

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

**DETECÇÃO DE *Xylella fastidiosa* E QUANTIFICAÇÃO DA CLOROSE
VARIEGADA DOS CITROS EM POMARES NO AMAZONAS**

MANAUS-AM
2023

EMANUELLE VALESKA BILHAR ARAÚJO

**DETECÇÃO DE *Xylella fastidiosa* E QUANTIFICAÇÃO DA CLOROSE
VARIEGADA DOS CITROS EM POMARES NO AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como parte das exigências para obtenção do título de MSc. em Agronomia Tropical.

ORIENTADORA: JÂNIA LÍLIA DA SILVA BENTES LIMA

**COORIENTADORA: ANA FRANCISCA TIBÚRCIA AMORIM FERREIRA E
FERREIRA**

**MANAUS-AM
2023**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A663d Araújo, Emanuelle Valeska Bilhar
Detecção de Xylella fastidiosa e quantificação da clorose variegada dos citros em pomares no Amazonas / Emanuelle Valeska Bilhar Araújo . 2023
86 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Jânia Lília da Silva Bentes Lima
Coorientadora: Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira
Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Epidemiologia. 2. CVC. 3. PCR. 4. Amazonas. I. Lima, Jânia Lília da Silva Bentes. II. Universidade Federal do Amazonas III.
Título


EMANUELLE VALESKA BILHAR ARAÚJO

**DETECÇÃO DE *Xylella fastidiosa* E QUANTIFICAÇÃO DA CLOROSE
VARIEGADA DOS CITROS EM POMARES NO AMAZONAS**


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como parte das exigências para obtenção do título de MSc. em Agronomia Tropical.

Aprovada em 16 de agosto de 2023


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 JANIA LILIA DA SILVA BENTES LIMA
Data: 30/08/2023 12:58:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra Jânia Lília da Silva Bentes Lima, Presidente
Universidade Federal do Amazonas-UFAM

Documento assinado digitalmente
 AGNO NONATO SERRAO ACIOLI
Data: 31/08/2023 15:14:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Agno Nonato Serrão Acioli
Universidade Federal do Amazonas-UFAM

Documento assinado digitalmente
 HELVECIO DELLA COLETTA FILHO
Data: 31/08/2023 16:42:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Helvécio Della Coletta Filho
Instituto Agrônômico de Campinas- IAC

DEDICATÓRIA

*Dedico essa dissertação aos meus pais,
Manoel Araújo e Solange Dantas, meus
maiores exemplos nesta vida.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida por me dar coragem, força, e perseverança para concluir mais esta etapa.

A Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical (PPGATR) pela oportunidade e ambiente propício à evolução e crescimento profissional.

A minha orientadora Jânia Lília, por aceitar conduzir o meu trabalho de pesquisa, pelo desafio e paciência em me orientar, pelas correções, incentivos, ombro amigo e pelas valiosas contribuições, serei eternamente grata.

A minha coorientadora Ana Francisca Tibúrcia, que me ensinou e me manteve motivada durante essa trajetória, pela dedicação excepcional, por me indicar a direção correta a seguir e pela ajuda científica e psicológica, suas contribuições e amizade fizeram toda a diferença na minha vida acadêmica e pessoal, gratidão.

Ao Governo do Estado do Amazonas por meio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela concessão de bolsa de estudo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio a esta pesquisa.

Ao corpo docente, direção e administração, que contribuíram para minha formação acadêmica, política e social e abriram minha visão para o mundo, principalmente ao professor Agno Acioli, a quem tenho um grande carinho e admiração.

Ao professor Helvécio Della Coletta Filho que se dispôs a me orientar presencialmente e por todos os ensinamentos compartilhados.

Ao Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola, minha segunda casa, pelo suporte no desenvolvimento deste trabalho, e aos meus colegas de

laboratório pela ajuda e direcionamentos, vocês foram essenciais na conclusão desta jornada.

Aos meus pais, Manoel da Silva Araújo e Solange Dantas Bilhar por sempre estarem ao meu lado, por todo amor, apoio e confiança, esta dissertação é a prova de que seus esforços não foram em vão.

As minhas irmãs Stéphanie Julianne e Lígia Fernanda e minha irmã de coração Gabriela Pontes por todo suporte, amparo e por me fazerem ter confiança nas minhas decisões.

Aos meus avós paternos Manoel Lima (*in memorian*) e Luzia Rosa (*in memorian*) e meus avós maternos José Paulino e Jacinta Dantas (*in memorian*) que em meio a tantas dificuldades acreditavam que a educação seria a ferramenta transformadora na vida de seus filhos, netos e bisnetos.

As minhas companheiras de curso e de campo Paola Moreno e Rafaela Figueiredo por se tornarem minha família e por compartilharem uma das fases mais importantes da minha vida.

Aos meus amigos Roneres Deniz, Emerson Simões, Eneida Alice, Marcos Lemos e Ramon Lima pela amizade, carinho, apoio e pelas boas lembranças criadas nesses dois anos, sem vocês eu não conseguiria.

E a todos que participaram direta ou indiretamente desta pesquisa e contribuíram de alguma forma.

DETECÇÃO DE *Xylella fastidiosa* E QUANTIFICAÇÃO DA CLOROSE VARIEGADA DOS CITROS EM POMARES NO AMAZONAS

RESUMO

A clorose variegada dos citros (CVC) é uma doença causada pela *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, bactéria Gram-negativa limitada ao xilema das plantas e disseminada por vetores e material propagativo infectado. Em meados da década de 1980 e início dos anos 2000, a CVC foi considerada a doença mais grave dos citros no Brasil, causando perdas na produção e prejuízos milionários aos produtores. O patógeno foi detectado pela primeira vez no Amazonas em 2007, onde foram realizados estudos de avaliação visual da doença, e também a detecção e isolamento do patógeno. Em 2021, um outro estudo foi realizado com foco somente na detecção da bactéria. Nesse sentido, este trabalho buscou quantificar a intensidade da doença, isolar e detectar o patógeno em pomares oriundos da região metropolitana de Manaus (AM). A intensidade da doença foi quantificada usando as medidas de incidência e severidade em plantas com diferentes idades e combinações copa-porta-enxerto, como as copas de laranja 'Pêra' e 'Natal' e os enxertos de Limão 'Cravo' e Tangerina 'Cleópatra'. O isolamento bacteriano foi realizado com as técnicas de diluição seriada e de "prints" ou carimbo em meio de cultura BCYE. A detecção molecular foi feita através de PCR convencional com os primers específicos para *X. fastidiosa*, RST31/RST33, usando como molde o DNA genômico vegetal e bacteriano. As maiores incidências foram observadas em Iranduba e Manaus, com 100% da doença nas plantas inspecionadas, seguidas por Rio Preto da Eva, com 68%, os maiores níveis de severidade em pomares destes municípios foram no nível 4, todos os quadrantes com sintomas. O isolamento bacteriano resultou no crescimento de 21 isolados de Rio Preto da Eva e 14 isolados de Manaus. A presença da doença foi detectada em quatro dos oito municípios avaliados.

Palavras-Chave: Epidemiologia; CVC; PCR; Amazonas.

DETECTION OF *Xylella fastidiosa* AND QUANTIFICATION OF CITRUS VARIEGATE CHLOROSIS IN ORCHARDS IN AMAZON

ABSTRACT

Citrus variegated chlorosis (CVC) is a disease caused by *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, a gram-negative bacterium limited to the xylem and spread by vectors and infected propagation material. In the mid-1980s and early 2000s, CVC was considered the most serious disease of citrus in Brazil, causing production losses and millionaire losses to producers. The pathogen was detected for the first time in Amazonas in 2007, where visual assessment studies of the disease were carried out, as well as the detection and isolation of the pathogen. In 2021, another study was carried out focusing only on detecting the bacteria. In this sense, this work sought to quantify the intensity of the disease, isolate and detect the pathogen in orchards from the metropolitan region of Manaus (AM). The disease intensity was quantified using incidence and severity measures in plants with different ages and scion-rootstock combinations, such as 'Pêra' and 'Natal' orange tree scions and 'Rangpur' lemon and 'Cleopatra' tangerine scions. Bacterial isolation was performed using serial dilution techniques and "prints" or stamps in BCYE culture medium. Molecular detection was performed by conventional PCR with specific primers for *X. fastidiosa*, RST31/RST33, using plant and bacterial genomic DNA as a template. The highest incidences were observed in Iranduba and Manaus, with 100% of the disease in the inspected plants, followed by Rio Preto da Eva, with 68%, the highest levels of severity in orchards of these municipalities were in level 4, all quadrants with symptoms. Bacterial isolation resulted in the growth of 21 isolates from Rio Preto da Eva and 14 isolates from Manaus. The presence of the disease was detected in four of the eight.

Key-words: Epidemiology; CVC; PCR; Amazon.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Sintomas da clorose variegada dos citros. A. Manchas cloróticas irregulares na face adaxial da folha. B. Pústulas de coloração palha na face abaxial das folhas. C. Frutos pequenos, duros e com rachaduras.....24
- Figura 2.** Mapa de localização dos municípios amostrados com os respectivos pontos de coleta. Os pontos de amostragem estão representados por um ponto preto.....36
- Figura 3.** Croqui da área amostral inspecionada para as análises de intensidade da doença. As variáveis de incidência e severidade foram realizadas em uma a cada quatro plantas da linha em um intervalo de três fileiras.....37
- Figura 4.** Quantificação da severidade de CVC por diferentes quadrantes da planta. Sintomas em um quadrante: 25% de severidade; Sintomas em dois quadrantes: 50% de severidade; Sintomas em três quadrantes: 75% de severidade e sintomas em quatro quadrantes: 100% de severidade.....38
- Figura 5.** Croqui da área amostral para coleta de folhas e ramos sintomáticos e assintomáticos, as coletas foram realizadas a cada 20m entre plantas da mesma linha e o (X) representou o intervalo das fileiras.....39
- Figura 6.** Incidência de Clorose Variegada dos Citros (CVC) em pomares nos municípios de Itacoatiara, Presidente Figueiredo, Manacapuru, Iranduba, Manaquiri, Manaus e Rio Preto da Eva, no estado do Amazonas.....44
- Figura 7.** Severidade da CVC de acordo com o número de quadrantes da copa com sintomas da doença e pelo número de plantas amostradas nos pomares dos municípios de Iranduba, Itacoatiara, Manacapuru, Manaquiri, Manaus, Presidente Figueiredo e Rio Preto da Eva. *Amostragem não realizada em Careiro.....47
- Figura 8.** Colônias de *Xylella fastidiosa* em meio BCYE.....55
- Figura 9.** Bandas 1, 3, 4, 5, 7 e 8 (amostras positivas de Manaus (MAO) Primeira Coleta). banda 9 (DNA da bactéria *Xylella fastidiosa* 9a5c), banda 10 (DNA de laranjeira sadia), banda 11 (Água ultrapura presente na reação de PCR). Marcador molecular de 100pb Ladder Plus (Sinapse Biotecnologia)....59
- Figura 10.** Precipitação total mensal e temperatura média mensal dos meses de coleta e dos meses que o antecedem.....60

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Municípios selecionados para quantificação da intensidade da CVC e isolamento e detecção da <i>Xylella fastidiosa</i> | 35 |
| Tabela 2. Coordenada Geográfica dos pomares escolhidos e nº de amostras coletadas para análises de quantificação da intensidade da doença e isolamento e detecção da <i>Xylella fastidiosa</i> | 35 |
| Tabela 3. Percentual de incidência da CVC por idade do pomar..... | 51 |
| Tabela 4. Isolados bacterianos preservados em meio PW líquido/glicerol..... | 54 |
| Tabela 5. Detecção molecular da bactéria <i>X. fastidiosa</i> em tecido vegetal em dois períodos do ano..... | 58 |

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVOS | 16 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 16 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 16 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 3.1 LARANJA DOCE (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck.) | 16 |
| 3.2 PRODUÇÃO NACIONAL..... | 19 |
| 3.3 PRODUÇÃO NO AMAZONAS..... | 20 |
| 3.4 <i>Xylella fastidiosa</i> Wells et al.,1987..... | 21 |
| 3.4.1 Clorose Variegada dos Citros (CVC) | 23 |
| 3.4.2 Infecção e Colonização | 25 |
| 3.4.3 Disseminação e Sobrevivência | 27 |
| 3.4.4 O Manejo da CVC | 29 |
| 3.5 MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO | 31 |
| 3.5.1 Métodos Moleculares Para Detecção da <i>Xylella fastidiosa</i> | 31 |
| 3.5.2 Métodos Serológicos Para Detecção da <i>Xylella fastidiosa</i> | 32 |
| 3.5.3 Isolamento Bacteriano e Método Adicional | 32 |
| 3.5.4 Métodos de Quantificação da CVC | 33 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 34 |
| 4.1 ÁREA DE ESTUDO | 34 |
| 4.2 AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA | 37 |
| 4.3 COLETA DE AMOSTRAS | 39 |
| 4.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS..... | 40 |
| 4.5 ISOLAMENTO DE <i>X. fastidiosa</i> | 40 |
| 4.6 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO VEGETAL E BACTERIANO..... | 41 |
| 4.7 DETECÇÃO MOLECULAR DE <i>X. fastidiosa</i> | 42 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 43 |
| 5.1 AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA | 43 |
| 5.2 ISOLAMENTO DE <i>X. fastidiosa</i> | 53 |
| 5.3 DETECÇÃO MOLECULAR DE <i>X. fastidiosa</i> | 56 |
| 6. CONCLUSÃO | 63 |
| 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 63 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 64 |

1. INTRODUÇÃO

Os citros correspondem ao agrupamento de todas as espécies do gênero *Citrus* e dos gêneros *Fortunella* e *Poncirus*, pertencentes a família Rutaceae e subfamília Aurantioideae, que agrupam espécies como o limão (*Citrus limon* L. Osbeck), a lima (*C. limettioides* Tanaka), a tangerina (*C. reticulata* Blanco) e a laranja (*C. sinensis* L. Osbeck). Essas plantas são originárias do sudoeste asiático, embora possuam habitats nativos no Paquistão, Índia, Malásia e arquipélago Polinésio (Wu *et al.*, 2018).

A laranja é a espécie de citros mais difundido no mundo, e é um híbrido formado por três espécies ancestrais, a cidra (*C. medica*), a tangerina (*C. reticulata*) e o pomelo (*Citrus maxima*) (Wu *et al.*, 2018). O Brasil é o maior produtor da fruta, com uma safra de laranja 2022/23 estimada em 16,5 milhões de toneladas (USDA, 2023).

O agronegócio da laranja é bastante tecnificado e as vantagens dos plantios atuais de citros estão na obtenção de genótipos resistentes, visto que o controle de pragas e doenças resultam na aplicação constante de insumos químicos. Por outro lado, estratégias mais sustentáveis baseadas em biotecnologia como o desenvolvimento de plantas transgênicas, a superexpressão de peptídeos antimicrobianos (AMP), e procedimentos ligados aos receptores vegetais no reconhecimento do patógeno tem sido usada (Caserta *et al.*, 2019).

As perdas acometidas por vírus, fungos, oomicetos e bactérias são algumas problemáticas associadas à citricultura brasileira. As principais doenças são o Huanglongbing (HLB), também conhecido como Greening (*Candidatus Liberibacter africanus*, *Ca. Liberibacter asiaticus*, *Ca. Liberibacter americanus*), que afetou 43,4 milhões de árvores em 2021, o Cancro Cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*) com 21 milhões de árvores infectadas em 2021, e a Clorose Variegada dos Citros (CVC) (*Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*) que recentemente afetou 890.000 árvores em 2021 em áreas comerciais de São Paulo e Minas Gerais (Caserta *et al.*, 2019; USDA, 2021; Fundecitrus, 2023a).

1 A CVC, também conhecida por “amarelinho”, foi por muitos anos a
2 principal doença da citricultura brasileira, ocasionando a perdas de milhões de
3 árvores, e gerando prejuízos econômicos na ordem entre 100 e 120 milhões de
4 dólares ao ano (Lopes *et al.*, 2004; Bové e Ayres, 2007; Coletta-Filho *et al.*,
5 2020). Os primeiros relatos da doença no Brasil surgiram no final da década de
6 1980, a partir de sintomas desconhecidos em pomares de laranja no estado de
7 São Paulo, que foram atribuídos primeiramente a doenças nutricionais e
8 posteriormente até ao HLB (Coletta-Filho e Souza, 2014).

9 O agente causal da CVC é uma bactéria endêmica da América do Sul,
10 restrita ao xilema da planta e disseminada por enxertia, mudas contaminadas,
11 ou cigarrinhas, que se alimentam da seiva presente no xilema (Moro, Zanoni e
12 Azevedo Filho, 2019; Froza e Mejdalani, 2022). Algumas culturas de
13 importância econômica como a oliveira (*Olea europaea* L.), o tabaco (*Nicotiana*
14 *tabacum* L.) e o cafeeiro (*Coffea* spp.) também são hospedeiras da *Xylella*
15 *fastidiosa* subespécie *pauca* Wells *et al.*, 1987 (De Negri, 1990; Almeida *et al.*,
16 2014; Martelli *et al.*, 2016; Bergsma-Vlami *et al.*, 2017; Rapicavoli *et al.*, 2018;
17 Abou-Kubaa *et al.*, 2019).

18 Os sintomas da doença na folha são manchas cloróticas de forma
19 irregular na face adaxial, que correspondem a pústulas de coloração palha na
20 face abaxial das folhas, e em alguns casos a murcha. Nos ramos os sintomas
21 observados são seca, estriamento e desfolhas. Os frutos permanecem
22 pequenos e duros, tendendo a rachar devido ao estresse hídrico ocasionado
23 pela obstrução dos vasos condutores (Fundecitrus, 2007; Janse e Obradovic,
24 2010, Fundecitrus, 2023b).

25 Existem centenas de plantas hospedeiras da *X. fastidiosa*, contudo,
26 muitas espécies são assintomáticas, demonstrando diferenças de
27 suscetibilidade ao patógeno. Para a detecção da bactéria em material vegetal e
28 no vetor são realizados testes serológicos, como o Elisa, membrana de
29 imunofluorescência, ensaio de imunoligação de ponto (DIBA) e
30 imunofluorescência indireta (IF), e testes moleculares, como a PCR
31 convencional, a PCR quantitativa em tempo real e os testes de amplificação
32 isotérmica (LAMP) ((López, Landa e Noales, 2017; EPPO, 2019).

1 Outros métodos adicionais incluem a observação por microscopia
2 eletrônica e isolamento em meio de cultura. No entanto, face ao crescimento
3 fastidioso da bactéria o isolamento em meio de cultura é bastante difícil e
4 demorado, mesmo com plantas sintomáticas, e requer cuidados para evitar o
5 crescimento de contaminantes (López, Landa e Noales, 2017; EPPO, 2019).

6 O manejo da CVC consiste principalmente no plantio de mudas sadias e
7 protegidas do inseto vetor, a diminuição da população de cigarrinhas por meio
8 de controle químico e na poda de ramos sintomáticos ou na eliminação da
9 planta doente (Coletta-Filho e Souza, 2014).

10 No ano de 2021 a CVC obteve o menor percentual de incidência da
11 história (0,46%) na região citrícola de São Paulo (Caserta *et al.*, 2019,
12 Fundecitrus, 2021). Atribui-se a isto, entre outros fatores, ao programa de
13 mudas certificadas, livres de patógenos, crescidas em ambiente protegido de
14 vetores (viveiros telados). No entanto, em contrapartida a esses resultados,
15 não há evidências do controle da CVC no Amazonas, uma vez que a doença é
16 observada na maioria dos municípios produtores (Jansen, 2007; Silva, 2021).

17 O Amazonas é o segundo maior produtor de laranja da região norte do
18 Brasil, e a região metropolitana de Manaus constitui uma área de expansão da
19 citricultura. Essa atividade é realizada principalmente por pequenos produtores
20 rurais, em mais de 1.307 unidades familiares, e em uma área colhida de
21 1.109ha. No ano de 2015, a produção atingiu cerca de 56 mil toneladas/ total e
22 consolidou este segmento no estado, atualmente são produzidas mais de 77
23 mil toneladas da fruta em todo o estado, com um dos maiores rendimentos
24 médios (kg/ha) do país (IBGE, 2015; IBGE, 2017; IBGE 2021, IBGE, 2023).

25 *Xylella fastidiosa* foi relatada pela primeira vez no Amazonas por
26 Jansen (2007), e por Silva (2021), entretanto, não existem dados atuais sobre o
27 patógeno no estado. A escassez de informações sobre a distribuição e os
28 danos causados pela bactéria, acabam por inviabilizar a adoção de medidas
29 efetivas de controle no estado, e também a importância da doença no
30 Amazonas, visto que a doença é muitas vezes negligenciada, sendo
31 comumente associada a problemas nutricionais.

1 Com a expansão da citricultura no Amazonas, tornam-se importantes
2 essas e outras informações para que não haja redução da vida útil dos
3 genótipos de laranja doce plantados em decorrência da doença. Este trabalho
4 teve como objetivo quantificar a intensidade da CVC, isolar e detectar o
5 patógeno em pomares de diferentes regiões produtoras do estado do
6 Amazonas.

7 **2. OBJETIVOS**

8

9 2.1 OBJETIVO GERAL

10 Detectar a ocorrência de *X. fastidiosa* e quantificar a intensidade da
11 doença em pomares de laranja doce no Amazonas, como subsídio para o
12 manejo da doença.

13 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

14

15 a) Quantificar a incidência e severidade da CVC em laranjeiras das localidades
16 de Manaus, Iranduba, Rio Preto da Eva, Presidente Figueiredo, Manacapuru,
17 Itacoatiara e Manaquiri e Careiro;

18 b) Detectar, por meio de ferramentas moleculares, *X. fastidiosa* em amostras
19 sintomáticas e assintomáticas de laranja doce coletadas em pomares das
20 localidades citadas acima; Manaus, Iranduba, Rio Preto da Eva, Presidente
21 Figueiredo, Manacapuru, Itacoatiara, Manaquiri e Careiro.

22 c) Realizar o isolamento de *X. fastidiosa* a partir de diferentes variedades de
23 laranja doce previamente diagnosticada como positiva para o patógeno.

24 **3. REVISÃO DE LITERATURA**

25

26 3.1 LARANJA DOCE (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.)

27 A laranja é um híbrido natural desenvolvido a partir do Pomelo (*Citrus*
28 *maxima* (Burm.) Merr.), tangerina (*C. reticulata* var. Ponkan) e a cidra (*C.*
29 *medica*), pertencente a subfamília Aurantioideae e família Rutaceae (Mattos
30 Junior *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2018). O centro de origem mais provável é o
31 sudeste asiático, sobretudo nas regiões tropicais e subtropicais (Wu *et al.*,

1 2018). O primeiro relato desta cultura ocorreu a cerca de 2.000 anos a.C., na
2 China, chegando ao Brasil possivelmente no estado da Bahia durante o
3 período de colonização pelos portugueses, na intenção de combater o
4 escorbuto, doença causada pela deficiência de vitamina C que afligia os
5 marinheiros durante as grandes navegações (Le Couteur e Burreson, 2006;
6 Gurgel e Lewinsohn, 2010; Fernandes, 2010; Siqueira e Salomão, 2017).

7 A laranjeira é uma árvore de porte médio, com folhas verde escuro,
8 flores hermafroditas, pétalas brancas e frutos tipo baga, classificados como
9 hesperídios (Siqueira e Salomão, 2017). A espécie é considerada rústica, com
10 características adaptativas a diferentes condições ambientais, o que possibilita
11 seu cultivo em diversos países, como o Brasil, que possui condições
12 edafoclimáticas favoráveis para seu desenvolvimento (Natale *et al.*, 2012).

13 O plantio recomendado para as laranjeiras é em solos profundos, bem
14 drenados, com boa aeração e retenção de água, que facilitam o
15 desenvolvimento radicular (Böettcher, Gonzatto e Petry, 2018). O nitrogênio,
16 fósforo e potássio (NPK) são elementos que atuam diretamente na produção e
17 qualidade dos frutos, e o planejamento desta etapa leva em consideração as
18 exigências de pomares em formação e dos pomares em produção (Mattos
19 Junior *et al.*, 2018). De modo geral os fertilizantes representam de 15 a 25%
20 dos custos totais, especialmente em áreas com solos pobres ou de média
21 fertilidade (Souza e Galdino, 2019).

