de plantio é levemente maior que a agregação observada entre as linhas de plantio. A agregação de plantas doentes dentro de grupos de plantas tem sido observada para todos os talhões em todos os locais e tamanhos de grupos analisados, exceto quando a incidência da doença é extremamente baixa ou alta. Focos secundários ou satélites de plantas afetadas pelo HLB foram encontrados associados com focos principais até uma distância de 25 a 50 metros (Figura 7). Assim, numa escala local, o movimento do psíldeo vetor ocorre tanto de uma planta para outra dentro da sua vizinhança imediata, como para plantas distantes num raio de 25 a 50 metros, este último iniciando um novo foco de infecção (Gottwald et al., 1989; Gottwald et al., 1991; Bassanezi et al., 2005; Irey et al., 2006).



**Figura 7.** Distribuição espacial das plantas afetadas pelo HLB mostrando a agregação das plantas eliminadas com sintomas de HLB na vizinhança imediata e a presença de focos secundários de plantas sintomáticas removidas, associados a curtas distâncias dos focos principais (Foto de J. M. Bové & J. Belasque Júnior).

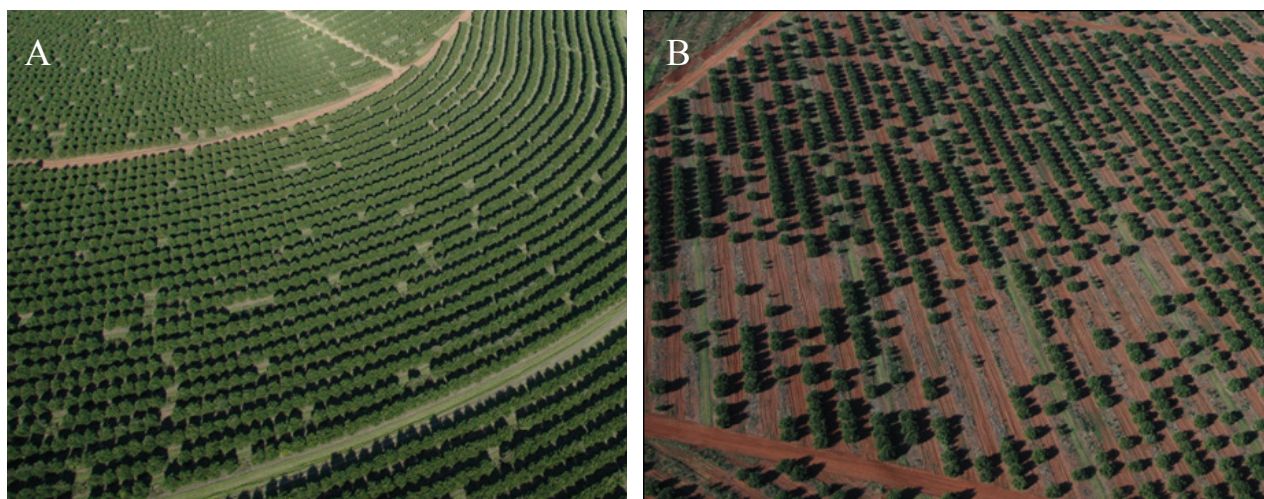
Um recente estudo usando a técnica de análise de sobrevivência mostrou que, em geral, a distância da primeira planta com sintomas de HLB (planta foco) para a sua vizinhança ou mesmo para locais pouco mais afastados dentro do talhão não contribuiu grandemente para a ocorrência de novas infecções dentro do talhão, o que indica que infecções a maiores distâncias tendem a predominar na epidemia de HLB



(Gottwald et al., 2008b). Adicionalmente, existem fortes indícios de uma disseminação regional do HLB ou a grandes distâncias. Uma dependência contínua entre plantas doentes a uma ampla gama de distâncias até 3,5 km foi observada por Gottwald et al. (2007b). A estimativa da distância mais comum entre pares de plantas infectadas por HLB variou de 880 m a 1,61 km, com mediana de 1,58 km, o que sugere uma dispersão regional do psilídeo (Gottwald et al., 2007b). Em termos práticos, para o manejo da doença, pomares afastados a mais de 2 km de distância de pomares com focos de HLB seriam menos afetados por esta fonte externa de inóculo e dependeriam mais do próprio manejo local para o controle da doença.