22 A necessidade hídrica da laranja varia nos diferentes estádios
23 fenológicos, sendo as fases de floração e frutificação as que demandam um
24 maior requerimento de água. A adoção do método de irrigação deve considerar
25 o tipo de solo e sua capacidade na eficiência de água e energia sem que afete
26 a produtividade (Coelho *et al.*, 2011).

27 A propagação da espécie pode ser feita de forma sexuada, por
28 sementes, ou assexuada, por apomixia, estaquia, mergulhia, micropropagação
29 e enxertia, sendo esta última a mais usual pelos produtores. A propagação
30 sexuada é utilizada em programas de melhoramento genético e as demais
31 técnicas de propagação são realizadas para manter caracteres agrônômicos e
32 acelerar os estádios juvenis (Souza e Schäfer, 2018).

1 As principais variedades de copa ou enxerto são *Citrus sinensis* são:
2 Var. 'Pêra', var. 'Valência', var. 'Natal' e var. 'Folha murcha', e os principais
3 porta-enxertos são limão (*C. limon* var. *cravo*), tangerina (*C. reticulata*
4 Blanco var. *cleópatra*), trifoliata (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) e citrumelo Swingle
5 (*Citrus paradisi* Macf. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (Mattos Junior *et al.*, 2005;
6 Bastos *et al.*, 2014).

7 A laranja 'Pêra' possui porte médio, copa ereta, maturação o ano todo,
8 alto teor de suco e baixa acidez, sendo o principal enxerto do Brasil difundido
9 em todas as regiões produtoras. O limão-cravo, também conhecido por limão
10 caipira, divide com o citromelo Swingle; o posto de principal porta-enxerto
11 utilizado. Ambos apresentam tolerância ao vírus da tristeza dos citros, causada
12 pelo vírus *Citrus tristeza virus C*, que ocasionou sérios danos à citricultura nos
13 anos 1940. O porta-enxerto limão cravo também possui outras características
14 genéticas que o fazem ser atrativo para os plantios, como a resistência à seca
15 (Prudente e Silva, 2006; Souza e Muller, 2006; Bastos *et al.*, 2014).

16 Desde a produção de mudas até a comercialização do fruto existem
17 pragas e doenças associadas à laranja, e os prejuízos são visualizados com a
18 redução da produtividade ou nos danos diretos causados no produto
19 comercializado. As principais pragas são o ácaro da leprose dos citros ou da
20 falsa ferrugem (*Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939); *B. papayensis* Baker
21 (1949); *B. yothersi* Baker, 1949 (Acari: Tenuipalpidae)), escama farinha
22 (*Unaspis citri* (Comstock, 1883) (Hemiptera: Diaspididae)), ortézia
23 (*Orthezia praelonga* Douglas, 1891 (Hemiptera: Ortheziidae)), mosca-das-
24 frutas (ex: *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae);
25 *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) e *Neosilba*
26 spp. (Diptera: Lonchaeidae)), larva minadora dos citros (*Phyllocnistis citrella*
27 Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)), pulgões (ex: *Aphis spiraecola*
28 Patch, 1914 (Hemiptera: Aphididae) e *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy, 1907)
29 (Hemiptera: Aphididae)), bicho-furão (*Gymnandrosoma aurantianum* (Lima,
30 1927) (Lepidoptera: Tortricidae)), cigarrinhas (ex: *Acrogonia citrina* Marucci &
31 Cavichioli, 2002 (*Oncometopia* (Signoret, 1854) (Hemiptera: Cicadellidae),
32 psilídio (*Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Triozidae) e mosca

1 negra (*Aleurocanthus woglum* Ashby, 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae)
2 (Fundecitrus, 2023c).

3 Atualmente os cinco maiores produtores mundiais de laranja são Brasil
4 (16,5 milhões de toneladas), China (7,6 milhões/toneladas), União Européia
5 (5,9 milhões/toneladas), México (4,2 milhões/toneladas) e Egito (3,6
6 milhões/toneladas), e os maiores produtores mundiais de suco de laranja são
7 Brasil (1,1 milhões de toneladas), México (176 mil toneladas) e Estados Unidos
8 (125 mil toneladas), respectivamente. De acordo com dados recentes de
9 produção (safra 2023/2024) o Brasil detém 3/4 do mercado global de
10 processamento da fruta, produções (USDA, 2023).

11

12 3.2 PRODUÇÃO NACIONAL

13

14 A laranja passou a ser cultivada de forma comercial no Brasil em
15 meados do século XX, em virtude do declínio do café e dos incentivos
16 governamentais. Nos anos de 1960, devido a grande demanda do mercado
17 internacional, foi criado o complexo agroindustrial de citros, e o estado de São
18 Paulo se sobressaiu entre os demais por ser uma região já industrializada, por
19 ter mão de obra qualificada e instituições de pesquisas que auxiliaram neste
20 processo (Fernandes, 2010; Franco, 2016).

21 Os Estados Unidos dominavam o mercado no início do século XX,
22 liderando em área colhida, produção e como precursor na instalação de
23 fábricas de processamento da fruta. A partir de 1980, o país começou a perder
24 sua colocação para o Brasil, devido a problemas ambientais, como as geadas,
25 furacões e tempestades tropicais. E em 2005, com a ocorrência do HLB na
26 Flórida, as perdas na produção foram ainda maiores, gerando prejuízos
27 milionários aos produtores (Geraldello, 2015).

28 Atualmente a laranja é a principal frutífera cultivada no Brasil, e o estado
29 de São Paulo representa 76,14% da produção nacional, sendo o maior
30 produtor nacional, com cerca de 12.762 milhões de toneladas provenientes de
31 uma área plantada ao redor de 369.247 ha (Zucoloto, Schimdt e Coelho, 2015;
32 IBGE, 2023).

1 Segundo estimativas da Fundecitrus (2023d), a região citrícola do
2 estado de São Paulo, em conjunto com o triângulo mineiro (Minas Gerais)
3 produzirá na safra de 2023/2024 cerca de 309,34 milhões de caixas (40,8 kg).

4 Em segundo lugar entre os maiores produtores de laranja do Brasil está
5 o estado de Minas Gerais (6,44%), seguido pelo Paraná (4,79%), Bahia
6 (3,78%), Sergipe (2,14%), Rio Grande do Sul (1,90%) e Pará (1,54%).
7 Considerando a região fisiográfica o Sudeste representa 83,11% da produção,
8 o Nordeste 6,63%, o Sul 6,90%, o Norte 2,23% e o Centro-Oeste 1,13% (IBGE,
9 2023).

10 A produção de suco de laranja é o principal produto citrícola do estado
11 paulista, que exportou 97,5% do volume de sucos produzidos no país em 2022.
12 Neste mesmo ano houve um aumento do volume comercializado e a
13 valorização do preço de exportação, culminando em um maior faturamento
14 desde a queda nos preços ocorrida em 2018 (Vidal, 2023).

15 Apesar da notoriedade, o estado de São Paulo vem enfrentando
16 dificuldades crescentes no controle de doenças, principalmente o HLB, e para
17 que o Brasil consiga manter sua posição no cenário internacional é necessário
18 fortalecer a cultura da laranjeira em outras regiões do país (Bastos *et al.*, 2015;
19 Erpen *et al.*, 2018).

20

21 3.3 PRODUÇÃO NO AMAZONAS

22

23 Durante a imigração japonesa no Amazonas, na década de 1930, os
24 *koutakusseis*, como eram conhecidos os estudantes de agronomia da escola
25 superior de emigração japonesa, implantaram a cultura da juta na região
26 amazônica através da concessão de milhões de hectares pelo governo
27 estadual. Neste processo, os imigrantes acabaram fortalecendo outras culturas
28 na região, como a laranja, contudo, a produção comercial desta fruta iniciou
29 somente na década de 1970 (Homma, 2016; Muto e Aragon, 2019; IDAM,
30 2019).

1 O Amazonas é o segundo maior produtor de laranja da região Norte do
2 país e ocupa a décima posição nacional, com 2.411 citricultores em uma área
3 plantada de 5.109 ha. No ano de 2023 a produção atingiu 77.727 toneladas, e
4 uma grande parcela das laranjas cultivadas no estado são exportadas para
5 Roraima (IDAM, 2019; IBGE, 2023). A citricultura no estado do Amazonas
6 ocorre sobretudo na região metropolitana de Manaus, que representa 82,5% da
7 produção do Amazonas, e compreende os municípios de Manaus,
8 Manacapuru, Itacoatiara, Iranduba, Manaquiri, Presidente Figueiredo, Careiro e
9 Rio Preto da Eva, sendo este último o maior produtor do estado (IDAM, 2019;
10 IBGE, 2021).

11 Atualmente a fruticultura é o segundo maior segmento agrícola do
12 Amazonas, e dentre as lavouras permanentes, a produção de laranja fica atrás
13 somente da produção de banana e açaí, tornando-se nos últimos anos uma
14 das atividades mais importantes do estado (IBGE, 2021; IDAM, 2022).

15 Como forma de incentivar a citricultura no estado, visto que a produção
16 atual não supre a demanda local, a cultura passou a fazer parte do programa
17 de 'Projetos Prioritários' do Instituto de Desenvolvimento Agropecuário do
18 Amazonas, que abrange cidades como Tefé, Careiro, Iranduba, Presidente
19 Figueiredo, Rio Preto da Eva, Manacapuru e Manaus (IDAM, 2020).

20 A região possui condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento
21 da cultura, mas um dos principais entraves na cadeia produtiva dos citros no
22 Amazonas são as doenças fitossanitárias, como a gomose, a pinta preta e a
23 podridão floral (Gasparotto, Junqueira e Pereira, 1998; Silva, 2006;
24 Nascimento, 2018).

25 O cancro cítrico e o HLB ainda são consideradas Praga Quarentenária
26 Ausente (PQA), mas a CVC já foi relatada nos pomares amazonenses desde
27 2007 (Jansen, 2007; ADAF, 2017; ADAF 2021), sendo então considerada uma
28 Praga Quarentenária Presente (PQP). Contudo, existem poucos dados sobre a
29 ocorrência, distribuição e impactos dessa doença na produção de laranja no
30 Amazonas.

31 3.4 *Xylella fastidiosa* Wells *et al.*, 1987

32

1 *Xylella fastidiosa* é uma bactéria Gram-negativa da classe
2 Gammaproteobacteria, ordem Xanthomonadales e família Xanthomonadaceae,
3 (Vos *et al.*, 2019). Com a descoberta da etiologia bacteriana da doença mal-
4 de-pierce em 1978, outras bactérias com características semelhantes foram
5 associadas ao mesmo patógeno, causando doenças em plantas de vinca
6 (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.), pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) e
7 ameixeira (*Prunus domestica* L.), com sintomas de murcha, atrofia e
8 escaldadura (Wells *et al.*, 1987; Hopkins, 1989).

9 Em 1987, a bactéria foi descrita pela primeira vez por Wells e
10 colaboradores a partir de videiras com sintomas de mal-de-pierce. As colônias
11 apresentavam morfologia circular, áspera ou lisa, convexas ou pulvinadas, e
12 foram visualizadas a partir dos 10 dias de incubação, chegando a medir 1,5mm
13 de diâmetro. As células únicas possuíam forma de bastonete e foram
14 consideradas estritamente aeróbicas e habitantes do xilema, recebendo o
15 nome de *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987).

16 O gênero *Xylella* possui duas espécies, a *Xylella fastidiosa*, endêmica
17 das Américas, e a *Xylella taiwanensis*, endêmica de Taiwan, e foram propostas
18 ao todo seis subespécies; subsp. *pauca*, subsp. *sandyi*, subsp. *tashke*, subsp.
19 *morus*, subsp. *fastidiosa* e subsp. *multiplex*, todas com especiações alopátricas
20 destas, três são conhecidas por causarem problemas em culturas comerciais:
21 subsp. *pauca* que causa a CVC em laranjeiras, a atrofia de ramos em cafeeiro
22 e a síndrome do declínio rápido em oliveira, a subsp. *fastidiosa* que causa a
23 doença de pierce na videira e a queima das folhas na amendoeira e a subsp.
24 *multiplex* que causa sintomas de queima foliar na ameixeira, pessegueiro e
25 amendoeira.

26 Essa classificação é realizada através do relacionamento filogenético e
27 diferenciações observadas na sequência multilocus em testes MLST
28 (Multilocus sequence typing) e genômica (Janse e Obradovic, 2010; Almeida,
29 Coletta-Filho e Lopes, 2014; Rapicavoli *et al.*, 2018; Vos *et al.*, 2019; EPPO,
30 2020).

31 As estirpes de *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* que causam doença no
32 cafeeiro não causam doença nos citros, e são consideradas intra-subspécies, e

1 são agrupadas em clados ou grupos diferentes, entretanto a alta taxa de
2 recombinações entre elas possibilita a convergência genética e a capacidade
3 de infectarem o mesmo hospedeiro ou serem introduzidas em novas culturas
4 (Almeida, Coletta-Filho e Lopes, 2014, Coletta-Filho *et al.*, 2020).

5 Esta subespécie limitava-se às Américas, mas foi detectada no sul da
6 Itália em 2013 (Silva *et al.*, 2017). Estas últimas descobertas apontam não só a
7 patogenicidade da *X. fastidiosa* e a suscetibilidade de espécies botânicas de
8 importância agrônômica, como também a crescente lista de hospedeiras desta
9 bactéria (Saponari *et al.*, 2017).

10 **3.4.1 Clorose Variegada dos Citros (CVC)**

11

12 O primeiro relato de plantas com sintomas de CVC foram observados
13 em pomares de laranja doce no município de Macaubal, São Paulo, e
14 inicialmente foram associadas a deficiências nutricionais (Coletta-Filho e
15 Souza, 2014). Em seguida foi levantada a hipótese de que os sintomas eram
16 oriundos de infecções por *Candidatus Liberibacter* spp., mas após análises
17 laboratoriais na França esta hipótese foi descartada, visto que o patógeno era
18 limitado ao xilema (Rossetti e De Negri, 2011). Em 1993 foi realizado o
19 postulado de Koch que identificou a bactéria *Xylella fastidiosa* como o agente
20 causal da doença, a qual passou a ser conhecida por clorose variegada dos
21 citros em decorrência dos sintomas foliares (Coletta-Filho e Souza, 2014).

22 Os sintomas aparecem principalmente sobre as folhas e os frutos,
23 devido a alterações fisiológicas, a doença afeta a absorção e redistribuição de
24 nutrientes, por isso são comumente confundidos com distúrbios nutricionais de
25 zinco (Zn) e potássio (K). Nas folhas são formadas manchas cloróticas
26 irregulares na face adaxial e pústulas de coloração palha na face abaxial, que
27 se iniciam restritas a um ramo na copa e avançam por toda a planta. A
28 translocação da água e as folhas jovens podem ficar murchas, com limbo foliar
29 estreito e tamanho reduzido (Figura 1) (Rossetti e De Negri, 2011; Barbieri *et*
30 *al.*, 2023).

31 Com o avanço da doença, as áreas com clorose passam a necrosar,
32 ocorre a desfolha severa, e como a doença é sistêmica, não é possível reverter

1 o processo de infecção, em casos graves pode ocorrer a morte da planta
2 (Nogueira *et al.*, 2016). Os frutos ficam suscetíveis a queimaduras solares e
3 amadurecem precocemente, permanecendo pequenos. A quantidade de água,
4 acidez e açúcares também reduzem, tornando-os duros e inviáveis para a
5 comercialização. Esse processo ocorre em resposta ao estresse hídrico, e está
6 relacionado com a interrupção do fluxo de água, fazendo com que o fruto
7 acabe rachando (Marques e Garrido, 2018; Barbieri *et al.*, 2023).



8

9 **Figura 1.** Sintomas da clorose variegada dos citros. **A.** Manchas cloróticas irregulares na face
10 adaxial da folha. **B.** Pústulas de coloração palha na face abaxial das folhas. **C.** Frutos
11 pequenos, duros e com rachaduras.

12

13 A identificação dos vetores de *X. fastidiosa* foram comprovados em 1996
14 (Roberto *et al.*, 1996). As cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) são os
15 responsáveis pela transmissão primária (entre pomares) e secundária (entre
16 plantas do mesmo pomar). O material vegetativo, como enxertos
17 contaminados, é responsável pela disseminação a longas distâncias (Coletta-
18 Filho *et al.*, 2014).

1 As descobertas sobre a transmissão da bactéria por insetos e mudas
2 infectadas levaram a criação de um decreto estadual para produção de citros
3 em 2003 em São Paulo, em um programa de manejo para eliminação das
4 plantas doentes e exclusão dos insetos vetores, obrigando todos os produtores
5 a telarem os viveiros com mudas (Coletta-Filho *et al.*, 2020).

6 As perdas ocasionadas pela elevada severidade da doença
7 concentraram o foco para a bactéria no fim da década de 1990, e devido a sua
8 importância econômica e a inexistência do sequenciamento do genoma de um
9 fitopatógeno impulsionaram os estudos com a *X. fastidiosa*, considerado o
10 primeiro organismo causador de doenças em plantas a ser sequenciado no
11 mundo. Essa pesquisa foi um árduo trabalho desenvolvido por mais de 200
12 pesquisadores brasileiros e de universidades internacionais, através da rede
13 ONSA (Organização para Seqüenciamento e Análise de Nucleotídeos) e
14 financiamento da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de
15 São Paulo), intitulado “Projeto Genoma” e posteriormente publicado na revista
16 britânica *Nature* com o título “The genome sequence of the plant pathogen
17 *Xylella fastidiosa*” (Simpson *et al.*, 2000; Kimura e Baía, 2002).

18 Com o sequenciamento do genoma foi possível conhecer os principais
19 mecanismos de patogenicidade, toxicidade, aderência, metabolismo energético
20 e resistência antimicrobiana, além dos processos que auxiliam no transporte
21 sistêmico da bactéria através da planta (Simpson *et al.*, 2000; Rodrigues,
22 2011).

23 Os primeiros estudos para a confirmação da CVC no Amazonas foram
24 realizados por Gasparotto, Pereira e Pereira (2002), intitulado de
25 “Levantamento da incidência da leprose, pinta preta, clorose variegada dos
26 citros (CVC) e cancro cítrico nos pomares de citros do estado do Amazonas” no
27 qual a doença não foi constatada. A segunda pesquisa foi realizada por Jansen
28 (2007) e a terceira por Silva (2021), que resultaram na detecção molecular do
29 patógeno em alguns municípios do Amazonas.

30 **3.4.2 Infecção e Colonização**

31

1 A capacidade de colonizar sistematicamente o hospedeiro é o maior
2 fator de patogenicidade da *X. fastidiosa*. Ao ser inoculada na planta, as células
3 bacterianas aderem-se a parede dos vasos do xilema, se multiplicam se unem
4 umas às outras e formam uma enorme comunidade bacteriana aderida à
5 parede do xilema, que passam a produzir exopolissacarídeos (EPSs) (Janse e
6 Obradovick, 2010; Carvalho *et al.*, 2022).

7 Esse agregado de organismos e proteínas são descritos como biofilme e
8 dificultam o fluxo de água e nutrientes nos vasos xilemáticos (Janse e
9 Obradovick, 2010; Martins *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2022). O biofilme
10 também é um fator de virulência e um mecanismo de resistência, conferindo
11 proteção a bactéria contra as respostas de defesa da planta e agentes
12 antimicrobianos (Caserta *et al.*, 2010). A formação do biofilme ocorre de forma
13 organizada e pode ser dividida em 5 etapas distinta: adesão reversível, adesão
14 irreversível, produção de substâncias extracelulares, maturação, e por último,
15 dispersão (Souza *et al.*, 2004; Caserta *et al.*, 2010; Janissen *et al.*, 2015).

16 No momento em que a bactéria é inoculada pela cigarrinha ela se adere
17 à parede do xilema. Essa é uma etapa inicial de infecção e são os nutrientes
18 disponibilizados pela planta, como o cálcio (Ca) e o magnésio (Mg) que
19 aumentam as forças adesivas do patógeno. O cálcio auxilia na consistência do
20 biofilme, tornando-o mais rígido e facilitando a oclusão do vaso condutor (Cruz,
21 Cobine e La Fuente, 2012).

22 *Xylella fastidiosa* possui uma gama de genes que codificam as adesinas,
23 facilitando a aderência irreversível, as células bacterianas produzem
24 exsudados compostos de proteínas e polissacarídeos em torno das células
25 xilemáticas, formando uma ponte entre a colônia e o xilema, a PilA2 e PilC são
26 exemplos de proteínas fimbriais importantes na formação e adesão do biofilme
27 (Caserta *et al.*, 2010; Janissen *et al.*, 2015). Na maturação, polímeros
28 extracelulares formam uma matriz que tem por objetivo dar suporte mecânico
29 ao biofilme, e durante este processo são observados a expressão de vários
30 genes envolvidos no metabolismo energético, na produção de proteínas
31 transportadoras, antígenos e mecanismos de regulação (Souza *et a.*, 2004;
32 Janissen *et al.*, 2015).

1 Com o fortalecimento do biofilme no vaso condutor as bactérias
2 colonizam o xilema e obstruem a passagem de água e nutrientes, causando os
3 sintomas característicos de deficiências nutricionais (Janissen *et al.*, 2015). A
4 última fase do ciclo da doença é a dispersão da bactéria, após o aumento da
5 comunidade bacteriana no xilema ocorre a desaderência do biofilme, e a
6 movimentação do patógeno está associado a fímbrias do tipo IV, responsável
7 pela mobilidade sistêmica na planta através da retração do *pilli*, também
8 chamado de *twitching motility* (Mattick, 2002; Silva, 2011). Assim como o Ca e
9 o Mg participam da adesão do patógeno, o Fe também participa do processo
10 de infecção, regulando a expressão de genes de virulência, como a *pili* tipo IV
11 (Cruz, Cobine e La Fuente, 2012).

12 A colonização da planta e do vetor são as formas de infecção mais
13 visíveis neste patossistema. No inseto a bactéria permanece de forma
14 persistente e não circulativa, multiplicando-se constantemente no cibário. Nas
15 fases ninfais a bactéria é perdida entre as equidizes, e quando adquirida na
16 fase adulta ela permanece até o fim do ciclo de vida do inseto, tornando o vetor
17 potencial por toda sua vida (Marques e Garrido, 2018; Roper, Castro e Ingel,
18 2019).

19 Os mecanismos envolvidos na virulência também são resultados da
20 ação de toxinas, como a Colicina-V., produção de antibióticos e do sequestro
21 de íons. Esses componentes atuam na prevenção do processo de biofilme e
22 contribuem principalmente para o crescimento e proliferação da comunidade
23 bacteriana (Simpson *et al.*, 2002; Burbank e Stenger, 2017).

24 **3.4.3 Disseminação e Sobrevivência**

25

26 A disseminação da bactéria em escala geográfica ocorre através da
27 movimentação de espécies hospedeiras assintomáticas e da troca de material
28 vegetal, e em nível de pomar se dá sobretudo por meio cigarrinhas portadoras
29 da bactéria (Marques e Garrido, 2018; Carvalho *et al.*, 2022). Os métodos de
30 reprodução assexuada, através do uso de material vegetal propagativo, são
31 bastante comuns na cultura da laranjeira e a inoculação bacteriana pode
32 ocorrer durante o processo de enxertia ou borbulhia, ao utilizar material
33 contaminado (Silva *et al.*, 2017). Apesar da bactéria colonizar outras partes da

1 planta, não há indícios da transmissão vertical por sementes (Coletta-Filho *et*
2 *al.*, 2014).

3 A sobrevivência da bactéria pode ocorrer em plantas hospedeiras
4 alternativas, algumas assintomáticas. Dados da European Food Safety
5 Authority (EFSA, 2020) lista mais de 590 espécies de plantas hospedeiras da
6 *X. fastidiosa*, contabilizando 82 famílias botânicas, contudo, os índices de
7 severidade variam entre espécies e cultivares, ao passo que muitas acabam
8 sendo assintomáticas e tornam-se um perigo para a cultura principal.