Desta forma, pode-se concluir que o HLB se dissemina por um contínuo de dois processos espaciais que ocorrem simultaneamente, incluindo a disseminação primária ao acaso, resultante de psilídeos infectivos que periodicamente emigram de fontes de inóculo de HLB de fora do talhão, e a disseminação secundária, que opera a curtas distâncias por psilídeos transportando a bactéria do HLB dentro do talhão, mas não necessariamente entre plantas imediatamente vizinhas ou mais próximas (Gottwald et al., 2007b; Gottwald et al., 2008a). A disseminação secundária pode ser mais ou menos mitigada pelas aplicações

locais de inseticidas e remoção local de plantas sintomáticas, sendo a ausência de reboleiras de plantas com HLB no interior do talhão um indicativo de um bom controle local da população de insetos vetores (Figura 8). A disseminação primária é a mais perigosa forma de disseminação, porque, mesmo com grande número de aplicações de inseticidas no talhão, é difícil evitar que o psilídeo se alimente em plantas infectadas fora deste talhão, migre para plantas saudas a certas distâncias no talhão pulverizado e transmita a bactéria patogênica antes que morra pela ação do inseticida aplicado nestas plantas. Como consequência, o controle significativo do HLB será mais bem alcançado quando um manejo regional da doença for realizado, incluindo a eliminação também de fontes externas de inóculo e o controle dos psilídeos nestas fontes. Um estudo de casos sobre o sucesso do manejo do HLB em 20 diferentes propriedades no estado de São Paulo (Belasque Júnior et al., 2008) e resultados de dois experimentos de campo testando diferentes estratégias de controle do HLB baseadas na redução local de inóculo e de controle do vetor, isto é, na escala de talhão (Bassanezi et al., 2009c), confirmaram que tentativas de controlar o HLB localmente apresentam menores chances de sucesso que quando o HLB é manejado em larga escala ou em escala regional.



**Figura 8.** Foto aérea mostrando o efeito do controle local de redução de inóculo e controle do vetor no padrão espacial e incidência do HLB observado no campo. (A) Presença de infecções secundárias do HLB com formação de grandes reboleiras de plantas eliminadas e alta incidência da doença pela ausência de uma efetiva remoção de plantas sintomáticas e controle do inseto vetor; (B) Presença quase que exclusiva de infecções primárias de HLB e baixa incidência da doença, resultantes de efetiva mitigação das infecções secundárias pela eficiente remoção de plantas sintomáticas e controle do inseto vetor.

## COMENTÁRIOS FINAIS

Recentes estudos têm gerado informações importantes sobre as vias de introdução do HLB em novas regiões e propriedades, assim como sobre a epidemiologia e o efeito de estratégias de controle atualmente empregadas no progresso da doença.

Potenciais vias de introdução do HLB incluem plantas de citros e outras hospedeiras infectadas e, principalmente, psíldeos infectados disseminados de maneira natural, ativa ou passivamente, junto a plantas hospedeiras. O psíldeo asiático *D. citri* tem ampla gama de hospedeiros, pode atingir elevados picos populacionais durante as fases de emissão de brotações dos citros, pode se disseminar por longas distâncias e seu controle demanda, tanto o monitoramento populacional contínuo, como a aplicação sequencial de inseticidas. As bactérias associadas ao HLB podem infectar todas as espécies de citros e algumas espécies relacionadas, incluindo *Murraya* spp. O movimento de material vegetativo infectado pode ser controlado por medidas quarentenárias, embora não seja fácil num mundo de comércio e transporte globalizados. Com a presença de *D. citri* em vários países das Américas do Sul, Central e do Norte e os relatos recentes da presença do HLB no Brasil (estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná), Estados Unidos (estados da Flórida, Louisiana, Carolina do Sul e Geórgia), Cuba, República Dominicana, Belize e México (estados de Yucatán, Quintana Roo, Nayarit, Jalisco, Campeche e Colima), Nicarágua, Guatemala e Honduras, o risco de introdução do HLB e sua disseminação em outras áreas produtoras de citros do Hemisfério Ocidental pode ser considerado alto e medidas preventivas para evitar a sua introdução devem ser adotadas imediatamente.

Uma vez introduzida a doença em uma área, devido à ausência de cultivares resistentes e de métodos curativos viáveis, sua epidemia pode ser relativamente rápida e destrutiva, caso medidas de controle baseadas na redução de inóculo e de vetores não sejam adotadas imediatamente. Isto porque a eficácia das medidas de controle do HLB é muito maior quando aplicadas no estágio inicial da epidemia. Quando a incidência de HLB for alta na área afetada, a eficácia dos esforços de controle da doença, por maiores que sejam, será muito reduzida. Adicionalmente, para supressão do avanço da doença recém introduzida a níveis economicamente

aceitáveis, é essencial a aplicação de todos os métodos de controle disponíveis em escala regional. Isto porque o controle do progresso e disseminação das infecções de HLB, dentro da região ao redor da propriedade, afeta grandemente a probabilidade e eficácia de se reduzir a velocidade da epidemia na propriedade. O citricultor pode ser muito rigoroso em controlar o vetor e eliminar as plantas sintomáticas, mas se os pomares da região não forem diligentemente manejados ou se houver várias plantas infectadas nas áreas vizinhas não comerciais ou urbanas, o seu pomar estará continuamente exposto às infecções primárias oriundas da alta população de psíldeos infectivos provenientes das plantas infectadas ao redor. Assim, a eficácia do controle do HLB pode ser sensivelmente aumentada se grupos de citricultores unirem esforços para estabelecer uma abordagem e política regional de manejo da doença.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aubert B (1987) *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. *Fruits* 42:149-162.
- Aubert B (1990) Integrated activities for the control of huanglongbing-greening and its vector *Diaphorina citri* Kuwayama in Asia. In: Aubert B, Tontyaporn S, Buangsuwon D (eds.) *Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region*. Proceedings of Asia Pacific International Conference on Citriculture, Chiang Mai, Thailand, 4-10 February 1990. UNDP-FAO, Rome. p. 133-144.
- Aubert B (1992) Citrus greening disease, a serious limiting factor for citriculture in Asia and Africa. *Proceedings of the International Society of Citriculture* 817-820.
- Aubert B, Sabine A, Geslin P & Picardi L (1984) Epidemiology of the greening disease in Reunion Island before and after the biological control of the African and Asian citrus psyllas. *Proceedings of the International Society of Citriculture* 1: 440-442.
- Bassanezi RB, Bergamin Filho A, Amorim L & Gottwald TR (2006a) Epidemiology of huanglongbing in São Paulo. *Proceedings of Huanglongbing Greening International Workshop, Ribeirão Preto*. p.37.