9 A identificação de espécies daninhas como fontes de inóculo do
10 patógeno permite um manejo eficiente do pomar. Estudos sugerem que plantas
11 espontâneas, facilmente ignoradas em campo, podem abrigar a bactéria, assim
12 como o sabugueiro preto (*Sambucus canadenses*), cravorana (*Ambrosia*
13 *artemisiifolia*), chapéu Mexicano (*Ratibida columnifera*), pepino listrado
14 (*Diplocyclos palmatus*) e a magnólia (*Magnolia grandiflora*).

15 A ausência dos sintomas pode ser entendida como um período latente
16 da bactéria ou como a resistência da planta hospedeira à infecção do patógeno
17 (Marques e Garrido, 2018). Para compreender o processo de disseminação da
18 bactéria é necessário um entendimento do comportamento alimentar do vetor
19 (Krugner *et al.*, 2019).

20 A transmissão ocorre em três diferentes etapas, conhecidas como
21 aquisição, retenção e inoculação da bactéria, primeiramente, o inseto explora o
22 tecido vegetal, em seguida realiza picadas de provas curtas e, por último, opera
23 uma ingestão mais longa da seiva, através do bombeamento cibarial, a
24 cigarrinha adquire a bactéria ao sugar os nutrientes presentes em uma planta
25 sintomática, e ao se alimentar de uma planta sadia, acaba inoculando a
26 bactéria, a maior eficiência de aquisição pelas cigarrinhas ocorre em média 48
27 horas, mas a infecção pode acontecer nas primeiras horas de sua alimentação
28 (Yamamoto e Lopes, 2004; Krugner *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2022).

29 Análises microscópicas sugerem que *X. fastidiosa* não fica
30 uniformemente dentro da cigarrinha, mas é retida em áreas específicas
31 localizadas no estomodeu, como o cibário, multiplicando-se e tornando a
32 cigarrinha um vetor potencial por toda sua vida. Uma das teorias que buscam

1 explicar a deposição bacteriana nos xilemas das plantas está relacionada com
2 a tensão negativa dos vasos condutores, no qual desprenderia uma força
3 inversa a sucção, ocasionando o refluxo da seiva e a introdução do patógeno
4 (Schneider e Azevedo Filho, 2014; Graner, 2014).

5 As cigarrinhas vetoras de *X. fastidiosa* pertencem a família Cicadellidae
6 (Hemiptera: Auchenorrhyncha), com cerca de 50 subfamílias, nos quais a
7 Cicadellinae e Deltocephalinae são as mais estudadas (Cavichioli e Takiya,
8 2012). No Brasil existem aproximadamente 70 espécies, nos quais 17% são
9 vetores da bactéria causadora da CVC (Fundecitrus, 2023c). Os vetores de *X.*
10 *fastidiosa* são polípagos com aparelho sugador, específico para a sucção da
11 seiva presente nos vasos condutores do xilema e amplamente distribuído em
12 todas as regiões do Brasil. (Yamamoto e Lopes, 2004; Schwantes, Pacheco E
13 Azevedo Filho, 2021).

14 As condições térmicas interferem diretamente no aumento do número de
15 cigarrinhas e conseqüentemente do seu comportamento alimentar, resultando
16 na disseminação do patógeno. O verão e o início do período chuvoso são tidos
17 como a principal época de propagação do vetor, e no momento em que o
18 pomar é submetido ao frequente estresse hídrico, o inseto diminui sua taxa de
19 alimentação e sobrevivência (Roberto e Yamamoto, 1998; Pereira *et al.*, 2005;
20 Nunes *et al.*, 2007; Giacomelli *et al.*, 2022).

21 O processo de disseminação é um dos fatores primordiais nas
22 recombinações potenciais das cepas, durante a restrição no aparelho bucal do
23 inseto infectado as bactérias entram em contato com cepas de localidades
24 distintas, e a necessidade de adaptação favorece as trocas gênicas, as
25 recombinações também ocorrem a partir da deposição da bactéria em outras
26 plantas sintomáticas (Potnis *et al.*, 2019).

27 **3.4.4 O Manejo da CVC**

28

29 A forma mais eficiente de manejo da doença é o controle dos insetos
30 vetores, além do uso de mudas saudáveis, poda de ramos sintomáticos e a
31 eliminação de plantas doentes ou hospedeiras (Lopes *et al.*, 2004; Martinelli,
32 2021, Bassanezi, Primiano e Moreira, 2021).

1 Para a minimização da população de cigarrinhas são utilizados
2 inseticidas sistêmicos registrados para a cultura de citros. Este procedimento é
3 realizado com a muda ainda em viveiro, e as aplicações devem ser mantidas
4 após a transferência ao campo. Os inseticidas sistêmicos apresentam alta
5 seletividade, e maior período de proteção, tornando-se vantajosos durante o
6 estabelecimento da cultura, diminuindo de forma precoce os insetos vetores
7 nos pomares (Yamamoto *et al.*, 2002; Bassanezi, Primiano e Moreira, 2021).

8 Para realização da poda é necessária uma inspeção do pomar para
9 determinação da presença de sintomas da doença, seguido do corte da área
10 afetada. A poda é realizada 70cm a partir da última folha inferior com sintomas,
11 e no local retirado são utilizadas pastas cúpricas para evitar que a área exposta
12 seja infectada por novos agentes patogênicos (Fundecitrus, 2023b).

13 Atualmente existem instruções normativas que englobam todo território
14 nacional expedido pelo MAPA e exigem que as sementes utilizadas para
15 produção de porta-enxertos sejam cadastradas na CDA e que as mudas
16 obrigatoriamente passem por exames laboratoriais para comprovação da
17 ausência da *X. fastidiosa*. As portarias estaduais devem segui-las, podendo ser
18 mais restritivas, como o decreto estadual nº 47.931, de 07 de julho de 2003,
19 que exige que os viveiros e depósitos sejam telados (São Paulo, 2003).

20 No Amazonas não existe legislação estadual específica para o manejo
21 da CVC, e as instruções referentes aos citros incluem apenas normativas
22 nacionais, como a IN. 21, de 25 de abril de 2018, que disponibiliza os
23 procedimentos necessários para o estabelecimento e manutenção do status
24 fitossanitário relativo ao Cancro Cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*), e o Art.
25 1º da Portaria Nº 317, de 21 de maio de 2021, que institui o Programa Nacional
26 de Prevenção e Controle da doença Huanglongbing (HLB) (Brasil, 2018; Brasil,
27 2021). Mesmo que não exista uma legislação própria que direcione os
28 produtores locais, é ideal que a comercialização de mudas seja realizada em
29 viveiros registrados e que não possuam casos de contaminação.

30 No ano de 2023 a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
31 (Embrapa), juntamente com a Fundação Coopercitrus Credicitrus e o Centro de
32 Citricultura Sylvio Moreira (IAC) lançaram uma variedade tolerante a *X.*

1 *fastidiosa*, a Navelina XR, uma cultivar de laranjeira de umbigo destinada ao
2 consumo *in natura* onde o manejo da CVC passa a ser menos intensivo
3 (Embrapa, 2023).

4 3.5 MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

5 **3.5.1 Métodos Moleculares Para Detecção da *Xylella fastidiosa***

6 A PCR (Polymerase Chain Reaction ou Reação em Cadeia da
7 Polimerase) e a PCR em tempo Real (qPCR) são os principais métodos
8 moleculares para detecção da *X. fastidiosa*. Essas técnicas baseiam-se na
9 amplificação de sequências alvos e consistem na polimerização *in vitro* do DNA
10 e é considerada mais sensível que a convencional e muito eficiente na
11 detecção da bactéria, além de se destacar pela rapidez e confiabilidade dos
12 resultados (Watson *et al.*, 2015; Baldi e La Porta, 2017; López, Landa e Noales,
13 2017; Caro, Cáceres e Caycedo, 2019; Ramírez, 2020).

14 Os *primers* empregados na amplificação da bactéria se anelam a
15 diferentes regiões do genoma e possuem pesos moleculares distintos, entre
16 eles, o S-S-X.fas-0838-a-S-21 e S-S-X.fas-1439-a-A-19 (Rodriguez *et al.*,
17 2003), XF-F e XF-R (HARPER *et al.*, 2010), XF-F3, XF- B3, XF-FIP, XF-BIP,
18 XF-LF, XF-LB (Harper *et al.*, 2010) e RST31/RST33 (Minsavage *et al.*, 1994).

19 Os primers RST31/RST33 são comumente adotados em trabalhos de
20 detecção da *X. fastidiosa*. Esses iniciadores se ligam a uma região genômica
21 conservada do fator sigma do RNA polimerase, que por sua vez é capaz de
22 catalisar a síntese de RNAm, RNAt e RNAr, as bactérias utilizam esse fator na
23 transcrição de genes de manutenção, como crescimento, virulência e estímulos
24 específicos (Francischini, 2010; Silva Neto *et al.*, 2007, Esteves *et al.*, 2019;
25 Waliullah *et al.*, 2019; Lloyd e Betchel, 2020; Waliullah *et al.*, 2022; Al-Karablieh
26 *et al.*, 2023).

27 Outra técnica molecular utilizada na detecção da *X. fastidiosa* é o LAMP
28 (Amplificação Isotérmica Mediada por Loop), que pode ser realizada em blocos
29 térmicos ou em banho maria e descarta a necessidade de equipamentos
30 específicos, amplificando o DNA em uma única temperatura. Essa amplificação
31 conta com seis primers diferentes, dois primers internos, dois primers externos

1 e dois loop primers e é considerada eficiente também na detecção do patógeno
2 através do DNA do inseto vetor (Harper, Ward e Clover, 2010; Nunes, 2013;
3 Yaseen *et al.*, 2015)

4 **3.5.2 Métodos Serológicos Para Detecção da *Xylella fastidiosa***

5
6 O ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) é um teste serológico
7 imunoenzimático, utilizado em diversos âmbitos da ciência, bem como em
8 estudos de doenças infecciosas. Ao todo existem 4 técnicas diferentes: ELISA
9 direto, ELISA indireto, ELISA sanduíche e ELISA por competição. O teste DAS-
10 ELISA (Double Antibody Sandwich) é utilizado em vários estudos para
11 confirmação da *X. fastidiosa* (Leite Junior, Leite e Ceresini, 1998; Bolanos *et*
12 *al.*, 2015; Franco *et al.*, 2021.; Alhajj, Zubair, Farhana, 2023).

13 Outro método que envolve a ligação antígeno-anticorpo é a
14 Imunofluorescência, que pode ser direta ou indireta. No teste indireto (IF) a
15 região alvo é marcada com fluoróforos através de um anticorpo, este
16 procedimento é considerado 1.000 vezes mais sensível que o DAS-Elisa na
17 detecção da bactéria e é empregado ainda na marcação de componentes das
18 células, como as proteínas (Yorinori *et al.*, 2003; Aoki *et al.*, 2010; Bersseli,
19 2023).

20 O western blotting, conhecido também por protein blotting ou
21 immunoblotting, é um método de biologia molecular focado na imunodetecção
22 de proteínas, permitindo inclusive a quantificação e caracterização dessas
23 moléculas. O método pode ser aplicado na detecção de componentes
24 pertencentes à *X. fastidiosa*, como as proteínas fimbriais PilA2 e PilC
25 produzidas na formação do biofilme (Caserta *et al.*, 2010; Miguel, Menezes e
26 Araújo, 2012).

27 **3.5.3 Isolamento Bacteriano e Método Adicional**

28
29 As metodologias aplicadas no isolamento bacteriano são muito
30 trabalhosas e o patógeno é bastante exigente nutricionalmente. Para seu
31 cultivo são utilizados meios de cultura específicos, ricos e complexos, podendo
32 ser líquidos ou sólidos, como o meio PW, PWG, XFM, BCYE, PD2 e CS20. As

1 colônias apresentam coloração branca, opalescente ou amarela, e podem ser
2 visualizadas a partir dos 10 dias, dependendo do meio escolhido (Munar *et al.*,
3 2017, Noales e Barbé, 2018; Santos, 2022; Carvalho *et al.*, 2022).

4 Recomendações da EPPO (2019) sugerem que sejam utilizados pelos
5 menos dois meios de cultura diferentes durante uma primeira detecção, sendo
6 o meio PWG o mais eficiente para a maioria das plantas isoladas. Outro passo
7 fundamental formulado pela EPPO é a desinfestação das placas, visto que a
8 bactéria pode demorar dias para crescer (± 28 dias), e assim aumentar as
9 chances de contaminações por outros microrganismos.

10 A Microscopia Eletrônica de Varredura é um método adicional na
11 verificação do patógeno, neste método as células bacterianas podem ser
12 visualizadas a partir de cortes transversais do tecido vegetal, como a nervura
13 ou o pecíolo, auxiliando na comprovação da doença (Silva *et al.*, 2004; Lins *et*
14 *al.*, 2008; Raimundi, 2013; Cariddi *et al.*, 2014; Marques e Garrido, 2018).

15 **3.5.4 Métodos de Quantificação da CVC**

16

17 A doença em campo pode ser mensurada por meio da incidência e da
18 severidade. A primeira é uma variável simples, mas precisa, que determina de
19 forma objetiva o número de plantas ou parte de plantas doentes em uma
20 população, e a segunda é uma variável mais laboriosa, pois quantifica a área
21 do tecido vegetal coberto por sintomas da doença (Vale e Zambolim, 1996;
22 Amorim e Bergamin Filho, 2018).

23 A severidade é quantificada por meio de escalas de notas e escalas
24 diagramáticas e são adaptadas por diferentes metodologias e critérios,
25 utilizando ramos, folhas ou toda planta e visam distribuir diferentes percentuais
26 correspondentes a agressividade da doença (Queiroz-Voltan, Perosin Cabral e
27 Paradela Filho, 2004; Amorim e Bergamin Filho, 2018, Fundecitrus, 2021).

28 Atualmente a aplicação de metodologias VI (Vegetation Index) são
29 bastante utilizadas na verificação do vigor da vegetação, através de índices de
30 clorofila, índice da área foliar e diferentes pigmentações do dossel, esta
31 abordagem permitiu a análise incidência de *Xylella fastidiosa* em oliveiras na

1 Itália, possibilitando a verificação da evolução temporal da doença (Hornero *et*
2 *al.*, 2020).

3 **4. MATERIAL E MÉTODOS**

4

5 4.1 ÁREA DE ESTUDO

6 A escolha dos municípios para coleta foi baseada nos dados do Instituto
7 Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2021), no qual foram selecionados
8 os municípios com maior produção de laranja. Os municípios selecionados
9 foram Rio Preto da Eva, Itacoatiara, Iranduba, Presidente Figueiredo, Careiro,
10 Manaquiri, Manaus e Manacapuru, sendo esta última localização uma região
11 fronteiriça entre dois municípios, que, geograficamente, corresponde a Beruri,
12 mas politicamente pertence a Manacapuru (Tabela 1; Tabela 2; Figura 2).

Tabela 1. Municípios selecionados para quantificação da intensidade da CVC e isolamento e detecção da *Xylella fastidiosa*.

| Municípios | Área destinada à colheita | Produção | Valor da produção R\$ |
|-----------------------|---------------------------|-----------|-----------------------|
| Rio Preto da Eva | 340 (ha) | 7.480 (t) | 11.220,00 (x1000) |
| Manacapuru | 224 (ha) | 3.476 (t) | 12.514,00 (x1000) |
| Itacoatiara | 106 (ha) | 1.314 (t) | 2.759,00 (x1000) |
| Irlanduba | 83 (ha) | 1.743 (t) | 2.266,00 (x1000) |
| Manaquiri | 67 (ha) | 1.206 (t) | 3.618,00 (x1000) |
| Presidente Figueiredo | 50 (ha) | 1.110 (t) | 3.300,00 (x1000) |
| Careiro | 30 (ha) | 330 (t) | 528,00 (x1000) R\$ |
| Manaus | 25 (ha) | 525 (t) | 998,00 (x1000) R\$ |

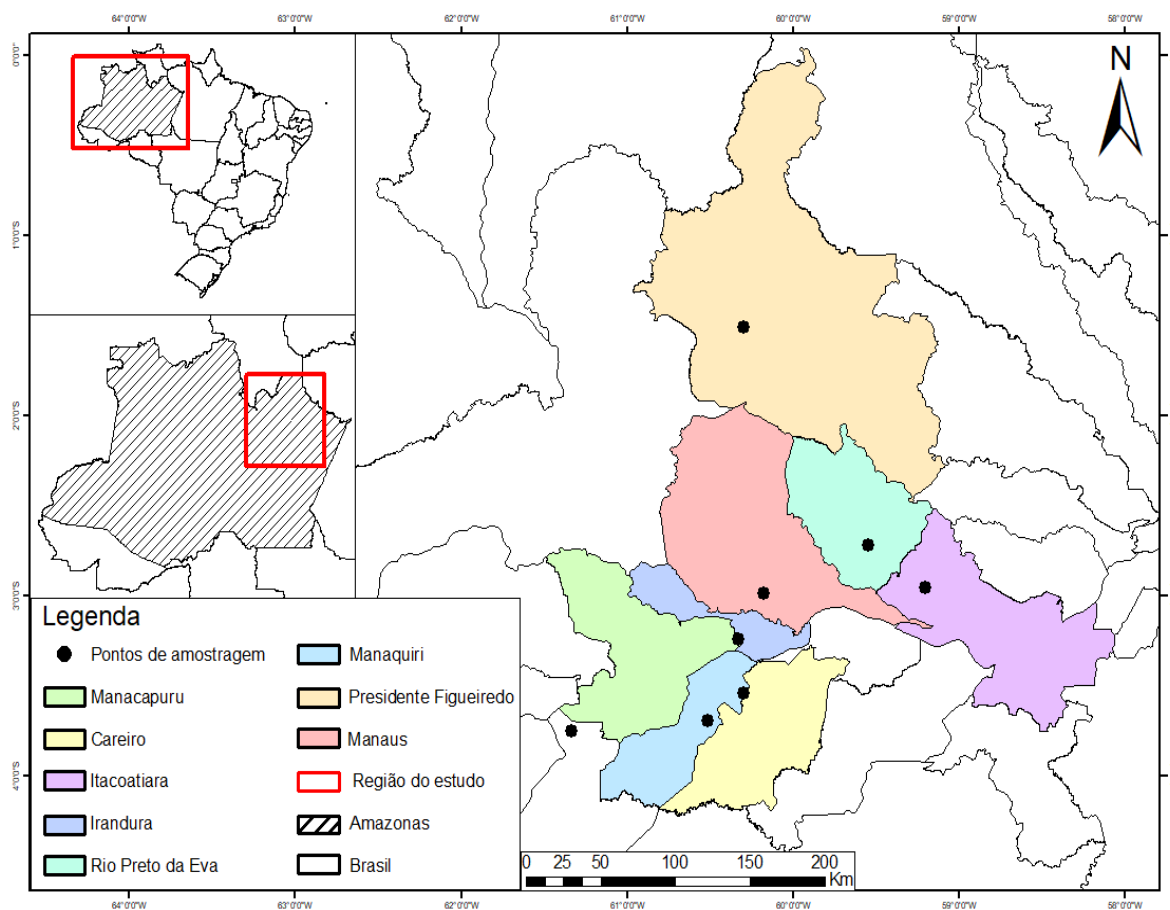
Fonte: IBGE (2021)

Tabela 2. Coordenada Geográfica dos pomares escolhidos e nº de amostras coletadas para análises de quantificação da intensidade da doença e isolamento e detecção da *Xylella fastidiosa*

| Propriedade | Coordenada Geográfica | Local | Nº de Amostras | Ano |
|-------------|-----------------------------|------------------|----------------|------|
| 1 | 2°43'00.7"S 59°26'40.3"W | Rio Preto da Eva | 30 | 2022 |
| 2 | 3°43'12.0"S 61°15'28.8"W | Manacapuru | 40 | 2022 |

| | | | | |
|---|-----------------------------|--------------------------|----|---------------|
| 3 | 2°56'08.0"S 59°09'18.6"W | Itacoatiara | 40 | 2022 |
| 4 | 3°12'15.6"S 60°13'39.4"W | Irاندوبا | 30 | 2022 |
| 5 | 3°34'46.7"S 60°24'39.8"W | Manaquiri | 10 | 2022 |
| 6 | 1°26'28.2"S 60°15'17.3"W | Presidente Figueiredo | 40 | 2022/ 2023 |
| 7 | 3°29'21.0"S 60°08'59.0"W | Careiro | 10 | 2022 |
| 8 | 2°52'44.6"S 60°04'39.9"W | Manaus | 55 | 2022 |

1



1 **Figura 2.** Mapa de localização dos municípios amostrados com os respectivos pontos de
2 coleta. Os pontos de amostragem estão representados por um ponto preto.

3

4 4.2 AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA

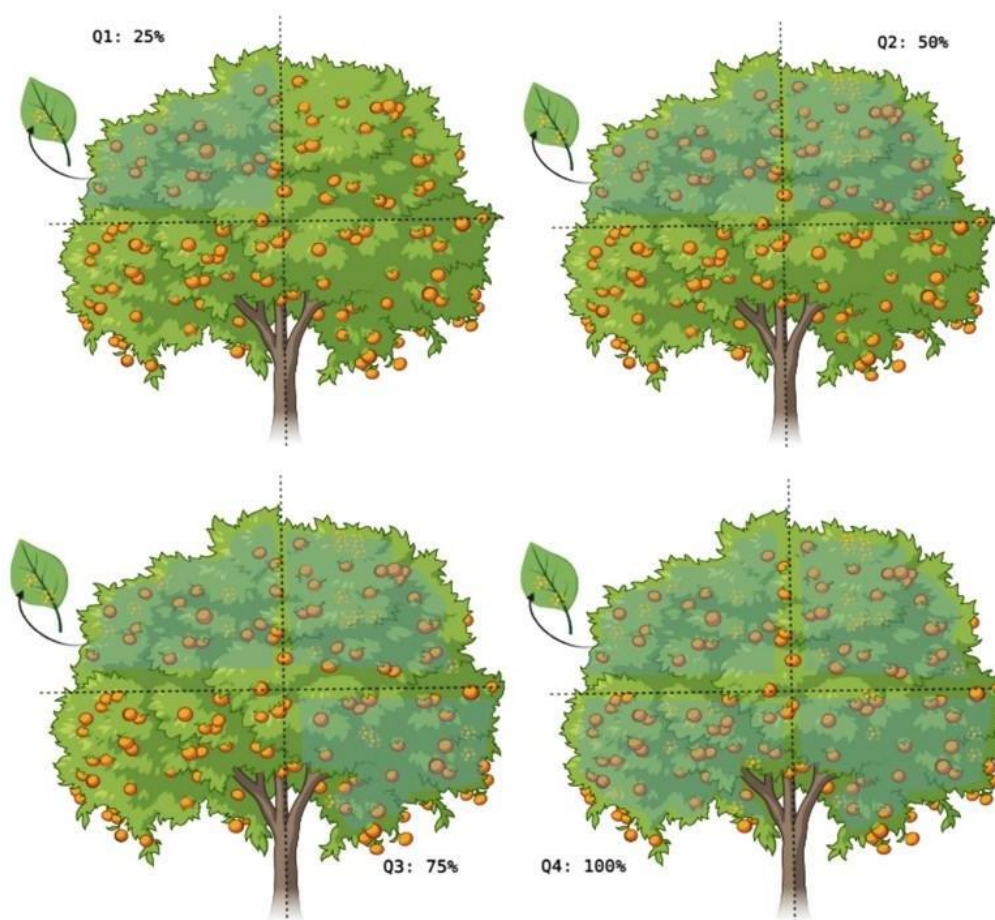
5

6 A intensidade da CVC foi avaliada usando duas variáveis, a incidência e
7 a severidade, e para obtenção dos dados as plantas foram selecionadas
8 conforme croqui (Figura 3) e posteriormente foram realizadas inspeções visuais
9 em uma a cada quatro árvores da linha, com um intervalo de três fileiras. As
10 informações registradas em campo foram reproduzidas no programa Excel e
11 para avaliação da incidência foram contados o número total de plantas do
12 talhão (NT) e o número total de plantas com sintomas (NS), seguidos pelo
13 cálculo: $\text{Incidência (\%)} = (\text{NS}/\text{NT}) * 100$ (Talamini, Ferreira e Ramos, 2013).