- Bassanezi RB, Montesino LH, Amorim L, Gasparoto MCG & Bergamin Filho A (2009a) Yield reduction caused by huanglongbing in sweet orange in Brazil. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Epidemiology Workshop. p.1.
- Bassanezi RB, Montesino LH & Stuchi ES (2009b) Effects of huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. European Journal of Plant Pathology 125: 565-572.
- Bassanezi RB, Yamamoto PT, Gimenes-Fernandes N, Montesino LH, Gottwald TR, Bergamin Filho A & Amorim L (2009c) Effects of different strategies of control on spatial and temporal patterns of citrus huanglongbing. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Epidemiology Workshop. p.12-13.
- Bassanezi RB, Busato LA, Bergamin Filho A, Amorim L & Gottwald TR (2005) Preliminary spatial pattern analysis of huanglongbing in São Paulo, Brazil. In: Hilf ME, Duran-Vila N & Rocha-Peña MA (Eds.) Proc. 16<sup>th</sup> Conf. Intern. Organization Citrus Virol., Univ. California, Riverside. p. 341-355.
- Bassanezi RB & Bassanezi RC (2008) An approach to model the impact of huanglongbing on citrus yield. 2008. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando, p.301-304.
- Belasque Júnior J, Bassanezi RB, Yamamoto PT, Lopes SA, Ayres AJ, Barbosa JC, Tachibana A, Violante AR, Tank Junior A, Giorgetti CL, Di Giorgi F, Tersi FEA, Menezes GM, Dragone J, Catapani LF, Jank Junior RH & Bové JM (2008) Factors associated with control of huanglongbing in São Paulo, Brazil: a case study. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando, p.337-341.
- Belasque Júnior J, Bergamin Filho A, Bassanezi RB, Barbosa JC, Gimenes FN, Yamamoto PT, Lopes AS, Machado MA, Leite Jr. RP, Ayres AJ & Massari CA (2009) Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de *huanglongbing* (HLB, *greening*) visando o controle efetivo da doença. Tropical Plant Pathology 34:137-145.
- Bové JM, Teixeira DC, Wulff NA, Eveillard S, Saillard C, Bassanezi RB, Lopes SA, Yamamoto PT & Ayres AJ (2008) Several Liberibacter and Phytoplasma species are individually associated with HLB. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando, p.152-155.
- Capoor SP, Rao DG & Viswanath SM (1967) *Diaphorina citri*: a vector of the greening disease of citrus in India. Indian Journal of Agricultural Science 37:572-576.
- Catling HD (1970) The bionomics of the South African *Citrus psylla*, *Trioza erythrae* Del Guercio (Homoptera: Psyllidae). 4. Influence of predators. Journal of Entomological Society of South Africa 33: 341-348.
- Catling HD & Atkinson PR (1974) Spread of greening by *Trioza erythrae* (Del Guercio) in Swaziland. In: Weathers LG & Cohen M (Eds.) Proceedings of the 6<sup>th</sup> Conference of International Organization of Citrus Virologists, Univ. of California, Riverside. p. 33-39.
- Gatineau F, Loc HT, Tuyen ND, Tuan TM, Hien NT & Truc NTN (2006) Effects of two insecticide practices on population dynamics of *Diaphorina citri* and huanglongbing incidence in south Vietnam. Proceedings of Huanglongbing–Greening International Workshop, Ribeirão Preto, Brazil. p.110.
- Gottwald TR, Aubert B & Huang KL (1991) Spatial pattern analysis of citrus greening in Shantou, China. In: Brlansky RH, Lee RF & Timmer LW (Eds.) Proceedings of the 11<sup>th</sup> Conference of the International Organization of Citrus Virologist, Univ. California, Riverside. p. 421-427.
- Gottwald TR, Aubert B & Zhao XY (1989) Preliminary analysis of citrus greening (Huanglongbing) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. Phytopathology 79:687-693.
- Gottwald TR, da Graça JV & Bassanezi RB (2007a) Citrus huanglongbing: the pathogen, its epidemiology, and impact. Plant Healthy Progress doi:10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.
- Gottwald TR & Irely M (2008) The plantation edge effect of HLB: a geostatistical analysis. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. p.305-308.
- Gottwald TR, Irely M, Bergamin Filho A, Bassanezi RB & Gilligan C (2008a) A stochastic spatiotemporal analysis of the contribution of primary versus secondary spread of HLB. Proceedings of the International