14 **Figura 3.** Croqui da área amostral inspecionada para as análises de intensidade da doença. As
15 variáveis de incidência e severidade foram realizadas em uma a cada quatro plantas da linha
16 em um intervalo de três fileiras.

1 A estimativa da severidade foi realizada a partir de uma escala de notas
2 adaptada de Fundecitrus (2021), com quatro níveis sendo: nível 1- inicial:
3 plantas com sintomas em um quadrante ou em 25% da copa; nível 2-
4 intermediária: plantas com sintomas em dois quadrantes ou em 50% da copa;
5 nível 3- severo: plantas com sintomas em três quadrantes ou em 75% da copa;
6 nível 4- extremamente severo: plantas com sintomas nos quatro quadrantes ou
7 em 100% da copa (Figura 4).



8 **Figura 4.** Quantificação da severidade de CVC por diferentes quadrantes da planta. Sintomas
9 em um quadrante: 25% de severidade; Sintomas em dois quadrantes: 50% de severidade;
10 Sintomas em três quadrantes: 75% de severidade e sintomas em quatro quadrantes: 100% de
11 severidade.

12

13 A avaliação da intensidade da doença foi realizada em apenas uma
14 época do ano, entre agosto e novembro de 2022, intervalo delimitado por
15 temperaturas médias mensais de 28,95 °C e precipitações médias de 74,85
16 mm, correspondendo ao período de estiagem (junho a novembro) (Cavalcante

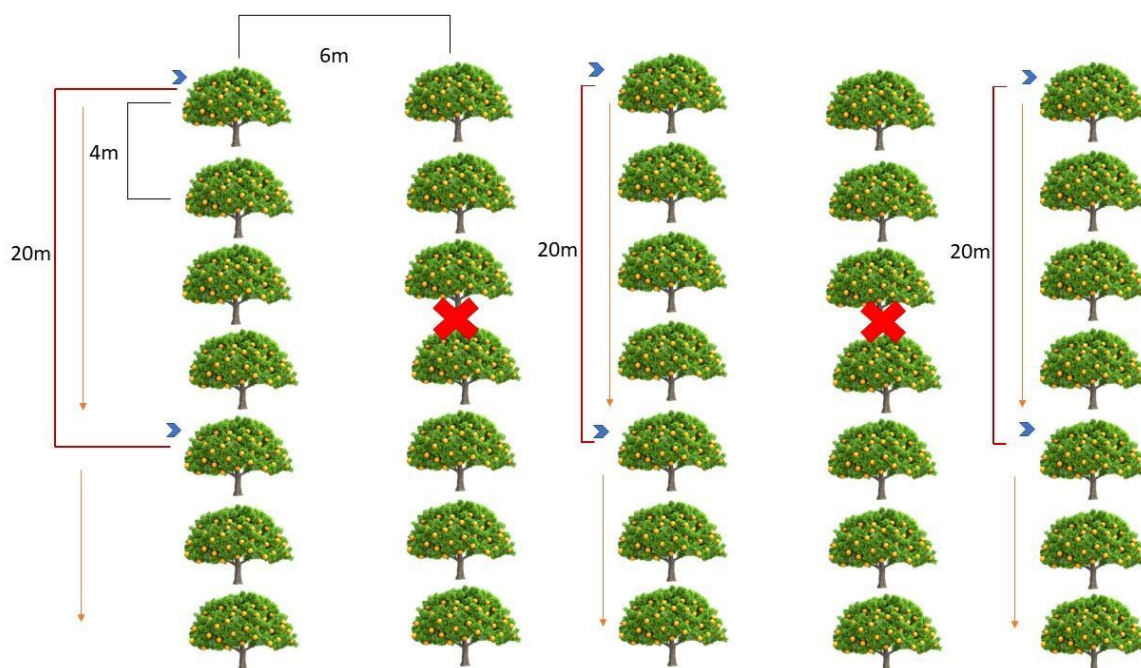
1 e Tony-Lee, 2014; Álvares, 2013; Franca, 2015; Monteiro, Pereira e Jiménez,
2 2016, INMET, 2023). Outras informações do pomar também foram levantadas,
3 como a idade do talhão e os genótipos de enxerto e porta enxerto.

4 4.3 COLETA DE AMOSTRAS

5

6 Foram coletadas cerca de 10 folhas sintomáticas e assintomáticas e 5
7 ramos de aproximadamente 12 cm por plantas de citros, em duas épocas do
8 ano, no período chuvoso, que corresponde de dezembro a maio, apresentando
9 precipitação média de 380 mm e temperatura média de 26,17 °C, e no período
10 de estiagem ou pouco chuvoso, de junho a novembro, com precipitação média
11 de 24mm e temperatura média de 29°C (Cavalcante e Tony-Lee, 2014 Franca,
12 2015, Monteiro, Pereira e Jiménez, 2016; INMET, 2023).

13 A distância mínima entre as plantas amostradas foi de 20 metros, ou a
14 cada 3 árvores, com o intervalo de uma fileira entre linhas, excluindo as plantas
15 nas bordas do talhão e acometidas por outras doenças como a gomose ou com
16 grau elevado de deficiência nutricional. De cada pomar foram recolhidas entre
17 10 a 20 amostras. O material foi identificado, transportado em sacos de papel
18 25x35cm e armazenado em freezer a -4°C. (Figura 5).



19

1 **Figura 5.** Croqui da área amostral para coleta de folhas e ramos sintomáticos e assintomáticos,
2 as coletas foram realizadas a cada 20m entre plantas da mesma linha e o (X) representou o
3 intervalo das fileiras.

4

5 4.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

6

7 O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de
8 Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal do Amazonas. Foram
9 selecionadas aleatoriamente de 6 a 10 folhas e 3 a 5 ramos por amostra. As
10 amostras foram lavadas com detergente líquido neutro e água corrente, e
11 secos em temperatura ambiente ($\pm 26^{\circ}\text{C}$). Com o auxílio de um bisturi
12 esterilizado nº4, foram retirados as nervuras centrais e o pecíolo das folhas. A
13 partir deste material, as amostras foram separadas em dois grupos, destinados
14 à extração de DNA e para o isolamento bacteriano.

15 4.5 ISOLAMENTO DE *X. fastidiosa*

16

17 Ramos e nervuras foram usadas para o isolamento da bactéria.
18 Inicialmente as amostras foram submetidas à desinfestação superficial (Álcool
19 70%/2 minutos; hipoclorito de sódio 2%/2 minutos; tríplice lavagem com água
20 destilada autoclavada/1 minuto) e secagem em papel de filtro, em condições
21 assépticas. Duzentos miligramas de cada amostra foram seccionados e
22 macerados em 2mL de tampão fosfato salino (Cloreto de Sódio (NaCl): 8g/L;
23 Cloreto de potássio (KCL): 0,2 g/L; Fosfato de Sódio Monobásico (NaH_2PO_4):
24 1,38 g/L; Fosfato de Potássio Monobásico (KH_2PO_4): 0,272 g/L; Tween 80: 1
25 mL/L; H₂O qsp: 1000 mL; gotas de hidróxido de potássio (KOH) para ajuste do
26 pH 6.8). O macerado resultante foi submetido à diluição seriada no mesmo
27 tampão, até a concentração de 10^{-3} .

28

29 Para o plaqueamento foram depositados equidistantes, três alíquotas de
30 15 μl da última diluição (10^{-3}), em placa de petri de 80 mm de diâmetro com
31 meio de cultura BCYE (*Buffered Charcoal Yeast Extract*), contendo: ACES
32 (ácido N-(2-acetamino)-2-amino-etanossulfônico/ $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$):10,0 g/L; extrato
33 de levedura: 10,0 g/L; carvão ativado: 2 g/L; bacto agar: 10,0 g/L; pirofosfato
férico ($\text{Fe}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_3$): 0,25g/L (dissolvido em 10 mL); L-cisteína ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$): 0,4

1 g/L (dissolvido em 10mL); hidróxido de potássio (KOH): 40 mL/L e H₂O qsp:
2 940mL (WELLS *et al.*, 1981). As placas foram mantidas na posição vertical
3 durante cerca de 3 minutos, para escorrimento.

4 O isolamento a partir da seiva contida nos ramos lenhosos foi realizado
5 pela técnica de “*prints*”, onde após a desinfestação, os ramos foram
6 seccionados em fragmentos de aproximadamente 5 cm, e com o auxílio de um
7 alicate flambado, estes foram comprimidos até que a seiva emergisse do ramo,
8 em seguida foram pressionados sobre o meio de cultura, formando “carimbos”
9 do tecido vegetal.

10 As placas foram incubadas em estufa bacteriológica (SolidSteel) em
11 temperatura de 30 °C até o aparecimento das colônias. As bactérias crescidas
12 foram repicadas e mantidas na mesma temperatura para o desenvolvimento
13 das colônias.

14 Os isolados obtidos foram previamente identificados e preservados em
15 tubos de criopreservação contendo 1 mL de meio líquido PW (*Periwinkle wilt*),
16 com: (phytone peptone (BBL 4311906): 4 g/L; trypticase peptone (BBL
17 4311921): 1g/L; cloreto de Hemina (C₃₄H₃₀ClFeN₄O₄.2H): 10 mL/L (0,1 g
18 dissolvida em 100mL de água destilada e adição de 0,2 g de NaOH (hidróxido
19 de sódio)); vermelho de fenol (C₁₉H₁₄O₅S): 10 mL (0,2 g dissolvido em 100 mL
20 de água destilada e adição de 0,2 g de NaOH (hidróxido de sódio); fosfato de
21 potássio dibásico (K₂HPO₄): 1,2 g/L; fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄):
22 1 g/L; sulfato de magnésio (MgSO₄.7H₂O): 0,4g/L; glutamina (C₅H₁₀N₂O₃):
23 50mL (4g dissolvida em 50mL de água destilada); BSA (albumina sérica
24 bovina): 15mL (3g dissolvida em 15mL de água destilada); X. H₂O qsp: 915 mL
25 e 1 mL de glicerol (C₃H₈O₃) (Davis *et al.*, 1981; Hill e Purcell, 1995).

26

27 4.6 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO VEGETAL E BACTERIANO

28

29 Para a extração de DNA, as nervuras de folhas sintomáticas foram
30 seccionadas em fragmentos menores e maceradas em nitrogênio líquido até a
31 formação de um pó fino. Deste material foram retirados 100 mg de cada
32 amostra, os quais foram transferidos para microtubos de 2mL. A extração de

1 DNA foi feita de acordo com o protocolo descrito por Murray e Thompson
2 (1980), e os DNAs obtidos foram ressuspensos em 50µL de água ultrapura.

3 A extração do DNA bacteriano foi realizada a partir das colônias isoladas
4 em meio BCYE, utilizando o kit DNA *Wizard Genomic DNA* (Promega), de
5 acordo com as recomendações do fabricante, e os DNAs obtidos foram
6 ressuspensos em 50µL de TE (Tris-EDTA).

7 A qualidade dos DNAs obtidos foi verificada em gel de agarose (0,8%) e
8 em espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific) por meio da razão
9 260/280. Com os dados obtidos, as concentrações foram ajustadas para
10 30ng/50µL.

11 4.7 DETECÇÃO MOLECULAR DE *X. fastidiosa*

12

13 A detecção de *X. fastidiosa* em plantas de laranjeira foi realizada
14 utilizando a reação em cadeia de polimerase (PCR) com o par de *primers*
15 específicos para *X. fastidiosa*, RST31 (5'-
16 GCGTTAATTTTCGAAGTGATTTCGATTGC-3') e RST33 (5'-
17 CACCATTCGTATCCCGGTG-3') desenvolvidos por Minsavage *et al.*, (1994). A
18 reação de PCR foi preparada para um volume final de 12 µL, contendo 2 µL do
19 DNA (20 ng. µl⁻¹), 2,4 µL de tampão incolor Go Taq ® Flexi (5X), 0,8 µL de
20 MgCl₂ (25 mM), 0,5 µL de dNTPs (10 mM), 0,25 µL de cada primer (5 µM), 0,12
21 µL da enzima Go Taq ® DNA polimerase (Promega), e 5,68 µL de água
22 ultrapura.

23 As reações de PCR foram realizadas em termociclador Biocycler
24 (Biosystems) seguindo o protocolo de Minsavage *et al.*, (1994), nas seguintes
25 condições: Desnaturação inicial a 95°C durante 3 min; 35 Ciclos de
26 desnaturação a 95°C durante 30 s, hibridização a 55°C durante 30 s, extensão
27 a 72°C durante 60 s e extensão final a 72°C durante 10 min. O controle positivo
28 utilizado foi constituído por uma amostra contendo DNA do isolado de *X.*
29 *fastidiosa* 9a5c, e os controles negativos foram uma amostra de DNA de
30 laranjeira sadia e uma amostra contendo água ultrapura presente na reação de
31 PCR. A amplificação das amostras foi verificada em gel de agarose 1,2%, (1,2

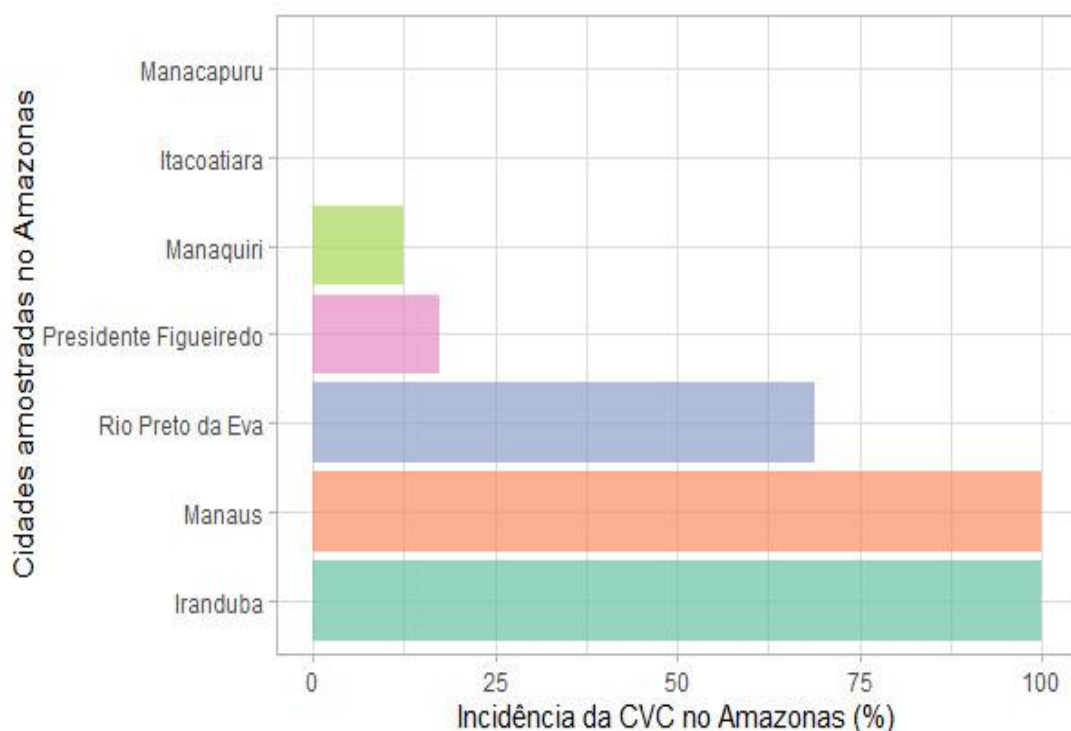
1 g de agarose e 100 mL de tampão TBE 1x (Tris- Ácido Bórico- EDTA) ou TAE
2 1x (TRIS / Ácido Acético /EDTA).

3 O gel foi visualizado em luz ultravioleta e o tamanho das bandas foi
4 comparado através do marcador de peso molecular de 1kb e 100pb Ladder
5 Plus (Sinapse Biotecnologia). Foram consideradas positivas as amostras que
6 apresentaram apenas uma banda de peso molecular de ~733 pares de base,
7 esse amplicon gerado refere-se ao fator sigma 70 da RNA polimerase,
8 sequência alvo amplificada.

9 **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

10 **5.1 AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA**

11 A intensidade da doença foi quantificada no período de agosto e
12 novembro de 2022, que corresponde ao período de estiagem. Foram
13 vistoriadas 35 plantas em Itacoatiara, 23 plantas em Presidente Figueiredo, 80
14 em Manacapuru, 31 em Iranduba, 40 em Manaquiri, 50 plantas em Manaus e
15 45 em Rio Preto da Eva. A incidência da CVC em pomares de Manaus e
16 Iranduba foi de 100%, porém em pomares de Itacoatiara e Manacapuru não foi
17 observado a ocorrência doença (0% de incidências de CVC). Resultados de
18 incidência próximas a 100% também foram relatadas nos estudos de Ayres,
19 Gimenes e Barbosa (2001), Theodoro *et al.* (2005), Simonetti *et al.* (2011) e
20 Bassanezi, Primiano e Moreira (2021) realizados no Sul e Sudeste do Brasil
21 (Figura 6).
22
23



1

2 **Figura 6.** Incidência de Clorose Variegada dos Citros (CVC) em pomares nos municípios de
 3 Itacoatiara, Presidente Figueiredo, Manacapuru, Iranduba, Manaquiri, Manaus e Rio Preto da
 4 Eva, no estado do Amazonas.

5

6 Anteriormente, Rio Preto da Eva foi considerada a localidade mais
 7 afetada pela CVC e em concordância com o que foi observado por Jansen
 8 (2007) foi verificado uma alta incidência em um pomar de Rio Preto da Eva,
 9 contudo, na propriedade de Iranduba e Manaus foram obtidos resultados mais
 10 acentuados.

11 A umidade e a temperatura são um dos principais fatores envolvidos no
 12 progresso de uma doença em campo, contudo, um conglomerado de causas
 13 podem ter influenciado nos altos percentuais de incidência em Manaus e
 14 Iranduba, como a idade do pomar, a suscetibilidade e uniformidade genética da
 15 planta, deficiências nutricionais, o manejo da área plantada e a concentração
 16 do inóculo (Beal, 2021; Godefroid *et al.*, 2022; Lopes, 2020; Coletta-Filho *et al.*,
 17 2020; Sicard *et al.*, 2021; Bassanezi e Primiano, 2021; Saunders, Zyl e Naegele,
 18 2023)

19 Dezesesseis anos após a primeira quantificação da doença no estado do
 20 Amazonas é possível observar um crescimento significativo da incidência de
 21 CVC da primeira para a segunda avaliação em pomares de Manaus, quando

1 comparados com os resultados de Jansen (2007) a doença apresentou um
2 aumento de 334,97%.

3 Nas últimas décadas houve um forte interesse da capital amazonense
4 pela atividade citrícola, como forma de incrementar novas alternativas agrícolas
5 e diminuir a dependência e os custos na importação de alimentos (Embrapa,
6 2014). Manaus é um grande produtor, consumidor e distribuidor de laranja, e a
7 grande aceitação do consumidor, a geração de empregos e os valores
8 arrecadados neste mercado impulsionaram a produção desta fruta (Macedo,
9 2014).

10 O resultado encontrado no pomar de Presidente Figueiredo (17,38%) foi
11 menor do que o relatado nos pomares do mesmo município em 2007 (Jansen,
12 2007). Dados da produção agrícola indicaram uma diminuição de metade da
13 área plantada de laranja em Presidente Figueiredo, de 102 ha em 2009 para 50
14 ha em 2021 (IBGE, 2009; IBGE 2021).

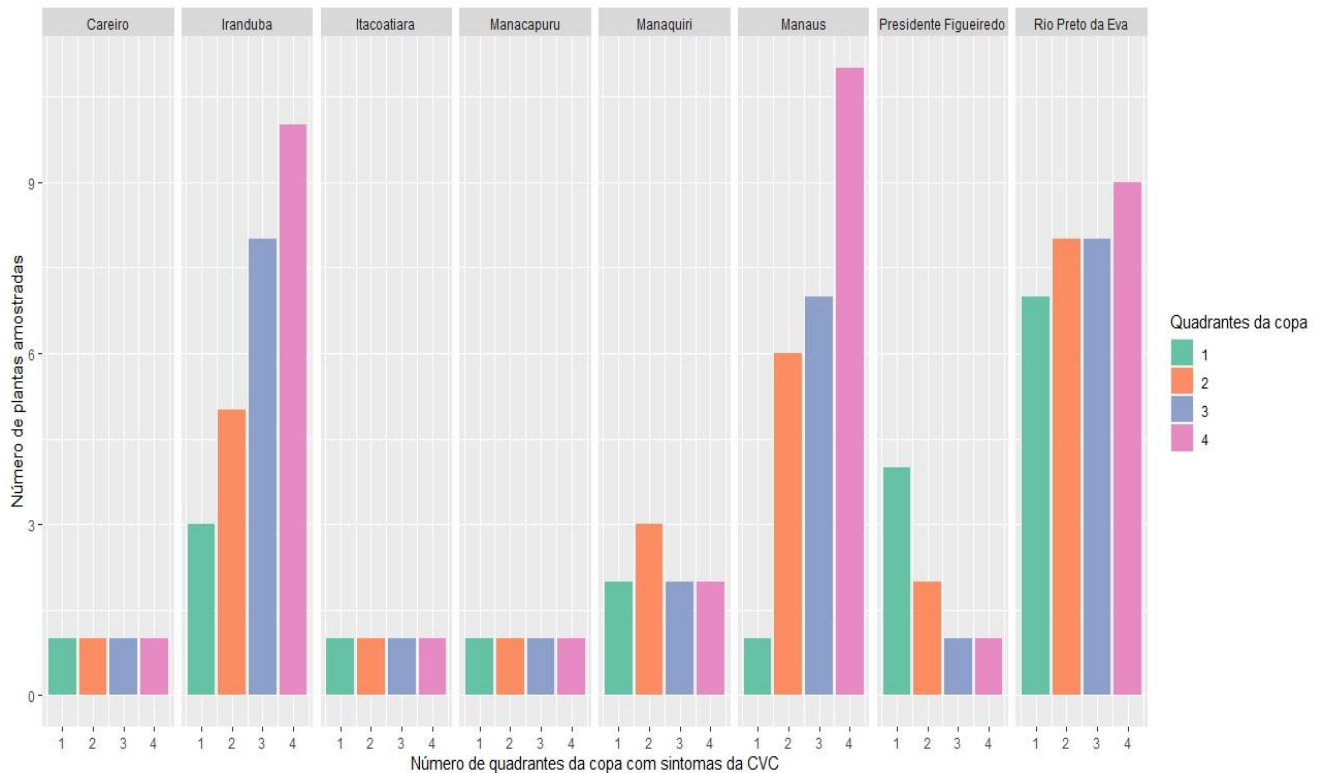
15 As modificações no ambiente resultam em mudanças nos surtos
16 epidêmicos, o aumento da incidência de doenças fitopatogênicas está
17 associada intimamente com aumento da área plantada e com a densidade da
18 população de plantas, assim como é proporcional a quantidade de inóculo
19 presente na área. As cigarrinhas inclusive tendem a selecionar plantas
20 visivelmente saudáveis do que plantas com sintomas, refletindo no crescimento
21 da área afetada ao transmitir o patógeno para os pomares saudáveis próximos ao
22 talhão doente (Zauza e Ferreira, 2013; Molina *et al.*, 2016; Lobo Junior,
23 Macedo e Goulart, 2022).

24 Em 2005, a incidência de CVC em São Paulo atingiu 43% de toda a
25 indústria citrícola (200 milhões de laranjeiras). Os maiores resultados foram
26 observados na região Norte do estado, no qual 74% das plantas apresentavam
27 sintomas da doença (Roberto e Yamamoto, 1998; Bové e Ayres, 2007). Em
28 2009, os índices foram para 42%, em 2012 para 37%, em 2018 diminuíram
29 para 1,30% e em 2021, São Paulo e Minas Gerais apresentaram incidência
30 média de 0,46%, considerada praticamente extinta, esses dados são
31 resultados da exclusão dos insetos nos viveiros, do controle químico quinzenal
32 do vetor e da poda e eliminação de plantas doentes (Fundecitrus, 2021). A

1 mesma estratégia de manejo poderia ser realizada nos municípios com altas
2 incidências de CVC no Amazonas, com a adoção conjunta de um tripé: I.
3 mudas sadias, II. controle das cigarrinhas e III. poda ou erradicação de plantas
4 sintomáticas.

5 Existem dois viveiros especializados em citros na região metropolitana
6 de Manaus que são credenciados pelo MAPA, onde boa parte dos produtores
7 adquirem suas mudas (IDAM, 2019), um desses viveiristas possui casos de
8 CVC em seus pomares e mesmo que as mudas comercializadas não estejam
9 aparentemente doentes, o risco de adquirir e introduzir plantas assintomáticas
10 é grande, portanto, torna-se necessário a busca por viveiros idôneos.

11 Quanto à severidade nos pomares, 60,2% não apresentaram sintomas
12 visíveis, 3,9% estavam no estágio inicial, 6,3% no intermediário, 6,9% com
13 sintomas severos e 22,7% muito severos. Os sintomas 'severo', plantas com
14 sintomas no nível 3, e 'muito severo', nível 4, corresponderam a quase 30% do
15 total de plantas vistoriadas, dados preocupantes, pois de acordo com a
16 (Fundecitrus, 2021) as perdas na produção estão associadas aos estágios
17 mais severos da doença, enquanto que sintomas iniciais e intermediários não
18 representam danos à produção. A incidência observada foi maior em pomares
19 que apresentaram sintomas 'muito severos' (figura 7).



1 **Figura 7.** Severidade da CVC de acordo com o número de quadrantes da copa com sintomas
 2 da doença e pelo número de plantas amostradas nos pomares dos municípios de Iranduba,
 3 Itacoatiara, Manacapuru, Manaquiri, Manaus, Presidente Figueiredo e Rio Preto da Eva.
 4 *Amostragem não realizada em Careiro.

5

6 O pomar de Manaus foi identificado como uma das localidades que mais
 7 apresentaram o estágio de sintomas 'muito severo', tendo 78% de severidade
 8 no nível 4. Foi constatado em híbridos de laranjeira 'Pêra' que quanto maior o
 9 número de bactérias colonizando folhas e ramos ou quanto maior a severidade,
 10 menor é a expressão de genes de resistência da planta e vice-versa (Maurício
 11 *et al.*, 2019).

12 Em Rio Preto da Eva a distribuição dos sintomas foi proporcional entre
 13 os estágios intermediários e severos, mas os maiores resultados foram
 14 observados no nível 4, muito severos (24,44%). Em plantas de cafeeiro o
 15 aumento de 1% da severidade ocasionados pela *X. fastidiosa* subsp. *pauca*
 16 representou perdas diretas no rendimento do fruto e a diferença de severidade
 17 entre as plantas é citada como uma variação natural da virulência nas
 18 populações do patógeno (Hopkins, 1984; Rocha *et al.*, 2010).

1 As maiores percentagens de severidade no pomar de Iranduba
2 ocorreram no nível 3 (22,59%) e nível 4 (58,06%), caracterizado pelo plantio de
3 variedades 'Pêra' e 'Natal', semelhantemente com o observado por Santos
4 Filho *et al.*, (2017) a 'Natal' é bastante sensível a *X. fastidiosa*, apresentando
5 como consequência níveis de severidade de 33% no nível 2 e 66% no nível 3.

6 Os pomares de Manaquiri e Presidente Figueiredo tiveram os menores
7 valores de severidade, no qual os resultados mais proeminentes foram
8 visualizados em 5% das plantas no nível 2 e 13,04% no nível 1, nesta ordem.
9 A (Fundecitrus, 2021) descreve que na região citrícola de São Paulo a doença
10 detém uma baixa incidência e as plantas apresentaram principalmente níveis 1
11 de severidade, ou 25% da copa com sintomas, com perdas mínimas na
12 produção. Esses dados indicam que a CVC não ocasiona danos potenciais nos
13 pomares citados, mas como não há o manejo químico do vetor é necessário
14 um monitoramento do pomar e medidas que dificultem o aumento da
15 severidade.

16 Um dos fatores que pode agravar os sintomas e auxiliar no progresso da
17 doença é a inclusão de novas espécies de cigarrinhas na transmissão da
18 doença, como ocorreu nos Estados Unidos com a *Homalodisca vitripennis*
19 (Germar) (Hemiptera: Cicadellidae) (Coletta-Filho e Souza, 2014). No
20 Amazonas existe uma composição enorme de cigarrinhas que não são
21 encontradas em outros estados brasileiros, no trabalho de Feitosa (2017) foram
22 relatadas três espécies de Cicadellini que não haviam sido catalogadas no
23 Brasil, como a *Dilobopterus croceus*, *Macugonalia umbrosa* e *Dilobopterus*
24 *manni*, essas cigarrinhas foram predominantes em dois pomares de
25 Manacapuru e Rio Preto da Eva, e são consideradas espécies potenciais na
26 transmissão da *X. fastidiosa*, caso entrem em contato com a bactéria.

27 O Amazonas possui baixa amplitude térmica, forte insolação e elevadas
28 precipitações anuais, que variam de 2.000mm a mais de 3.000 mm entre as
29 regiões próximas à linha do Equador e as regiões que seguem a foz do rio
30 Amazonas (Limberg e Silva, 2016; Aleixo e Silva Neto, 2019).

31 As chuvas irregulares e a altas temperaturas favorecem o crescimento
32 populacional das cigarrinhas (Molina *et al.*, 2016), acredita-se que

1 diferentemente do que ocorre em outras regiões do Brasil que possuem
2 estações bem definidas, as condições atmosféricas irregulares e intensas do
3 Amazonas podem influenciar no aumento exponencial das cigarrinhas ao longo
4 de todo o ano e não somente em épocas específicas.

5 Outubro de 2022, apesar de ser caracterizado como período seco,
6 apresentou uma alta precipitação mensal em localidades próximas a Rio Preto
7 da Eva, com 202mm, neste período foram observados sintomas mais vívidos e
8 severos nas folhas, localizados principalmente nos estratos superiores da copa
9 (INMET, 2022). A água é considerada um fator importantíssimo na interação
10 patógeno-hospedeiro, atuando no processo de infecção e influenciando a
11 expressão de genes de resistência, mecanismos de defesa, movimento
12 sistêmico da bactéria, atratividade da folha e dinâmica populacional do inseto
13 (Bettioli *et al.*, 2017).

14 Nos períodos de fortes chuvas também ocorre o aumento do
15 desenvolvimento vegetativo, as folhas novas, assim como as brotações são
16 consideradas os locais de predileção das cigarrinhas, a sucção da seiva ocorre
17 durante o dia e em regiões distintas como consequência da temperatura,
18 optando pelas folhas nos horários mais frios e pelos ramos durante as horas
19 mais quentes (Palazzo e Carvalho, 1992; Marucci *et al.*, 2004; Molina *et al.*,
20 2016).

21 Nos pomares avaliados a laranjeira 'Pêra' sobre limão 'Cravo' foi a
22 combinação mais difundida, presente nos pomares de Manaus, Careiro,
23 Manaquiri, Manacapuru, Itacoatiara, Presidente Figueiredo e Iranduba, este
24 último também possuía combinações de laranjeira 'Natal' com limão 'Cravo' e
25 em Rio Preto da Eva a combinação do pomar era a laranjeira 'Pêra' sobre a
26 tangerina 'Cleópatra'.

27 A variedade 'Pêra' ou 'Pêra Rio', representa 92,85% das variedades de
28 enxertos avaliados e o limão 'Cravo' 85,71% dos porta-enxertos. A importância
29 da variedade 'Pêra' se estende de norte ao sul do Brasil como uma das copas
30 mais produzidas na citricultura nacional, e se deve a boa aceitação do
31 consumidor e as inúmeras características fisiológicas, como a maturação
32 mediana, porte médio, baixa acidez e alto teor de suco, além de ser voltada

1 tanto para a indústria quanto para a mesa (Salibe, Teófilo Sobrinho e Muller,
2 2002; Bastos *et al.*, 2014).

3 A 'Pêra' é considerada a variedade de preferência da maioria das
4 espécies de cigarrinhas de xilema, abrigando uma maior população de vetores
5 se comparado com a var. Valência e Folha Murcha, por exemplo (Molina *et al.*,
6 2006). Todas as variedades de laranja doce são suscetíveis a *X. fastidiosa*,
7 mas a laranjeira 'Pêra' é considerada uma variedade altamente sensível, com
8 uma estimativa de perda próximo a 90% (Laranjeira e Pompeu Junior, 2002;
9 Bové e Ayres, 2007, Coletta-Filho *et al.*, 2020).

10 A var. 'Pêra' foi observada em todos os pomares amostrados, com
11 percentuais de incidência e severidade distintos. A laranjeira produz
12 metabólitos secundários que auxiliam no combate ao patógeno, no entanto a
13 produção é ínfima e não surte efeitos, tornando-a suscetível a infecção da
14 bactéria (Cerqueira, 2016)

15 Existem diferenças de suscetibilidade dentro do grupo de laranjeiras
16 doces, no entanto, a laranjeira Natal é tão suscetível a *X. fastidiosa* quanto a
17 'Pêra', a var. 'Natal' presente no município de Iranduba apresentou em conjunto
18 com a laranjeira 'Pêra' uma incidência de 100% da doença, esses resultados
19 são similares aos obtidos por Santos Filho *et al.*, (2017), que também observou
20 uma incidência de 100% no pomar com a cultivar Natal CNPMF 112.

21 O limão e a tangerina são resistentes a CVC, e a diferença da
22 colonização do patógeno dessas espécies para as espécies suscetíveis não se
23 deve a modificações na anatomia dos vasos condutores e sim à capacidade
24 rápida de induzirem respostas ativas de defesa no reconhecimento da bactéria,
25 como a lignificação das células xilemáticas, aprisionamento da bactéria e a
26 liberação de compostos químicos que causam sua morte, contudo, nota-se que
27 o porta-enxerto não influencia na colonização da bactéria na copa (Niza *et al.*,
28 2015, Cerqueira, 2016).

29 Apesar de existirem diversas variedades de enxerto e porta enxerto no
30 Brasil, a baixa diversificação nos pomares citrícolas do Amazonas pode
31 ocasionar episódios de surtos que resultam em enormes prejuízos econômicos,
32 como ocorreu na década de 1930, no qual mais de 10 milhões de árvores

1 enxertadas com laranja azeda foram dizimadas devido à alta susceptibilidade
 2 ao vírus Citrus Tristeza Virus (CTV), ou com a própria CVC no sudeste
 3 brasileiro, que afetou milhões de laranjeiras doces suscetíveis no estado de
 4 São Paulo (Bar-Joseph *et al.*, 1989; Bové e Ayres, 2007; Barbosa e Rodrigues,
 5 2014)

6 A fenologia é outro ponto importante para compreender o
 7 desenvolvimento da doença e para este estudo epidemiológico foram
 8 escolhidas as áreas mais uniformes, visto que as plantas possuíam idades
 9 variadas. Os talhões escolhidos possuíam de 0-4 anos, 5-10 anos, 11-16 anos
 10 e acima de 20 anos (Tabela 3).

Tabela 3. Percentual de incidência da CVC por idade do pomar

| Município | Idade do Pomar | Incidência |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| Presidente Figueiredo | 0-4 anos | 17,38% |
| Manaquiri | 0-4 anos | 12,50% |
| Rio Preto da Eva | 5-10 anos | 68,89% |
| Iranduba | 11-16 anos | 100% |
| Manaus | 11-16 anos | 100% |
| Manacapuru | acima de 20 anos | 0% |
| Itacoatiara | acima de 20 anos | 0% |

11

12 A incidência da doença aumentou de acordo com a idade dos talhões,
 13 plantas com 11 a 16 anos de idade foram as que apresentaram os maiores
 14 índices e as plantas de 0 a 4 os menores. Nossos resultados são similares aos
 15 da (Fundecitrus, 2021) que observou uma incidência maior em pomares com
 16 idade acima de 10 anos e não verificou sintomas em pomares menores de 2
 17 anos.

18 O progresso da CVC é lento, o tempo de incubação em campo é de 6 a
 19 14 meses, sugerindo que as laranjeiras podem permanecer assintomáticas por
 20 meses mesmo estando infectadas, as plantas jovens são mais suscetíveis a
 21 infecção bacteriana do que as plantas velhas e também são os alvos de

1 alimentação das cigarrinhas, a partir dos primeiros anos a taxa de incidência
2 aumenta exponencialmente e no sexto e sétimo ano é possível averiguar os
3 sintomas da doença em quase todas as plantas do pomar, sobretudo quando
4 não ocorre o controle do vetor (Molina *et al.*, 2016; Bassanezi *et al.*, 2021;
5 Carvalho *et al.*, 2022).

6 Roberto, Farias e Bergamin Filho (2002) também averiguaram o
7 aumento gradativo da incidência nos pomares após o segundo ano do plantio
8 devido a ausência do manejo dos insetos vetores. Lopes (2020) relata em seus
9 estudos que a incidência foi menor em plantas jovens, com 2,5, 4% e 13,2%,
10 mas aumentou com o tempo devido as novas infecções causadas pelas
11 cigarrinhas.

12 A Fundecitrus (2019) sugere uma abordagem mais intensa em plantas
13 jovens sintomáticas, menores de 2 anos, como a erradicação e substituição da
14 planta. Almeida, Coletta-Filho e Lopes (2014) recomendam que plantas
15 menores de 3 anos, independente do grau de severidade, devem ser
16 removidas do talhão, visto que a infecção sistêmica pode ocorrer logo após a
17 inoculação da bactéria pelo inseto.

18 Em Itacoatiara e Manacapuru os pomares pertenciam a pequenos
19 produtores familiares, os talhões eram constituídos por plantas com cerca de
20 25 anos e em ambos os pomares não foram encontrados sintomas de CVC.
21 Em Itacoatiara o pomar não recebia nenhum tipo de manejo, havia muitas
22 árvores mortas por gomose e algumas áreas estavam sendo substituídas por
23 pastagem.

24 O distrito de Vila Rica do Caviana, na zona rural de Manacapuru e as
25 comunidades adjacentes estão isoladas geograficamente, não há rodovias de
26 acesso e o transporte hidroviário no lago Caviana, que deságua no Rio
27 Amazonas, é o principal meio de locomoção, possuindo papel fundamental na
28 vida da população local. Os moradores desta comunidade produzem suas
29 próprias mudas e realizam poucos manejos no pomar, como a roçagem das
30 ruas, as áreas vistoriadas apresentaram muitas doenças causadas por fungos
31 e oomicetos, para combater essas enfermidades os produtores aplicavam
32 fungicidas químicos.

1 A eliminação de plantas daninhas é uma alternativa viável na contenção
2 do patógeno, visto que a bactéria possui uma enorme gama de hospedeiros,
3 assim como algumas gramíneas silvestres. É comum que a *X. fastidiosa*
4 permaneça em sua forma latente e essas plantas sirvam apenas como fonte de
5 inóculo, sem que externalize sintomas de doença (Janse e Obradovick, 2010;
6 Marques e Garrido, 2018).

7 Algumas cigarrinhas preferem se alimentar das gramíneas presentes
8 nas ruas e entrelinhas do que das laranjeiras, essa vegetação acaba
9 assegurando esses insetos no local, e a sua altura interfere na abundância da
10 comunidade (Ott *et al.*, 2006; Graner, 2014).

11 Os fungicidas e bactericidas são comumente utilizados no controle de
12 agentes bióticos, contudo, o patógeno não possui métodos de controle químico
13 eficiente, a aplicação de inseticidas sistêmicos são a principal forma utilizada
14 no manejo do vetor, devido seu hábito alimentar (Esteves, 2014; Carvalho *et al.*,
15 2022), neste sentido, entende-se que o uso de fungicidas nesses pomares não
16 influenciaram na ausência de sintomas da CVC.

17 A origem das mudas é proveniente de um viveiro que possui histórico da
18 doença, contudo, a renovação dos pomares não ocorre desde o fim da década
19 de 1990, quando as plantas foram introduzidas em campo, acredita-se que a *X.*
20 *fastidiosa* entrou no estado do Amazonas através de mudas contaminadas no
21 início dos anos 2000. A ausência de renovação desses dois pomares e o
22 isolamento com outros produtores pode ter sido um princípio de controle da
23 bactéria, excluindo a entrada do patógeno nessa localidade de Itacoatiara e
24 Manacapuru.

25 5.2 ISOLAMENTO DE *X. fastidiosa*

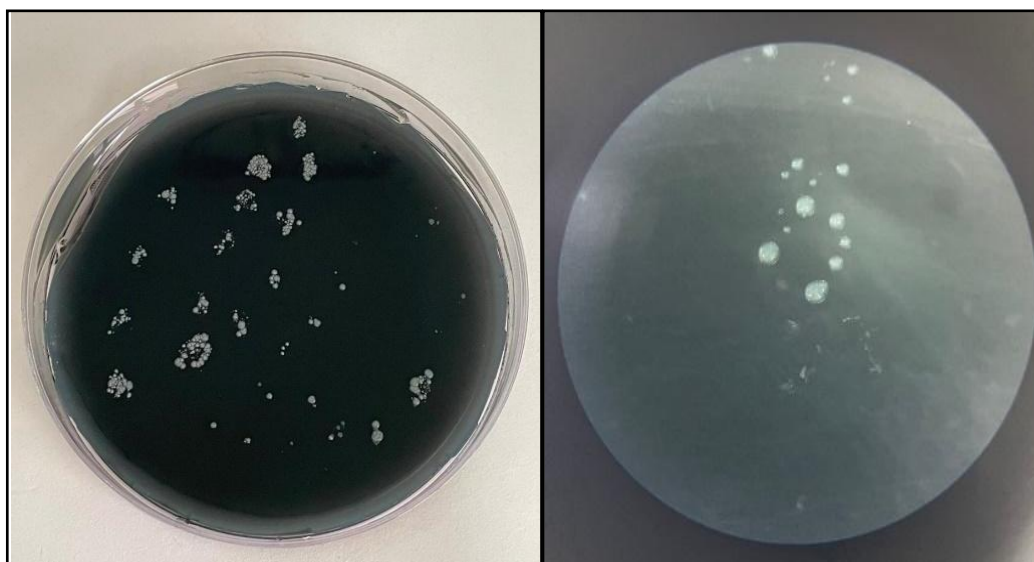
26

27 Foram plaqueadas 105 amostras de laranjeiras doces para isolamento
28 da bactéria em meio BCYE. Foram obtidos 21 isolados oriundos de Rio Preto
29 da Eva e 14 isolados de Manaus com características morfológicas semelhantes
30 à *X. fastidiosa*, as colônias eram pequenas, brancas, possuíam formato
31 circular, elevação convexa, margem inteira e superfície lisa, e foram
32 posteriormente confirmadas pela técnica de PCR (Tabela 4; Figura 8).

Tabela 4. Isolados bacterianos preservados em meio PW líquido/glicerol

| Código do Isolado | Procedência | Hospedeiro |
|--------------------------|--------------------|-------------------|
| RPE 1 C. 1 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 2 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 3 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 4 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 5 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 6 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 7 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 8 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 9 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 10 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 11 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 12 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 13 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 14 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 15 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 1 C. 16 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 5 C. 1 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 5 C. 2 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 11 C. 1 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 16 C.1 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| RPE 17 C.1 | Rio Preto da Eva | Pêra/Cleópatra |
| MAO 1 C. 1 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 2 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 3 | Manaus | Pêra/Cravo |

| | | |
|-------------|--------|------------|
| MAO 1 C. 4 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 5 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 6 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 7 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 8 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 9 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 10 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 1 C. 11 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 2 C.1 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 3 C.1 | Manaus | Pêra/Cravo |
| MAO 6 C.1 | Manaus | Pêra/Cravo |



1 **Figura 8.** Colônias de *Xylella fastidiosa* em meio BCYE.

2 Pierry (2012) verificou que a cepa 9a5c do patógeno apresentou
3 colônias definidas, de coloração opalescente, formato circular, margem
4 ondulada e elevação convexa. Igualmente ao encontrado nesta pesquisa Mena
5 (2017) visualizou colônias circulares, margens inteiras e elevação convexa.
6 Almeida, Coletta-Filho e Lopes (2014) relata que as colônias são pequenas,
7 brancas e convexas. Nossos dados corroboram ainda com os encontrados por
8 Esteves *et al.*, (2019) que observou colônias não pigmentadas, circulares e
9 discretas.

1 O tempo de incubação para o surgimento das primeiras colônias foi de
2 aproximadamente 50 dias, a bactéria possui crescimento lento em meio de
3 cultura, e é considerada nutricionalmente exigente e fastidiosa (Wells *et al*,
4 1987; Marques e Garrido, 2018; Luz, 2018). Diferentemente dos nossos
5 resultados, Prado e Lopes (2003) alcançou um período de incubação de 8 a 16
6 dias em meio BCYE, Esteves *et al.*; (2019) obteve crescimento bacteriano após
7 15 dias do isolamento em meio PWG, Luz (2018) constatou de 2 a 4 semanas
8 para o crescimento em BCYE e Coletta-Filho *et al.*, (2020) descreve que as
9 colônias são visíveis a partir dos 15 dias para o mesmo meio.

10 No entanto, de forma similar aos nossos resultados, Jansen (2007)
11 observou um longo tempo de crescimento da *X. fastidiosa*, que ocorreu a partir
12 de 1 mês após o isolamento de amostras de diferentes municípios do
13 Amazonas. Os meios de cultura possuem forte influência no tempo que o
14 patógeno leva para crescer, a verificação em meio PWG ocorre de forma mais
15 rápida do que em BCYE (Almeida, Coletta-Filho e Lopes, 2014).

16 Em consequência ao longo período de incubação das placas (cerca de
17 50 dias) em temperatura de 30° C, foram observadas rachaduras no meio de
18 cultura, devido à desidratação do meio, além da presença de contaminantes, o
19 que dificultou a obtenção de isolados.

20 Luz (2018) considera os meios seletivos da *X. fastidiosa* muito sensíveis,
21 como os meios BCYE, PWG e PD2 e o elevado nível nutricional acaba
22 facilitando a contaminação. A ocorrência de contaminantes é relatada como um
23 dos fatores que inviabilizam a obtenção de isolado de *X. fastidiosa in vitro*
24 (Muller, 2013; Lopes, 2020).

25 Algumas alternativas que podem minimizar a contaminação das placas
26 consistem na retirada de microrganismos, sobretudo de origem fúngica, que
27 crescem no meio de cultura nos primeiros dias de isolamento, outra forma de
28 contenção seria a adição de fungicidas ao meio de cultura seletivos.

29 5.3 DETECÇÃO MOLECULAR DE *X. fastidiosa*

30

1 As coletas resultaram no processamento de folhas de 255 plantas, em
2 pomares dos municípios de Manaus, Iranduba, Rio Preto da Eva, Careiro,
3 Presidente Figueiredo, Itacoatiara, Manacapuru e Manaquiri. A detecção
4 molecular de *X. fastidiosa*, por meio da PCR convencional usando os primers
5 RST 31 e RST 33, resultou na amplificação de fragmentos compatíveis com o
6 esperado para a bactéria (fragmentos de aproximadamente 733pb), para
7 amostras coletadas em pomares nos municípios de Manaus, Iranduba, Rio
8 Preto da Eva e Manaquiri (Tabela 5, Figura 9).