- Research Conference on Huanglongbing, Orlando. p.285-290.
- Gottwald TR, Irey M & Taylor E (2008b) HLB survival analysis – A spatiotemporal assessment of the threat of an HLB-positive tree to its neighbors. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. p.291-295.
- Gottwald TR, Irey M, Gast T, Parnell S, Taylor E & Hilf ME (2007b) Spatio-temporal analysis of an HLB epidemic in Florida and implications for future spread. In: Proceedings of the 17<sup>th</sup> Conference of the International Organization Citrus Virologists, Univ. California, Riverside (in press).
- Gottwald TR, Parnell S, Taylor E, Poole K, Hodge J, Ford A, Therrien L, Mayo S & Irey M (2008) Within-tree distribution of *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. p.310-313.
- Halbert SE & Manjunath KL (2004) Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist 87: 330-353.
- Hartung JS, Harbert S & Shatters R (2008) Can *Ca. Liberibacter asiaticus* be transmitted through citrus seed? Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. p.188.
- Hung TH, Wu ML & Su HJ (2000) Identification of alternative hosts of the fastidious bacterium causing citrus greening disease. Journal of Phytopathology 148: 321-326.
- Hung TH, Wu ML & Su HJ (2001) Identification of the Chinese box orange (*Severinia buxifolia*) as an alternative host of the bacterium causing citrus huanglongbing. European Journal of Plant Pathology 107: 183-189.
- Irey MS, Gast T & Gottwald TR (2006) Comparison of visual assessment and polymerase chain reaction assay testing to estimate the incidence of the Huanglongbing pathogen in commercial Florida citrus. Proceedings of Florida State Horticultural Society 119: 89-93.
- Korsten L, Jagoueix S, Bové JM & Garnier M (1996) Huanglongbing (greening) detection in South Africa. In: da Graça JV, Moreno P & Yokomi RK (Eds.) Proceedings of the 13<sup>th</sup> Conference of the International Organization of Citrus Virologists. IOCV, Riverside, CA. p.395-398.
- Li W, Hartung JS & Levy L (2007) Evaluation of DNA amplification methods for improved detection of ‘*Candidatus Liberibacter species*’ associated with citrus Huanglongbing. Plant Disease 91:51-58.
- Lin CK (1963) Notes on citrus yellow shoot disease. Acta Phytophylact. Sin. 2:243-251.
- Lopes SA & Frare GF (2008) Graft transmission and cultivar reaction of citrus to ‘*Candidatus Liberibacter americanus*’. Plant Disease 92:21-24.
- Lopes SA, Martins EC & Frare GF (2005) Detecção de *Candidatus Liberibacter americanus* em *Murraya paniculata*. Summa Phytopathologica 31: 48-49.
- Lopes SA, Martins EC & Frare GF (2006) Detecção de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em *Murraya paniculata*. Fitopatologia Brasileira 31:303.
- Lopes SA, Bertolini E, Frare GF, Martins EC, Wulff NA, Teixeira DC, Fernandes NG & Cambra M (2009a) Graft transmission efficiencies and multiplication of ‘*Candidatus Liberibacter americanus*’ and ‘*Ca. Liberibacter asiaticus*’ in citrus plants. Phytopathology 99:301-306.
- Lopes SA, Frare GF, Bertolini E, Cambra M, Fernandes NG, Ayres AJ, Marin DR & Bové JM (2009b) Liberibacters associated with citrus huanglongbing in Brazil: ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ is heat tolerant, ‘*Ca. L. americanus*’ is heat sensitive. Plant Disease 93:257-262.
- Manjunath KL, Halbert SE, Ramadugu C, Webb S & Lee RF (2008) Detection of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. Phytopathology 98: 387-396.
- McClellan APD & Oberholzer PCJ (1965) *Citrus psylla*, a vector of greening disease of sweet orange. South Africa Journal of Agricultural Science 8:297-298.
- Roistacher CN (1996) The economics of living with citrus diseases: huanglongbing (greening) in Thailand. In: Moreno P, da Graça JV & Yokomi RK (Eds.) Proceedings of the 13<sup>th</sup> Conference of the International Organization of Citrus Virologists. IOCV, Riverside, CA. p. 279-285.



Schwarz RE (1967) Results of greening survey on sweet orange in the major citrus growing areas of the Republic of South Africa. South Africa Journal of Agricultural Science 10:471-476.

Schwarz RE, Knorr LC & Prommintara M (1973) Presence of citrus greening and its psylla vector in Thailand. FAO Plant Protection Bulletin 21:132-138.

Tatineni S, Sagaram US, Gowda S, Robertson CJ, Dawson WO, Iwanami T & Wang N (2008) In planta distribution of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and Real-Time PCR. Phytopathology 98: 592-599.

Teixeira DC, Saillard C, Couture C, Martins EC, Wulff NA, Jagoueix-Eveillard S, Yamamoto PT, Ayres AJ & Bové JM (2008) Distribution and quantification of *Candidatus Liberibacter americanus*, agent of huanglongbing disease of citrus in São Paulo State, Brasil, in leaves of an affected sweet orange tree as determined by PCR. Molecular and Cellular Probes 22:139-150.

Yamamoto PT, Felipe MR, Garbim LF, Coelho JHC, Ximenes NL, Martins EC, Leite APR, Sousa MC, Abrahão DP & Braz JD (2006) *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. Proceedings of Huanglongbing Greening International Workshop, Ribeirão Preto. p.96.

Zhao XY (1981) Citrus yellow shoot (Huanglongbing) in China: a review. Proceedings of the International Society of Citriculture 1:466-469.