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

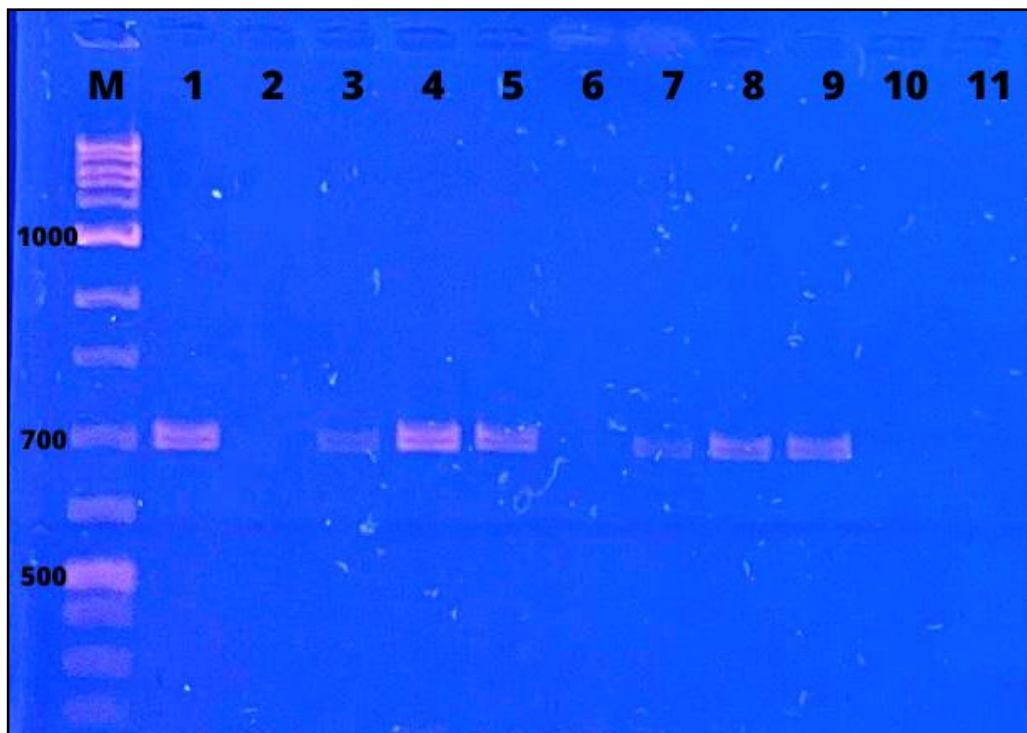
21

22

23

Tabela 5. Detecção molecular da bactéria *X. fastidiosa* em tecido vegetal em dois períodos do ano

| Município | Período Chuvoso (dezembro/maio) | | Período de Estiagem (agosto/ novembro) | | Amostras positivas | |
|--------------------------|------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------|-------|
| | Nº de amostras coletadas | Amostras positivas (%) | Nº de amostras coletadas | Amostras positivas (%) | | |
| Manaus | 40 | 18 | 45 | 15 | 14 | 93,33 |
| Rio Preto da Eva | 15 | 9 | 60 | 15 | 8 | 53,33 |
| Manacapuru | 20 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| Irlanduba | 15 | 0 | 0 | 15 | 9 | 60 |
| Itacoatiara | 20 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| Manaquiri | - | - | - | 10 | 1 | 10 |
| Careiro | 10 | 0 | 0 | - | - | - |
| Presidente Figueiredo | 20 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 |

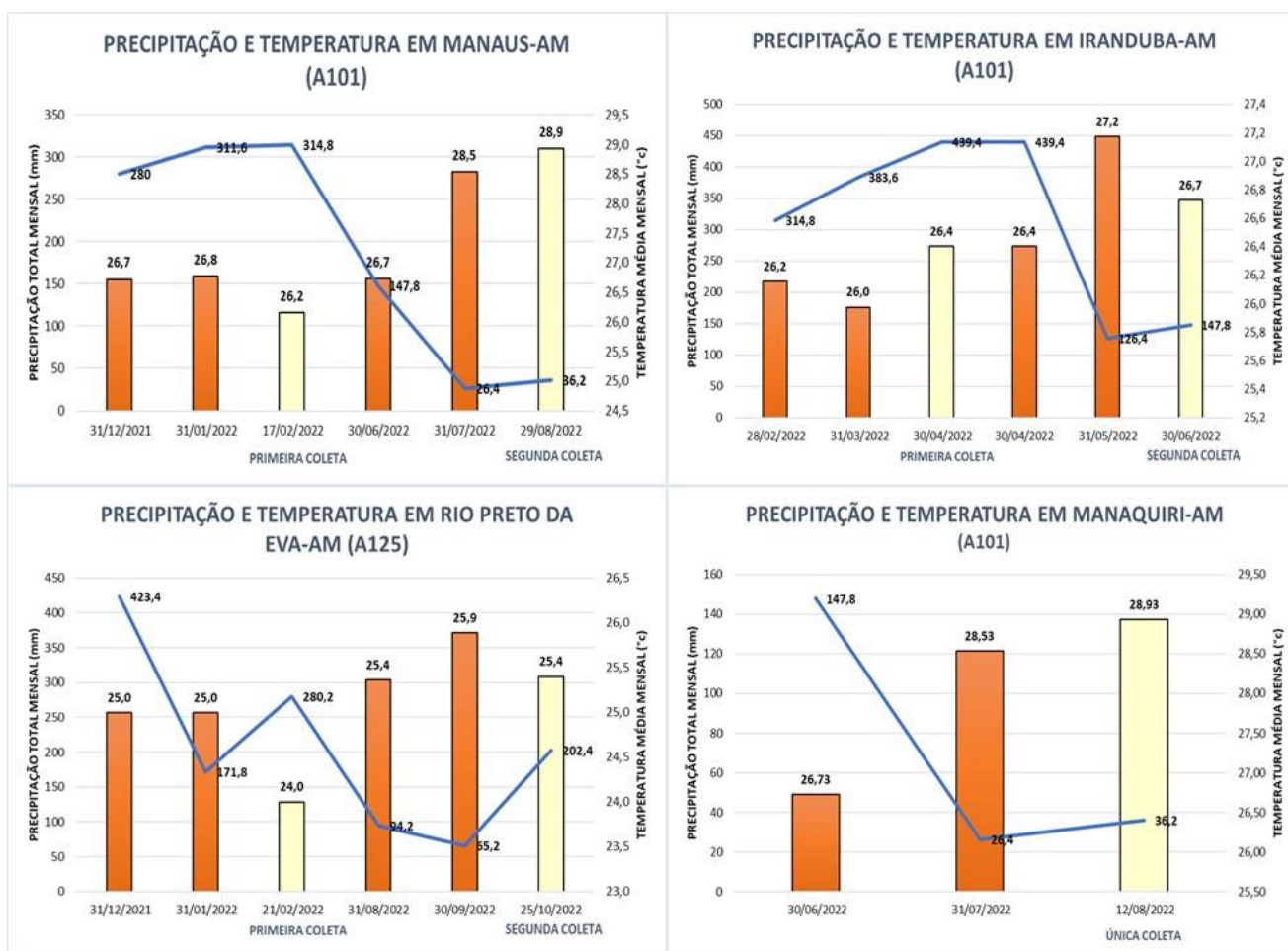


1 **Figura 9.** Bandas 1, 3, 4, 5, 7 e 8 (amostras positivas de Manaus (MAO) Primeira Coleta).
 2 banda 9 (DNA da bactéria *Xylella fastidiosa* 9a5c), banda 10 (DNA de laranja sadia), banda
 3 11 (Água ultrapura presente na reação de PCR). Marcador molecular (M) de 100pb Ladder
 4 Plus (Sinapse Biotecnologia).

5 A implementação de estratégias de manejo nas áreas com surtos da
 6 doença só é viável com a comprovação do patógeno através de ferramentas
 7 laboratoriais (Loconsole *et al.*, 2014). A PCR convencional utilizada nesta
 8 pesquisa é um importante método na detecção da *X. fastidiosa* e de outras
 9 doenças infecciosas e são preferíveis aos métodos sorológicos pela
 10 confiabilidade e sensibilidade na confirmação (Purcell, 1997; Olmo *et al.*, 2017;
 11 Waliullah *et al.*, 2019; Subhashini *et al.*, 2022).

12 Para determinar a presença da bactéria foram realizadas coletas em
 13 dois períodos do ano, no chuvoso e na estiagem. Gonçalves *et al.*, (2014)
 14 afirma que a disponibilidade de água é capaz de reduzir a severidade dos
 15 sintomas da doença, sobretudo nos frutos. Farigoule *et al.*, (2022) afirma que
 16 as altas temperaturas proporcionam o aumento da prevalência dos vetores e
 17 da multiplicação das cepas bacterianas, neste sentido buscamos avaliar se as
 18 condições climáticas influenciaram na detecção do patógeno.

1 A primeira coleta de Manaus, realizada em fevereiro, assim como os
 2 meses que a antecedem, foram marcadas por alta pluviosidade, com 280mm,
 3 311mm e 314mm mensais e a média de temperatura destes meses foi de
 4 26°C. A segunda coleta, realizada em agosto, obteve uma das menores taxa
 5 de precipitação desta pesquisa, 36,2mm mensais e o mês anterior foi definido
 6 por uma estiagem severa, 26mm, em agosto também obtivemos a maior média
 7 de temperatura, aproximadamente 29°C (INMET, 2023) (Figura 10).



8 **Figura 10.** Precipitação total mensal e temperatura média mensal dos meses de coleta e dos
 9 meses que o antecedem.

10

11 Igualmente ao trabalho realizado por Silva (2021) que obteve um total de
 12 18 amostras positivas em um pomar de Manaus, também detectamos a *X.*
 13 *fastidiosa* em 18 amostras na primeira coleta, e na segunda em 14 amostras,
 14 no entanto, a quantidade de material processado foi diferente, na primeira
 15 foram processadas 40 amostras, enquanto que na segunda apenas 15,

1 sugerindo que houve uma maior detecção em agosto, período de maior
2 temperatura e menor precipitação pluviométrica.

3 Queiroz-Voltan *et al.*, (2004) afirma que a obstrução dos vasos
4 xilemáticos ocasionados pela bactéria na cultura do cafeeiro foi maior no
5 período de grande estresse hídrico do que nas estações chuvosas, assim como
6 em nossos resultados. O estresse hídrico auxilia na vulnerabilidade das
7 plantas, diminuindo a condutividade hidráulica do xilema, resultando no
8 fechamento estomático e na redução da atividade fisiológica (Souza *et al.*,
9 2008).

10 Algumas características biológicas da *X. fastidiosa* apontam que a
11 bactéria hiberna em períodos muito frios e torna-se mais virulenta quando
12 submetida a pomares mal nutridos e sobre estresse hídrico (Amanifar, Taghavi
13 e Mohammad, 2016). Contudo, em situações extremas de estresse os insetos
14 vetores passam a visitar menos os pomares e conseqüentemente a taxa de
15 aquisição e transmissão do patógeno diminui, enfatizando que essa é uma
16 variável limitante na propagação do patógeno (Cid *et al*, 2018).

17 Na primeira coleta de Iranduba, mês de abril, houve um dos maiores
18 índices de precipitações do ano de 2022, 439,4mm mensais, com chuvas
19 torrenciais também em janeiro, a média de temperatura foi de 26,4°C. A
20 segunda coleta, realizada em junho, atingiu uma precipitação de 147,8mm
21 mensais, esse mês é considerado um período transitório entre as chuvas e a
22 estiagem, a partir de maio é possível observar o início do aumento da
23 temperatura, com média de 27,2°C e junho registrando 26,7°C.

24 Na primeira coleta não foi detectada a bactéria, mesmo com as plantas
25 sintomáticas, e na segunda, realizada no período de estiagem, foram
26 detectadas nove amostras positivas. Assim como neste município, o pomar de
27 Presidente Figueiredo apresentou sintomas da CVC, mas não foi possível
28 detectar a *X. fastidiosa*. Alguns autores sugerem uma desuniformidade na
29 colonização dos vasos xilemáticos, o que pode dificultar a detecção da bactéria
30 (Queiroz e Paradela Filho, 1999; Marucci, 2003; Daugherty, Lopes e Almeida,
31 2010; Almeida, Coletta-Filho e Lopes, 2014).

1 Essa desuniformidade, em conjunto com a baixa densidade do
2 patógeno, pode ser observada em campo, quando as plantas apresentam
3 ramos sintomáticos ao lado de ramos sem sintomas (Kudlawiec, 2021).
4 Sisterson *et al.*, (2010) também detectou o patógeno somente no verão e
5 sugere que a população da bactéria decai consideravelmente no inverno para
6 níveis indetectáveis, mesmo com as infecções aparentes.

7 Em Rio Preto da Eva a precipitação no mês de dezembro de 2021 foi
8 maior que em Manaus para o mesmo período, demonstrando a existência de
9 microclimas nessas localidades, durante a primeira coleta em fevereiro houve
10 uma precipitação de 280,2 mm mensal e em outubro de 202,4mm, indicando
11 chuvas irregulares neste mês, a temperatura também não foi tão alta nas duas
12 coletas, com médias de 24 e 25,4°C.

13 De forma similar ao trabalho de Lopes (2020) que detectou 6 amostras
14 com *X. fastidiosa*, obtivemos positividade em 9 e 8 amostras nas duas coletas
15 realizadas em Rio Preto da Eva. Os dados de temperatura e precipitação não
16 foram suficientes para determinar a influência desses parâmetros, visto que a
17 quantidade de amostras detectadas foi parecida e em ambos os períodos
18 houve médias de temperaturas amenas e altas precipitações nos dois períodos
19 de coleta.

20 Martinetti e Soubeyrand (2019) afirmam que a variação da precipitação é
21 uma variável positiva na detecção do patógeno, quanto maior for essa
22 variabilidade maior as chances de detectar a *X. fastidiosa* e com relação ao
23 período de seca quanto menor é a precipitação maior é a presença da bactéria.

24 No pomar de Manaquiri foi realizada apenas uma coleta no mês de
25 agosto, com a confirmação de uma amostra positiva. No mês da coleta foi
26 observado uma precipitação de 36,2 mm, e no mês anterior a ela uma
27 estiagem severa, 26,4mm, a temperatura média mensal foi próxima a 29°C. As
28 temperaturas máximas perceptíveis no verão, assim como o aumento da taxa
29 de radiação solar são fatores positivos na detecção da bactéria (Martinetti E
30 Soubeyrand, 2019).

31 Neste trabalho não foi possível detectar o patógeno em nenhuma
32 amostragem com folhas assintomáticas, como em Manacapuru, Careiro e

1 Itacoatiara. Nos estudos de Lopes (2020), observou-se um maior índice de
2 detecção do patógeno nas regiões da planta com sintomas visíveis e com
3 maiores índices da doença.

4 A confirmação da *X. fastidiosa* a partir de isolados bacterianos é um
5 passo importante para conhecermos mais sobre as populações bacterianas
6 inseridas no bioma amazônico, as amostras positivas foram enviadas para
7 sequenciamento e em breve serão incorporadas a esta pesquisa.

8 A partir desse material é possível realizar metodologias multilocus
9 (*Multilocus sequence typing*), o MLST é composto por sequências de 7 genes
10 housekeeping e são usados para determinar a relação filogenética entre
11 estirpes de bactérias, essa técnica promove ainda a compreensão da
12 distribuição geográfica e das características adaptativas das cepas bacterianas
13 (Donzela *et al.*, 2013; Glaeser e Kampfer, 2015).

14 **6. CONCLUSÃO**

15

16 Em síntese, esta pesquisa contribuiu na identificação da *X. fastidiosa* em
17 quatro municípios do Amazonas, incluindo uma nova área ainda não registrada,
18 Manaquiri. O período de estiagem favoreceu a detecção e os meses chuvosos
19 dificultaram, sugerindo que as análises moleculares possuem melhores
20 resultados em épocas específicas e podem influenciar no sucesso do
21 isolamento.

22 O presente estudo forneceu ainda dados preocupantes sobre a
23 intensidade da doença no pomar de Manaus, Iranduba e Rio Preto da Eva. Os
24 percentuais de severidade indicam que o patógeno vem causando danos
25 diretos na produção de laranja, mesmo que mínimos. Acredita-se que as
26 práticas limitadas de manejo da cultura e a ausência do controle vetorial
27 favoreceram o desenvolvimento da CVC.

28 **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

29

30 A comprovação da bactéria *Xylella fastidiosa* é necessária para que
31 medidas legais e assistencialistas sejam empregadas no setor de produção de
32 citros, incluindo a produção de mudas no Amazonas, principalmente na

1 geração de conhecimento, nas tomadas de decisões, na compreensão dos
2 desafios futuros e na busca por estratégias de manejo.

3 São necessários estudos epidemiológicos mais aprofundados, que
4 possam desvendar a distribuição, o progresso da doença e as perdas
5 potenciais no estado do Amazonas, a fim de garantir a integridade dos
6 pomares.

7 Por último, torna-se indispensável o uso de ferramentas moleculares
8 para averiguação da diversidade genética, não existe nenhuma pesquisa nesta
9 linha no norte do país para a *Xylella fastidiosa*.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11

12 ABOU-KUBAA, R.; GIAMPETRUZZI, A.; ALTAMURA, G.; SAPONARI, M.;
13 SALDARELLI, P. Infections of the *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* strain “De
14 Donno” in alfalfa (*Medicago sativa*) elicits an overactive immune response.
15 **Plants**, v.8, n.9. p335, 2019.

16 AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA E FLORESTAL DO AMAZONAS
17 (ADAF). **Amazonas alcança status fitossanitário de praga ausente para o**
18 **cancro cítrico**. Manaus-AM: ADAF, 2017. Disponível em:
19 [http://www.adaf.am.gov.br/amazonas-alcanca-status-fitossanitario-de-praga-](http://www.adaf.am.gov.br/amazonas-alcanca-status-fitossanitario-de-praga-ausente-para-o-cancro-citrico/)
20 [ausente-para-o-cancro-citrico/](http://www.adaf.am.gov.br/amazonas-alcanca-status-fitossanitario-de-praga-ausente-para-o-cancro-citrico/) Acesso em: 23/11/2022

21 AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA E FLORESTAL DO AMAZONAS
22 (ADAF). **Após investigação, ADAF descarta suspeita de praga HLB em**
23 **plantas de citros no Amazonas**. Manaus-AM: ADAF, 2021. Disponível em:
24 [http://www.adaf.am.gov.br/apos-investigacao-adaf-descarta-suspeita-de-praga-](http://www.adaf.am.gov.br/apos-investigacao-adaf-descarta-suspeita-de-praga-hlb-em-plantas-de-citros-no-amazonas/)
25 [hlb-em-plantas-de-citros-no-amazonas/](http://www.adaf.am.gov.br/apos-investigacao-adaf-descarta-suspeita-de-praga-hlb-em-plantas-de-citros-no-amazonas/) Acesso em: 23/11/2022

26 ALEIXO, N. C. R.; SILVA NETO, J. C. A. Anos-padrão e tendências da
27 precipitação pluvial na região do Médio Solimões, Amazonas, Brasil. **Confins**,
28 v. 43, 2019

29 ALHAJJ M, ZUBAIR M, FARHANA A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. In
30 *StatPearls*. **StatPearls Publishing**, PMID: 32310382, 2023. Disponível em:
31 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32310382/> Acesso em: 12/11/2022

32 AL-KARABLIEH, N.; IABUOBEID, I.; AL-ELAUMI, L.; MUTLAQ,I.; HADDADIN,
33 J.; OMARI, R. A.; AL-JABAREE, A. M.; MAZAHREH, S. *Xylella fastidiosa* not
34 detected on tree crops after five years of survey. **Plant Health Progress**, 2023.

- 1 ALMEIDA, R. P. P.; COLETTA-FILHO, H. D.; LOPES, J. R. S. ***Xylella***
2 ***fastidiosa***. In: LIU. D. (Ed). Manual of Security Sensitive Microbes and Toxins.
3 CRC Press: 1ª ed., 884 p., 2014.
- 4 ÁLVARES, C. A.; STAPE, J. L. SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J. D. M.;
5 SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil.
6 **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- 7 AMANIFAR, N., TAGHAVI, M., & SALEHI, M. *Xylella fastidiosa* from almond in
8 Iran: overwinter recovery and effects of antibiotics. **Phytopathologia**
9 **Mediterranea**, v.55, n.3, 337–345, 2016.
- 10 AOKI, V.; SOUSA JUNIOR, J. X.; FUKUMORI, L. M. I.; PÉRIGO, A. M.;
11 FREITAS, E. L.; OLIVEIRA, Z. N. P. Imunofluorescência direta e indireta. **An.**
12 **Bras. Dermatol.**, v. 85, n.4, p. 490-500, 2010.
- 13 AYRES, A.J.; GIMENES, N. F; BARBOSA, J.C. Intensidade da clorose
14 variegada dos citros no Estado de São Paulo e Sul do Triângulo Mineiro.
15 **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal,v.27, n.2, p.189-197, 2001
- 16 BALDI P.; LA PORTA N. *Xylella fastidiosa*: Host range and advance in
17 molecular identification techniques. **Front Plant Sci.**, v. 8, n. 944, 2017.
- 18 BARBIERI, H. B.; FERNANDES, L.S.; PONTES, J. G. de M.; PEREIRA, A. K.
19 An overview of the most threatening diseases that affect worldwide citriculture:
20 Main features, diagnose, and current control strategies. **Front. Nat. Product.**,
21 2:1045364, 2023.
- 22 BARBOSA, C. J.; RODRIGUES, A. S. Tristeza dos citros. **Rev. Bras. Frutic.**, v.
23 36, n. 3, 2014.
- 24 BAR-JOSEPH, M.; MARCUS, R.; LEE, R.F. The continuous challenge of citrus
25 tristeza virus control. **Rev. Phytopathol.**, v. 27, p. 291-316, 1989.
- 26 BASSANEZI R.B.; PRIMIANO I. V. Huanglongbing and Citrus Variegated
27 Chlorosis Integrated Management Based on Favorable Periods for Vector
28 Population Increase and Symptom Expression. **Plant Disease**, v. 105, n. 10, p.
29 3037-3047, 2021.
- 30 BASSANEZI R.B.; PRIMIANO I. V.; MOREIRA A. S. Inoculum reduction and
31 vector control on the temporal progress of citrus variegated chlorosis incidence.
32 **Pest Management Science**, v. 77, n.7, p.3333-3340, 2021.
- 33 BASTOS, D. C.; FERREIRA, E. A.; PASSOS, O. S.; SÁ, J. F.; ATAÍDE, E. M.;
34 CALGARO, M. Citricultura: Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura
35 brasileira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.35, n.281, p.36-45, 2014.

- 1 BASTOS, D. C.; PASSOS, O. S.; ATAÍDE, E. M.; SÁ, J. F. de; GIRARDI, E. A.;
2 AZEVEDO, C. L. L. **Cultivo de Citros no Semiárido Brasileiro**. Petrolina:
3 Embrapa Semiárido, (Documentos, 266), 30p., 2015.
- 4 BEAL, D. **Assessing Vectors of *Xylella fastidiosa* in California: From**
5 **Ecology to Transmission Dynamics**. 86f. 2021. Tese (Doutorado em
6 Fisiologia), University of California, Berkeley ProQuest, 2021.
- 7 AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; **Fenologia, patometria e quantificação**
8 **de danos**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.).
9 Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos. 5. ed. Ouro Fino: CERES, v. 1,
10 cap. 39, p.511-516, 2018B
- 11 BERGSMAN-VLAMI, M.; VAN DE BILT, J. L. J.; TJOU-TAM-SIN, N. N. A.;
12 HELDERMAN, C. M.; GORKINK-SMITS, P. P. M. A.; LANDMAN, N. M.; VAN
13 NIEUWBURG, J. G. W.; VAN VEEN, E. J.; WESTENBERG, M. Assessment of
14 the genetic diversity of *Xylella fastidiosa* in imported ornamental *Coffea arabica*
15 plants. **Plant Pathology**, v. 66, n.7, p.1065-1074, 2017.
- 16 BERSELLI, A. P. **Estudo da colonização de diferentes estirpes de**
17 **Xanthomonas albilineans em *Saccharum hybrid* spp.** 68f. 2023. Dissertação
18 (Mestrado em Botânica)- Universidade Federal de São Paulo, 2023.
- 19 BETTIOL, W.; HAMADA, E.; ANGELOTTI, F.; AUAD, A. M.; GHINI, R. (Ed.).
20 **Aquecimento global e problemas fitossanitários**. Brasília, DF: Embrapa,
21 2017.
- 22 BÖETTCHER, G. N.; GONZATTO, M. P.; PETRY, H. **Implantação do pomar**
23 **e manejo do solo**. In: EFRON, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org). Citricultura do
24 Rio Grande do Sul: Indicações técnicas. 1ª ed. Porto Alegre: Secretaria da
25 Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI); Departamento de Diagnóstico e
26 Pesquisa Agropecuária (DDPA), 289p., 2018.
- 27 BOLAÑOS, C.; ZAPATA, M.; BRODBECK, B.; ANDERSEN, P; BEAVER, L. W.;
28 JENSEN, C. E. de. Distribución espacial de cafetos (*Coffea arabica* L.)
29 posiblemente enfermos con el encorchamiento de la hoja causado por *Xylella*
30 *fastidiosa* en Puerto Rico. **J. Agric. University of Puerto Rico**, v.99, n. 2,
31 p.157-165, 2015.
- 32 BOVÉ, J.M.; AYRES, A. J. Etiology of three recent diseases of citrus in São
33 Paulo State: Sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. **IUBMB**
34 **Life**, v. 59, p. 346- 354, 2007.
- 35 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução**
36 **Normativa nº 21, de 25 de abril de 2018**. Dispõe de critérios e procedimentos

- 1 para o estabelecimento e manutenção do status fitossanitário relativo à praga
2 denominada Cancro Cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*). Brasil, 2018.
- 3 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 317,**
4 **de 21 de maio de 2021.** Institui o Programa Nacional de Prevenção e Controle
5 à doença denominada Huanglongbing (HLB) - PNCHLB, e dá outras
6 providências. Brasil, 2021.
- 7 BURBANK, L. P.; STENGER, D. C. The DinJ/RelE Toxin-Antitoxin System
8 Suppresses Bacterial Proliferation and Virulence of *Xylella fastidiosa* in
9 Grapevine. **Phytopathology**, v. 107, p. 388-394, 2017.
- 10 CARIDDI, C.; SAPONARI, M.; BÓSCIA, D.; STRADIS, A. DE.; LOCONSOLE,
11 G.; NIGRO, F.; PORCELLI, F.; POTERE, O.; MARTELLI, G.P. Isolation of a
12 *Xylella fastidiosa* strain infecting olive and oleander in Apulia, Italy. **Journal of**
13 **Plant Pathology**, v. 96, p. 425– 429, 2014.
- 14 CARO, C.H.; CÁCERES, E. U.; CAYCEDO, M. T. Diagnóstico molecular una
15 alternativa para la detección de patógenos en alimentos. **Rev. Habanera de**
16 **Ciências Médicas.**, v.18, n.3, p.513-528, 2019.
- 17 CARVALHO, I. G. B.; ESTEVES, M. B.; FROZA, J. A.; KLEINA, H. T.; SOUZA
18 NETO, R. R. de; SOUZA, A. A. de; COLETTA-FILHO, H. D. Doenças
19 associadas à *Xylella fastidiosa* no Brasil. **Revisão Anual de Patologia de**
20 **Plantas**, v. 28, p. 50–68, 2022.
- 21 CASERTA ,R.; TAKITA , M.A; TARGON,, M. L.; ROSSELLI-MURAI, L. K.;
22 SOUZA, A. P.; PERONI, L.; STACH-MACHADO D. R.; , . ANDRADE, A.
23 LABATE, C. A.; , KITAJIMA, E. W.; , MACHADO , M. A.; SOUZA, A. A. De.
24 Expression of Fimbrial and afimbrial proteins during biofilm formation. Applied
25 and *Xylella fastidiosa*. **Environmental Microbiology**, v. 76, n. 13, 2010.
- 26 CASERTA, R.; TEIXEIRA-SILVA, N.S.; Granato,L. M.; DORTA, S. O.;
27 RODRIGUES, C. M.; MITRA, L. M.; YOCHIKAWA, J. T. H.; FISCHER, L. E. R.;
28 NASCIMENTO, C. A.; SOUZA-NETO, R. R.; TAKITA, M. A.; BOSCARIOL-
29 CAMARGO, R. L.; MACHADO, M. A.; SOUZA, A. A. de. Citrus biotechnology:
30 What has been done to improve disease resistance in such an important crop?.
31 **Biotechnology Research and Innovation**, v. 23, n. 1, p. 95-109, 2019.
- 32 CAVALCANTE MORAIS, G.; TONY LEE, J. Intertidal benthic macrofauna of
33 rare rocky fragments in the Amazon region. **Rev. biol. Trop.**, vol.62, n.1, p.84-
34 101, 2014.
- 35 CAVICHIOLI, R. R.; TAKIYA, D. M.; Description of a new species of Wolfniana
36 and new records of Rotigonalia (Hemiptera: Cicadellidae: Cicadellinae) from the
37 state of Amazonas, Brazil. **Zoologia**, v.29, n.1, p. 85-88, 2012.

- 1 CERQUEIRA, C. N. **Busca de biomarcadores como indicadores do**
2 **mecanismo de defesa da laranja Pêra à infecção de CVC através de**
3 **análise Metabonômica.** 106f. 2016. Tese (Doutorado em Química)-
4 Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 2016.
- 5 COELHO, E. F.; COELHO FILHO, M. A.; MAGALHÃES, A. F. de J.; OLIVEIRA,
6 A. S. de. **Irrigação e fertirrigação na cultura de citros.** In: SOUSA, V. F. de;
7 MAROUELLI, W. A.; COELHO, E. F.; PINTO, J. M.; COELHO FILHO, M. A.
8 (Ed.). Irrigação e fertirrigação em fruteiras e hortaliças. Brasília: Embrapa
9 Informação Tecnológica, cap. 14, p. 413-439, 2011.
- 10 COLETTA-FILHO, H. D.; CASTILLO, A. I.; LARANJEIRA, F. F.; DE ANDRADE,
11 E. C.; SILVA, N. T.; DE SOUZA, A. A.; BOSSI, M. E.; ALMEIDA, R. P. P.;
12 LOPES, J. R. S. Citrus Variegated Chlorosis: An Overview of 30 Years of
13 Research and Disease Management. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, p. 175-
14 191, 2020.
- 15 COLETTA-FILHO HD; CARVALHO S.A; SILVA L. F. C; MACHADO M.A. Seven
16 years of negative detection results confirm that *Xylella fastidiosa*, the causal
17 agent of CVC, is not transmitted from seeds to seedlings. **European Journal of**
18 **Plant Pathology**, v.139. p. 593–596, 2014.
- 19 COLETTA-FILHO, H. D.; SOUZA, A. A. de. Avanços no conhecimento sobre a
20 clorose variegada dos citros: Uma abordagem sobre os diferentes
21 componentes do patossistema. **Citrus Research & Technology**, v. 35, n. 1,
22 2014.
- 23 CRUZ, L. F., COBINE, P. A.; LA FUENTE, L. de. Calcium increases *Xylella*
24 *fastidiosa* surface attachment, biofilm formation, and twitching motility. **Applied**
25 **and environmental microbiology**, v.78, n.5, p.1321–1331, 2012.
- 26 DAUGHERTY, M. P.; LOPES, J.; ALMEIDA, R. P. P. Vector within-host feeding
27 preference mediates transmission of a heterogeneously distributed pathogen.
28 **Ecological Entomology**, v. 35, n. 3, p. 360 – 366, 2010.
- 29 DAVIS, M.J.; FRENCH, W.J.; SCHAAD, N.W. Axenic culture of the bacteria
30 associated with phony disease of peach and plum leaf scald. **Current**
31 **Microbiology**, v.6, p.309-314, 1981.
- 32 DE NEGRI, J.D. Clorose variegada dos Citros: uma nova anomalia afetando
33 pomares em São Paulo e Minas Gerais. **Comunicado Técnico nº 82.**
34 Extensão Rural, Coord. Ass. Téc. Integral (CATI), Campinas, 6p., 1990.
- 35 DONZELA, M. C. J; RESBURG, M. J. J. V.; BRAY, J. E.; EARLE, S. G.; FORD,
36 S. A.; JOLLEY, K. A.; McCARTY, N. MLST revisited: the gene-by-gene
37 approach to bacterial genomics. **Nat Rev Microbiol.**, v.11, p.728-736, 2013.

- 1 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA).
2 **Desenvolvimento da citricultura e implantação do modelo de Produção**
3 **Integrada no Estado do Amazonas.** 2014. Disponível em:
4 [https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/202144/desenvolvimento-](https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/202144/desenvolvimento-da-citricultura-e-implantacao-do-modelo-de-producao-integrada-no-estado-do-amazonas#:~:text=A%20citricultura%20no%20Amazonas%20envolve,%2C%20Presidente%20Figueiredo%20e%20Careiro)
5 [da-citricultura-e-implantacao-do-modelo-de-producao-integrada-no-estado-do-](https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/202144/desenvolvimento-da-citricultura-e-implantacao-do-modelo-de-producao-integrada-no-estado-do-amazonas#:~:text=A%20citricultura%20no%20Amazonas%20envolve,%2C%20Presidente%20Figueiredo%20e%20Careiro)
6 [amazonas#:~:text=A%20citricultura%20no%20Amazonas%20envolve,%2C%20](https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/202144/desenvolvimento-da-citricultura-e-implantacao-do-modelo-de-producao-integrada-no-estado-do-amazonas#:~:text=A%20citricultura%20no%20Amazonas%20envolve,%2C%20Presidente%20Figueiredo%20e%20Careiro)
7 [Presidente%20Figueiredo%20e%20Careiro](https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/202144/desenvolvimento-da-citricultura-e-implantacao-do-modelo-de-producao-integrada-no-estado-do-amazonas#:~:text=A%20citricultura%20no%20Amazonas%20envolve,%2C%20Presidente%20Figueiredo%20e%20Careiro)). Acesso em: 23/06/2023
- 8 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA).
9 Navelina XR: Cultivar de laranjeira-de-umbigo precoce com alta qualidade de
10 frutos e resistente à CVC. **EMBRAPA (infoteca)**, 4p., 2023.
- 11 ERPEN, L.; MUNIZ, F. R.; MORAES, T. de S.; TAVANO, E. C. da R. Análise do
12 cultivo da laranja no Estado de São Paulo de 2001 a 2015. **Rev. IPecege**, v.4,
13 n.1, p. 33-43, 2018.
- 14 ESTEVES, M. B. **Seleção de plantas hospedeiras experimentais para**
15 **ensaios de transmissão da estirpe de citros de *Xylella fastidiosa*.** 77f.
16 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências: Entomologia). -Universidade de São
17 Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2014.
- 18 ESTEVES, M. B.; KLEINA, H. T.; SALES, T. M.; OLIVEIRA, T. P.; LARA, I. A. R
19 DE; ALMEIDA, R. P.; COLETTA-FILHO, H. D.; LOPES, J. R. S. Transmission
20 Efficiency of *Xylella fastidiosa* subsp. pauca Sequence Types by Sharpshooter
21 Vectors after In Vitro Acquisition. **Phytopathology**, v. 109, n. 2, p. 286-293,
22 2019.
- 23 EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION
24 (EPPO). **Banco de dados global: *Xylella fastidiosa*.** EPPO, 2020. Disponível
25 em: <https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/datasheet>. Acesso em: 13/04/22
- 26 EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION
27 (EPPO). PM 24/07 (4) *Xylella fastidiosa*. **EPPO Bulletin**, v. 49, n.2, p. 175-227,
28 2019.
- 29 EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). ***Xylella fastidiosa*.** EFSA,
30 2020. Disponível em: [https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/xylella-](https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/xylella-fastidiosa)
31 [fastidiosa](https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/xylella-fastidiosa) Acesso em: 12/03/2022.
- 32 FARIGOULE, P.; CHARTOIS, M.; MESMIN, X.; LAMBERT, M.; ROSSI, J.-P.;
33 RASPLUS, J.-Y.; CRUAUD, A. Vetores como sentinelas: temperaturas
34 crescentes aumentam o risco de surtos de *Xylella fastidiosa*. **Biologia**, v. 11,
35 2022.
- 36 FEITOSA, M. C. B. **Comunidade e dinâmica populacional de cigarrinhas**
37 **(Hemiptera: Cicadellidae: Cicadellinae) e seus parasitoides de ovos**

- 1 **(Hymenoptera: Chalcidoidea) em pomares cítricos no Amazonas, Brasil.**
2 2017. 120f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Entomologia) -Instituto
3 Nacional de Pesquisa, Doutorado em ciências biológicas, Manaus, 2017.
- 4 FERNANDES, B. C. **Desenvolvimento histórico da citricultura.** 2010. 43f.
5 Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Econômicas (Graduação em
6 Ciências Econômicas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
7 Filho”, Araraquara, 2010.
- 8 FRANCA, R.R. Climatologia das chuvas em Rondônia – período 1981-2011.
9 **Revista Geografias**, v.11 n.1, p. 44-58, 2015.
- 10 FRANCISCHINI, M. C. P. **Caracterização dos fatores sigma da RNA**
11 **polimerase do fitopatógeno *Xanthomonas axonopodis* pv.citri.** 180f. 2010.
12 Tese (Doutorado em Ciências: Bioquímica)- Universidade de São Paulo,
13 Instituto de Química, São Paulo, 2010.
- 14 FRANCISCO, C. S. **Estrutura de populações e inoculações recíprocas de**
15 ***Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* com ocorrência em cultivos vizinhos de**
16 ***citrus sinensis* e *coffea arabica* sob condições do estado de São Paulo.**
17 115f. 2014. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de plantas) -
18 Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, 2014.
- 19 FRANCO, A. S. M. O suco de laranja brasileiro no mercado global. **Análise**
20 **Conjuntural**, v. 38, p. 11–12, 2016.
- 21 FRANCO, V. L. de M.; MARQUES, L. O. C.; DINIZ, S. G. S.; ASSUNÇÃO, V. I.
22 S.; NOGUEIRA, A. B. L.; BRAGAGNOLO, J. C. B.; BAREZANI, A. F. B. A
23 técnica de elisa e a sua importância para o diagnóstico clínico. **Brazilian**
24 **Journal of Development**, v.7, n.9, p. 89877-89885, 2021.
- 25 FROZA J. A.; MEJDALANI, G. A new species of the sharpshooter genus
26 *Hanshumba* (Insecta: Hemiptera: Cicadellidae: Cicadellini) from the Mantiqueira
27 mountain range, southeastern Brazil, associated with olive orchards. **Zoologia**,
28 v. 39: e22026, 2022.
- 29 FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Doenças**, São
30 Paulo: Fundecitrus, 2023a. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/>.
31 Acesso em: 17/01/2023.
- 32 FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Clorose**
33 **variegada dos citros**, São Paulo: Fundecitrus, 2023b. Disponível em:
34 <https://www.fundecitrus.com.br/doencas/cvc>. Acesso em: 17/01/2023
35 FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Pragas**, São Paulo:
36 Fundecitrus, 2023c. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/>. Acesso
37 em: 17/01/2023.

- 1 FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Inventário de**
2 **árvores e estimativa da safra de laranja do cinturão citrícola de São Paulo**
3 **e Triângulo/ Sudoeste Mineiro**. São Paulo: Fundecitrus, 2023d. Disponível
4 em:
5 https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2023_05_10_Sum%C3%A1rio_Executivo_da_Estimativa_da_Safra_de_Laranja_2023-2024.pdf Acesso em:
6 23/04/2023.
7
- 8 FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Levantamento**
9 **da incidência das doenças dos citros: Greening, cvc e cancro cítrico no**
10 **cinturão citrícola de São Paulo e triângulo/sudoeste mineiro**. Fundo de
11 Defesa da Citricultura, Araraquara, SP: Fundecitrus, 2021. 77p.
- 12 FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Manual Técnico**
13 **de CVC**. São Paulo: Fundecitrus, p.4, 2007.
- 14 GASPAROTTO, L.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEREIRA, J. C. R. Doenças de
15 Citros no Estado do Amazonas. Manaus: EMBRAPA-CPAA (**Circular Técnica**
16 **n.6**), 20p., 1998.
- 17 GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R.; PEREIRA, M. C. N. **Levantamento da**
18 **incidência da leprose, pinta preta, clorose variegada (CVC) e cancro**
19 **cítrico nos pomares de citros do Estado do Amazonas**. In: GATO, A. M. G.;
20 TELES, B. R. (Org.). Coletânea dos trabalhos da CDSV/AM. Manaus:
21 Delegacia Federal de Agricultura no Amazonas, 2002.
- 22 GERALDELLO, C.S. **A citricultura estadunidense**. In: GERALDELLO, C.S.
23 Medidas antidumping e política doméstica: O caso da citricultura
24 estadunidense. 1ª ed., São Paulo,SP: Cultura Acadêmica, p. 85-120, 2015.
- 25 GIACOMELI, F.; SCHNEIDER, N. A.; AZEVEDO FILHO, W. S.; ARIOLI, C. J.
26 Diversity, population fluctuation and faunistic analysis of sharpshooters
27 (hemiptera: Cicadellidae: Cicadellinae) in plum orchards in Videira, Santa
28 Catarina, Brazil. **International Journal of Pest Management**, 2022.
- 29 GLAESER, S. P.; KAMPFER, P. Multilocus sequence analysis (MLSA) in
30 prokaryotic taxonomy. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 38, N. 4.; p.
31 237-245, 2015.
- 32 GODEFROID, M.; MORENTE, M.; SCHARTEL, T.; CORNARA, D.; PURCELL,
33 A.; GALLEGO, D.; MORENO, A.; PEREIRA, J. A.; FERERES, A. Climate
34 tolerances of *Philaenus spumarius* should be considered in risk assessment of
35 disease outbreaks related to *Xylella fastidiosa*. **Journal of Pest Science**, v. 95,
36 p. 855–868, 2022.

- 1 GONÇALVES, F. P.; STUCHI, E. S.; LOURENÇO, S. A.; KRIS, A. B.;
2 GOTTFELD, T. R.; AMORIM, L. The effect of irrigation on development of
3 citrus variegated chlorosis symptoms. **Crop Protection**, v. 57, p. 8-14, 2014.
- 4 GRANER, L. S. **Cigarrinhas potenciais vetoras (Hemiptera: Cercopidae e**
5 **Cicadellidae) e plantas infestantes associadas à epidemiologia da**
6 **escaldadura das folhas da ameixeira**. 2014. 93f. Dissertação (Mestrado em
7 Ciências: Entomologia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014
- 8 GURGEL, C.B.F.M.; LEWINSON, R. A medicina nas caravelas - Século XVI.
9 **Cadernos de História da Ciência**, v. 6, n. 2, p.105–120, 2010.
- 10 HARPER, S.J.; WARD, L. I.; CLOVER, G.R. Development of LAMP and real-
11 time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine
12 and field applications. **Phytopathology**, v. 100, n.12:1282-8, 2010.
- 13 HARPER, S.J.; WARD, L. I.; CLOVER, G.R. Development of LAMP and real-
14 time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine
15 and field applications. **Phytopathology**, v. 100, n.12:1282-8, 2010.
- 16 HIGUCHI, R.; DOLLINGER, G.; WALSH, P.S.; GRIFFITH, R. Amplificação e
17 Detecção Simultâneas de Sequências de DNA Específicas. **Nat. Biotechnol.**,
18 v.10, p. 413-417,1992.
- 19 HILL, B.L.; PURCELL, A.H. Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa*
20 within grapevine and four other plants. **Phytopathology**, St. Paul, v.85,n.11,
21 p.1368-1372, 1995.
- 22 HOMMA, A. K. O. **A imigração japonesa na Amazônia: Sua contribuição ao**
23 **desenvolvimento agrícola**. 2ª ed. Brasília, DF: Embrapa, 255 p., 2016.
- 24 HOPKINS, D. L. *Xylella fastidiosa*: xylem-limited bacterial pathogen of plants.
25 **Annual review of phytopathology**, v. 27, p. 271–290, 1989.
- 26 HORNERO, A.; CLEMENTE, R. H.; NORTH, P. R. J.; BECK, P. S. A.; BOSCIA,
27 D.; CORTES, J. A. N.; TEJADA, P. J. Z. Monitoring the incidence of *Xylella*
28 *fastidiosa* infection in olive orchards using ground-based evaluations, airborne
29 imaging spectroscopy and Sentinel-2 time series through 3-D radiative transfer
30 modelling. **Remote Sensing of Environment**., v. 236, 2020.
- 31 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Cidades:**
32 **Produção agrícola- Lavoura permanente**. IBGE, 2009. Disponível em:
33 <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/pesquisa/14/10193> Acesso em 23/12/2022

- 1 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Cidades:**
2 **Produção agrícola- Lavoura permanente.** IBGE, 2015. Disponível em:
3 <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/pesquisa/14/10193> Acesso em 22/12/2022.
- 4 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo**
5 **Agropecuário (Produção de laranja).** IBGE, 2017. Disponível em:
6 <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/laranja/am> Acesso em:
7 22/12/2022.
- 8 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Cidades:**
9 **Produção agrícola- Lavoura permanente.** IBGE, 2021. Disponível em:
10 <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/pesquisa/14/10193>. Acesso em
11 [22/12/2022](https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/pesquisa/14/10193).
- 12 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE).
13 **Levantamento sistemático da produção de laranja (LSPA).** IBGE, 2023.
14 Disponível em: [https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-](https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html)
15 [pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html](https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html). Acesso
16 em: 22/06/2023.
- 17 INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E FLORESTAL
18 SUSTENTÁVEL DO ESTADO DO AMAZONAS (IDAM). Citros. In: Projetos
19 Prioritários. **Revista IDAM-ATR**, n.1, 48p., 2019.
- 20 INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E FLORESTAL
21 SUSTENTÁVEL DO ESTADO DO AMAZONAS (IDAM). **Plano operativo 2022**
22 **gerência estadual de apoio à produção vegetal – GPV.** IDAM, 2022.
23 Disponível em: [http://www.idam.am.gov.br/wp-](http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2022/03/PLANO-OPERATIVO_GPV_2022.pdf)
24 [content/uploads/2022/03/PLANO-OPERATIVO_GPV_2022.pdf](http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2022/03/PLANO-OPERATIVO_GPV_2022.pdf) Acesso em:
25 01/02/2023
- 26 INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E FLORESTAL
27 SUSTENTÁVEL DO ESTADO DO AMAZONAS (IDAM). **Relatório de**
28 **atividades IDAM 2020 (RAIDAM).** IDAM, 2020. Disponível em:
29 [http://www.idam.am.gov.br/wp-](http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2021/09/RAIDAM2020_web_vfinal.pdf)
30 [content/uploads/2021/09/RAIDAM2020_web_vfinal.pdf](http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2021/09/RAIDAM2020_web_vfinal.pdf). Acesso em: 03/03/2022
- 31 INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. **Dados**
32 **Meteorológicos (2021/2022).** INMET, Brasília - DF, 2023.
- 33 IQBAL, Z.; KHAN, M. A.; SHARIF, M.; SHAH, J. H.; REHMAN, M. H.; JAVED,
34 K. An automated detection and classification of citrus plant diseases using
35 image processing techniques: A review. **Computers and Electronics in**
36 **Agriculture**, v.153, p. 12-32, 2018.

- 1 JANSE, J. D.; OBRADOVIC, A. *Xylella fastidiosa*: Its biology, diagnosis, control
2 and risks. **Journal of Plant Pathology**, v. 92, n. 1, 2010.
- 3 JANSEN, T. C. **Detecção e Caracterização de *Xylella fastidiosa* em
4 pomares de citros no estado do Amazonas e em São Paulo**. 2007. Tese
5 (Doutorado em Biotecnologia) -Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade
6 Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2007.
- 7 JANISSEN, R.; MURILLO, D. M.; NIZA, B.; SAHOO, P. K.; NOBREGA, M. M.;
8 CESAR, C. L.; TEMPERINI, M. L.; CARVALHO, H. F.; de SOUZA, A. A.;
9 COTTA, M. A. Spatiotemporal distribution of different extracellular polymeric
10 substances and filamentation mediate *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm
11 formation. **Scientific reports**, v. 5, p. 9856, 2015.
- 12 KIMURA, E. T. ; BAIA, G. S. Rede ONSA e o Projeto Genoma Humano do
13 Câncer: Contribuição ao Genoma Humano. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.
14 46, n.4, pp.325-329, 2002.
- 15 KRUGNER, R.; SISTERTON, M.S.; BACKUS, E.A.; BURBANK, L.P.; REDAK,
16 R.A. Sharpshooters: a review of what moves *Xylella fastidiosa*. **Austral
17 Entomology**, v, 58, p.248– 267, 2019.
- 18 KUDLAWIEC, K. **N-acetilcisteína em estudos de transmissão de *Xylella
19 fastidiosa* por cigarrinhas**. Dissertação. 76f. 2021. Dissertação (Mestrado em
20 Ciências: Entomologia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de
21 Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-SP, 2021.
- 22 LARANJEIRA, F.F.; POMPEU JUNIOR, J. Comportamento de quinze cultivares
23 de laranja-doce afetadas pela clorose variegada dos citros. **LARANJA**,
24 Cordeirópolis, v.23, n.2, p.401-411, 2002.
- 25 LE COUTEUR, P; BURRESON, J. **Os botões de Napoleão: As 17 moléculas
26 que mudaram a história**. Rio de Janeiro: Zahar, 343p., 2006.
- 27 LEITE JUNIOR, R. P.; LEITE, R. M. V. B. de C.; CERESINI, P. C. AUSÊNCIA
28 de patogenicidade de *Xylella fastidiosa* da escaldadura da folha da ameixeira
29 na cultivar de pessegueiro Flordasun. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.
30 33, n. 10, p. 1653-1660, 1998
- 31 LIMBERGER, L.; SILVA, M. E. S. Precipitação na bacia amazônica e sua
32 associação à variabilidade da temperatura da superfície dos oceanos Pacífico e
33 Atlântico: uma revisão. **GEOUSP Espaço e Tempo**, v. 20, n. 3, p. 657-675,
34 2016.

- 1 LINS, S. R. O.; ABREU, M. S.; ALVES, E.; BARBOSA, J. F.; SOUZA, R. M.
2 Constatação de *Xylella fastidiosa* em pecíolos e hipocótilos de cafeeiro com
3 sintomas de mancha manteigosa. **Ciênc. agrotec.**, v. 32, n.1, 2008.
- 4 LLOYD A; BECHTEL, C.N. First report of bacterial leaf scorch caused by *Xylella*
5 *fastidiosa* on *Gleditsia triacanthos* var. *inermis* in Pennsylvania. **Plant Disease**,
6 v. 104, n.4, p 1249, 2020.
- 7 LOBO JUNIOR, M.; MACEDO, R.; GOULART, P. F. S. Solos supressivos a
8 doenças. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. de F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C.
9 da (ed.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2022.
- 10 Loconsole G., Potere O., Boscia D., Altamura G., Djelouah K., Elbeaino T.,
11 Frasherri, D.; Lorusso. D.; Palmisano, F.; Pollastro, P.; Silletti, M.R.; Trisciuzzi,
12 N.; Valentini, F. ; Savino, V. .; Saponari, M. Detecção de *Xylella fastidiosa* em
13 oliveiras por métodos moleculares e sorológicos . **J. Plant Pathol.**, v. 96, p. 7–
14 14, 2014.
- 15 LOPES, S. A. Scion Substitution: A New Strategy to Control Citrus Variegated
16 Chlorosis Disease. **Plant Disease**, v.104, p.239-245, 2020.
- 17 LOPES, S. A.; LARANJEIRA, F.F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.
18 Clorose variegada: Perdas anuais de US\$100 milhões. **Visão Agrícola**, n.2,
19 p.20-23, 2004.
- 20 LÓPEZ, M. M., LANDA, B. B.; NOALES, E. M. Métodos de inspección,
21 diagnóstico y detección. In: Landa, B. (ed.) Enfermedades causadas por la
22 bacteria *Xylella fastidiosa*. **Cajamar Caja Rural**, Almeria, cap. 5, p. 95-116,
23 2017.
- 24 LUZ, J. P. *Xylella fastidiosa*, um problema emergente na Europa. In: Ciclo de
25 Conferências do Conselho Técnico-Científico: Temas atuais em investigação,
26 4, 2018, Castelo Branco. **Anais**, Castelo Branco-PT: IPCB, p. 21-26, 2018.
- 27 MACEDO, O. W. A. de O. **Avaliação da cadeia produtiva da laranja [*citrus***
28 ***sinensis* (L.) Osbeck] nos municípios de Iranduba, Manacapuru, Manaus e**
29 **Rio Preto da Eva no estado do Amazonas**. 140f. 2014. Dissertação
30 (Mestrado em Agricultura do Trópico Úmido), Instituto Nacional de Pesquisas
31 da Amazônia-INPA, 2014.
- 32 MACIEL, F. C. B.; SILVA, J. B. O.; SANTO, E. F. E. Estudo retrospectivo da
33 infecção causada por Ehrlichia spp. Em cães de Manaus, Amazonas (2018-
34 2020). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba,
35 v.4, n.2, p. 2056-2065, 2021

- 1 MARQUES, A. S. A.; GARRIDO, L. R. **(Xanthomonadales:**
2 **Xanthomonadaceae)**. In: Priorização de Pragas Quarentenárias Ausentes no
3 Brasil. Roraima: EMBRAPA Roraima, cap.23, p. 389–409, 2018.
- 4 MARTELLI, G. P.; BOSCIA, D.; PORCELLI, F.; SAPONARI, M. The olive quick
5 decline syndrome in south-east Italy: A threatening phytosanitary emergency.
6 **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, p. 235–243, 2016.
- 7 MARTINELLI, R. **Manejo Sustentável de Plantas Daninhas em Citros:**
8 **Implicações do Glyphosate no metabolismo da cultura e estratégias de**
9 **controle**. 2021. 105f. Instituto Agronômico de Campinas, Doutorado em
10 Agricultura Tropical e Subtropical, Campinas-SP, 2021.
- 11 MARTINETTI, D.; SOUBEYRAND, S. Identifying Lookouts for Epidemio-
12 Surveillance: Application to the Emergence of *Xylella fastidiosa* in France.
13 **Phytopathology**, 109(2), 265–276, 2019.
- 14 MARTINS, L. S.; PICCHI, S. C. ; CASTELLANE, T. C. L.; CAMPANHARO, J.
15 C. ; LEMOS, E. G. M. ; LEMOS, M. V. F. Monosaccharides composition of
16 biofilm produced by *Xylella fastidiosa* wild type and *rpf* mutants. **Res. J. Agric.**
17 **& Biol. Sci.**, v.6, n.6, p.1029-1035, 2010.
- 18 MARUCCI R.C., LOPES, J. R. S., VENDRAMIM J. D.; CORRENTE, J. E.
19 Feeding site preference of *Dilobopterus costalimai* Young and *Oncometopia*
20 *facialis* (Signoret) (Hemiptera: Cicadellidae) on citrus plants. **Neotrop.**
21 **Entomol.**, p759–768, 2004.
- 22 MARUCCI, R. C. **Eficiência de transmissão de *Xylella fastidiosa* por**
23 **cigarrinhas vetoras (Hemiptera, Cicadellidae) em Citros sinensis (L.)**
24 **Osbeck e Coffea arábica L.**139 f. 2003. Tese (Doutorado em Ciências:
25 Entomologia)- Universidade de São Paulo, Escola superior de agricultura "Luiz
26 de Queiroz", Piracicaba, 2003.
- 27 MATTICK, J. S. Type IV pili and twitching motility. **Rev. Microbiol.**, v.56, p.289-
28 314, 2002.
- 29 MATTOS JUNIOR, D.; COLETTA-FILHO, H. D.; POMPEU JUNIOR, J.;
30 NASCIMENTO, L. M. do; TAKITA, M. A.; BASTIANEL, M.; DALIO, R. J. D.
31 Origem genética da laranja doce. **Informativo Centro de Citricultura,**
32 **Cordeirópolis**, n. 234, 2014.
- 33 MATTOS JUNIOR, D.; MACEDO, L. O. HIPPLER, F. W. R.; BOARETTO, R.
34 M.; QUAGGIO, J. A.; STIPP, S. R. Informações Agronômicas: Avanços na
35 Nutrição de Citros e Café. **Internacional Plant Nutrition Institute**, Campinas,
36 n. 163, p.1-11, 2018.

- 1 MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O; POMPEU JUNIOR, J.
2 Citros: Principais informações e recomendações de cultivo, **Instituto**
3 **Agrônomo de Campinas (Boletim técnico 200)**, São Paulo, 2005.
- 4 MAURICIO, FN; SORATTO, TAT.; DIOGO.; JA.; CAMARGO, RL. B.; SOUZA,
5 AA DE; COLETTA-FILHO, HD.; SILVA, JAA.; MEDEIROS, AH.; MACHADO,
6 MA.; YALY, M.C. Analysis of Defense-Related Gene Expression in Citrus
7 Hybrids Infected by *Xylella fastidiosa*. **Phytopathology**, v. 109, n.2, p.301-306,
8 2019.
- 9 MENA, A. A. *Xylella fastidiosa*, una nueva amenaza patógena para el olivar:
10 *Xylella fastidiosa*, a new pathogenic threat for olive trees. **Encuentros en la**
11 **Biología**, v.10, n. 163, 2017.
- 12 MIGUEL, M. P.; MENEZES, L. B.; ARAÚJO, E. G. Western blotting: a técnica e
13 aplicações na pesquisa e rotina diagnóstica em medicina veterinária.
14 **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p.
15 1704, 2012.
- 16 MINSAVAGE, G.V.; THOMPSON, C.M.; HOPKINS, D.L.; LEITE, R.M.V.B.C.;
17 STALL, R.E. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection
18 of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, v.84, p.446-461, 1994
- 19 MOLINA, R. O.; NUNES, W. M. C.; GONÇALVES, A. M. O.; CORAZZA-
20 NUNES, M. J.; ZANUTTO, C. A.; YAMAMO, A. Y.; VARGAS, R. G. Ocorrência
21 de cigarrinhas vetoras de *Xylella fastidiosa* em pomares cítricos do município
22 de Loanda, no Noroeste do Paraná. **Laranja**, Cordeirópolis, v.27, n.2, p243-
23 250, 2006.
- 24 MOLINA, R. O.; SANTOS, K. S.; GONÇALVES, A. C. A.; NUNES, W. M. C.
25 Distribuição espaço-temporal de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) vetores
26 da *Xylella fastidiosa* em pomares cítricos. **Revista Agro@ambiente**, v.10, n.2,
27 p.145-152, 2016.
- 28 MONTEIRO, MC; PEREIRA, LCC, E JIMÉNEZ, JA. O status trófico de um
29 estuário amazônico sob pressão antrópica (Brasil). In: Vila-Concejo, A.; Bruce,
30 E.; Kennedy, DM, e McCarroll, R.J. (eds.), *Proceedings of the 14th International*
31 *Coastal Symposium*. **Journal of Coastal Research**, n.75, 2016
- 32 MORO, L. C.; ZANONI, C., AZEVEDO FILHO, W. S. Reconhecimento
33 preliminar de espécies de cigarrinhas (Cicadellidae: Cicadellinae) com o uso de
34 algoritmo de aprendizado de máquina e representação esparsa. **Caderno de**
35 **Pesquisa**, v. 31, n. 2, p. 1-8, 2019.
- 36 MULLER, C. *Xylella fastidiosa* de ameixeira: transmitida por cigarrinhas
37 (Hemiptera: Cicadellidae) e colonização de plantas hospedeiras. 106f.

- 1 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências: Entomologia) - Universidade de
2 São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-SP,
3 2013.
- 4 MUNAR, D. M. M. **Investigação das características físico-químicas da**
5 **bactéria *Xylella fastidiosa* e seus biofilmes.** Dissertação (mestrado em
6 Ciências) - Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade Estadual de
7 Campinas, Campinas-SP, 2017.
- 8 MURRAY, H. G.; THOMPSON, W. F. Rapid Isolation of High Molecular Weight
9 DNA. **Nucleic Acids Research**, 8, 4321-4325, 1980.
- 10 MUTO, R.; ARAGÓN, L.E. A saga dos *koutakusseis* na Amazônia. **Papers do**
11 **NAEA**, v. 28, n. 3, p. 134-152, 2019.
- 12 NASCIMENTO, J. B. **Levantamento de doenças em espécies frutíferas e**
13 **florestais em sistemas agroflorestais no estado do Amazonas.** 54f. 2018.
14 Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) -
15 Universidade do Estado do Amazonas, Itacoatiara-AM, 2018.
- 16 NATALE, W.; ROZANE, D. E.; PARENT, L. E.; PARENT, S. E. Acidez do solo e
17 calagem em pomares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1294–
18 1306, 2012.
- 19 NIZA, B., COLETTA-FILHO, HD, MERFA, MV, TAKITA, MA E DE SOUZA, AA.,
20 Padrões diferenciais de colonização de *Xylella fastidiosa* infectando genótipos
21 de citros. **Plant Pathol.**, 64: 1259-1269, 2015.
- 22 NOALES, E. M.; BARBÉ. S. *Xylella fastidiosa*: La amenaza de una bacteria
23 fitopatogena emergente. **Rev. Semáforo**, n. 65, p. 15-19, 2018.
- 24 NOGUEIRA, E. M. D. C.; FERRARI, J. T.; TOFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.;
25 ALMEIDA, I. M. G. de; BERIAM, L. O. S. Doenças em fruteiras de clima
26 temperado: Ameixeira, pessegueiro, nectarineira e nespereira. Instituto
27 Biológico (**Documento técnico 21**), vol. 21, p. 1–17, 2016.
- 28 NUNES, M. L. **Aplicação da técnica Loop-mediated isothermal**
29 **amplification (LAMP) no desenvolvimento de um teste para o diagnóstico**
30 **da peste.** 2013. 74f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) -
31 Departamento de Saúde Coletiva, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação
32 Oswaldo Cruz, Recife, 2013.
- 33 NUNES, W.M.C; MOLINA, R.O; ALBUQUERQUE, F.A; CORAZZA-NUNES; M.
34 J; ZANUTO. C.A; MACHADO M.A. Flutuação Populacional de Cigarrinhas
35 Vetoras de *Xylella fastidiosa* em Pomares Comerciais de Citros no Noroeste do
36 Paraná. **Neotropical Entomology**, v.36, n.2, p. 254-260, 2007.

- 1 NUNNEY, L.; ELFEKIH, S.; STOUTHAMER, R. The importance of multilocus
2 sequence typing: cautionary tales from the bacterium *Xylella fastidiosa*.
3 **Phytopathology**, v.102, n.5, p. 456–460, 2012.
- 4 OLMO, D.; NIETO, A.; ADROVER, F.; URBANO, A.; BEIDAS, O.; JUAN, A.;
5 MARCO-NOALES, E.; LÓPEZ, M. M. .; NAVARRO, I.; MONTERDE, A.;
6 MONTES-BORREGO, M.; J. NAVAS-CORTÉS, A.; LANDA, B. B. First
7 detection of *Xylella fastidiosa* infecting cherry (*prunus avium*) and *Polygala*
8 *myrtifolia* plants, in Mallorca island, Spain. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, 2017.
- 9 OTT, M. G., SCHMIDT, M., SCHWARZWAELDER, K., STEIN, S., SILER, U.,
10 KOEHL, U., GLIMM, H., KÜHLCKE, K., SCHILZ, A., KUNKEL, H., NAUNDORF,
11 S., BRINKMANN, A., DEICHMANN, A., FISCHER, M., BALL, C., PILZ, I.,
12 DUNBAR, C., DU, Y., JENKINS, N. A., COPELAND, N. G.;LUTHI, U.;
13 HASSAN, M.; THRASHER, A. J.; HOELZER, D.; KALLE, C. V.; SEGER, R.;
14 GREZ, M. Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene
15 therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EVI1, PRDM16 or
16 SETBP1. **Nature medicine**, v. 12, n.4, p.401–409, 2006.
- 17 PALAZZO, D.A.; CARVALHO, M.L.V. Desenvolvimento e progresso da Clorose
18 Variegada dos Citros (CVC) em pomares de Colina, SP. **Laranja** v.13, p.489-
19 502, 1992.
- 20 PEREIRA, W.E.L.; ANDRADE, S.M.P.; DEL PONTE, E.M.; ESTEVES, M. B.;
21 CANALE, M. C.; TAKITA, M. A.; COLETTA-FILHO, H. D.; SOUZA, A. A. de.
22 Severity assessment in the *Nicotiana tabacum-Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*
23 pathosystem: design and interlaboratory validation of a standard area diagram
24 set. **Trop. plant pathol.** 45, 710–722 (2020).
- 25 PEREIRA, E.F.; LOPES, J.R.S.; TURATI, D.T.; MUNHOZ, C.; CORRENTE,
26 J.E. Influência das condições hídricas do solo e da temperatura na
27 sobrevivência e alimentação de *Oncometopia facialis* (hemiptera: cicadellidae)
28 em "seedlings" de citros. **Arq. Inst. Biol.**, v.72, n.3, p.343-351, 2005.
- 29 PIERRY, P. M. **Pirosequenciamento e análise comparativa de genomas do**
30 **fitopatógeno *Xylella fastidiosa***. 147f. 2012. Dissertação (Mestrado em
31 ciências: Bioquímica)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- 32 POTNIS, N.; KANDEL, P. P.; MERFA, M. V.; RETCHLESS, A. C.; PARKER, J.
33 K.; STENGER, D. C.; ALMEIDA, R. P. P.; VLAMI, M. B.; WESTENBERG, M.;
34 COBINE, P. A.; LA FUENTE, L. de. Patterns of inter and intrasubspecific
35 homologous recombination inform eco-evolutionary dynamics of *Xylella*
36 *fastidiosa*. **The ISME Journal**, v. 13, p. 2319–2333, 2019.

- 1 PRADO, S. S. e LOPES, João Roberto Spotti. Inoculação cruzada de estirpes
2 de *Xylella fastidiosa* em citros e café. 2003, **Anais**. Araras: Escola Superior de
3 Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2003.
- 4 PRUDENTE, R. M; SILVA, L. M. S. **Porta-Enxertos Cítricos**. In: MELO, M. B.;
5 SILVA, L. M. S. de (Ed). Aspectos técnicos dos citros em Sergipe. Aracajú:
6 Embrapa Tabuleiros Costeiros; Departamento de Desenvolvimento
7 Agropecuário de Sergipe (DEAGRO), cap., 5, p. 41-49, 2006.
- 8 PURCELL, A. H. XYLELLA FASTIDIOSA, A REGIONAL PROBLEM OR
9 GLOBAL THREAT?. **Journal of Plant Pathology**, v. 79, n. 2, p. 99-105, 1997.
- 10 QUEIROZ, R.B.V.; PARADELA FILHO, O. Caracterização de estruturas
11 anatômicas de citros infectados com *Xylella fastidiosa*. **Laranja**, Cordeirópolis,
12 v.20, p.55-76, 1999
- 13 QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; CABRAL L.P.; PARADELA FILHO, O. Severidade
14 do sintoma da bactéria *Xylella fastidiosa* em cultivares de cafeeiro. **Bragantia**
15 63(3): 395-404, 2004.
- 16 RAIMUNDI, M. K. **Caracterização e identificação de isolados bacterianos**
17 **patogênicos ao cafeeiro**. 80f. 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia:
18 Fitopatologia)- Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2013.
- 19 RAMÍREZ, M. S. M. **Detección de *Xyella fastidiosa* mediante PCR en**
20 **tiempo real en diferentes especies vegetales**. 2020. 96f. Trabalho de
21 conclusão de curso (Graduação em Biotecnologia) -Facultad de Veterinária y
22 Ciencias Experimentales, Universidad Católica de Valencia, Instituto
23 Valenciano de Investigaciones Agrarias, Valencia-ES, 2020.
- 24 RAPICAVOLI, J.; INGEL, B.; ULATE, B. B.; CANTU, D.; HOPER, C. *Xylella*
25 *fastidiosa*: An examination of a re-emerging plant pathogen. **Molecular Plant**
26 **Pathology**, v. 19, n. 4, p. 786-800, 2018.
- 27 ROBERTO, S. R.; A. COUTINHO; J.E.O. LIMA; V.S. MIRANDA; E.F. CARLOS.
28 Transmissão de *Xylella fastidiosa* pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*,
29 *Acrogonia terminalis* e *Oncometopia facialis* (Hemiptera: Cicadellidae) em
30 citros. **Fitopatol. Bras.**, v. 21, p. 517-518, 1996.
- 31 ROBERTO, S. R.; FARIAS, P. R. S.; BERGAMIN FILHO, A. Geostatistical
32 analysis of spatial dynamics of citrus variegated chlorosis. **Fitopatologia**
33 **Brasileira**, v. 27, p. 599-604. 2002.
- 34 ROBERTO, S.R.; P.T. YAMAMOTO. Flutuação populacional e controle químico
35 de cigarrinhas em citros. **Laranja**, v.19, p. 269-284, 1998.

- 1 ROCHA, J. G., ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E. M., DO VALE, F. X. R.,
2 JUNIOR, W. C. J., FILHO, A. B. Quantification of yield loss due to coffee leaf
3 scorch. **Crop Protection**, v. 29, n. 10, p. 1100-1104, 2010.
- 4 RODRIGUES, C. M. **Expressão diferencial de genes em laranja doce**
5 **(*Citrus sinensis* L. Osb) e em tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) em**
6 **resposta à infecção por *Xylella fastidiosa***. 140f. 2011. Tese (Doutorado em
7 Genética) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de
8 Botucatu, Botucatu-SP, 2011.
- 9 ROPER, C.; CASTRO, C.; INGEL, B. *Xylella fastidiosa*: Bacterial parasitism
10 with hallmarks of commensalism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 50, p.
11 140-147, 2019.
- 12 ROSSETTI, V.; DE NEGRI, J. D. Clorose Variegada dos Citros: Revisão.
13 **Citrus Research & Technology**, v. 32, n. 1, p. 61–66, 2011.
- 14 SALIBE, A. A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; MULLER, G. W. Sinopse de
15 conhecimentos e pesquisas sobre a laranja 'pêra. **Laranja**, Cordeirópolis, v.23,
16 n.1, p.231-245, 2002.
- 17 SANTOS FILHO, H. P.; SOUZA, T. C.; LEDO, C. A. S.; CARVALHO, H. W. L.
18 Influência de brotações novas sobre a atratividade de Cigarrinhas e o aumento
19 da incidência e da severidade da Clorose Variegada dos Citros. Cruz das
20 Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura (**Boletim de Pesquisa e**
21 **Desenvolvimento**), n.8, 25p., 2017.
- 22 SANTOS, B. de N. G. ***Xylella fastidiosa* em oliveiras (*Olea europaea*):**
23 **Distribuição na planta, transmissão vertical e diagnose**. 2022. 55f.
24 Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) -
25 Universidade Federal de São Carlos, 2022.
- 26 SÃO PAULO. **Decreto nº 47.931, de 07 de julho de 2003**. Define as
27 Populações Vegetais de Interesse do Estado. Casa Civil: São Paulo, SP, 2p.,
28 2002.
- 29 SAPONARI, M.; BOSCIA, D.; ALTAMURA, G.; LOCONSOLE, G.; ZICCA, S.;
30 D'ATTOMA, G.; MORELLI, M.; PALMISANO, F.; SAPONARI, A.; TAVANO, D.;
31 SAVINO, V. N.; DONGIOVANNI, C.; MARTELLI, G. P. Isolation and
32 pathogenicity of *Xylella fastidiosa* associated to the olive quick decline
33 syndrome in southern Italy. **Scientific Reports**, v. 7, n.1, p. 1-13, 2017.
- 34 SAUNDERS, C. V.; ZYL, S. V.; NAEGELE, R. P. Virulence Variability in *Xylella*
35 *fastidiosa* and Disease Susceptibility of Cultivated and Wild Grape Species.
36 **Plant Health Progress**, 2023.

- 1 SCHNEIDER, N. A.; FILHO, W. S. de A. Epidemiologia Da Escaldadura Das
2 Folhas Da Ameixeira. **Caderno De Pesquisa**, v. 26, n. 2, p.25-40, 2014.
- 3 SCHWANTES, M. E., PACHECO, G. B. G.; AZEVEDO FILHO, W. S. Novos
4 registros de plantas hospedeiras de Deois (*Pandysia*) schach (Fabricius, 1787)
5 e Mahanarva (Ipiranga) integra (Walker, 1858) (Hemiptera: Cercopidae) no
6 estado de Santa Catarina - Brasil. **Jornal Interdisciplinar de Ciências**
7 **Aplicada**, v.6, n.10, p.13–16, 2021
- 8 SICARD, A.; SAPONARI, M.; VANHOVE, M.; CASTILLO, A. I.;
9 GIAMPETRUZZI, A.; LOCONSOLE, G.; SALDARELLI, P.; BOSCIA, D.;
10 NEEMA, C.; ALMEIDA, R. P. P. Introduction and adaptation of an emerging
11 pathogen to olive trees in Italy. **Microb Genom.**, v. 7, n. 12:000735, 2021.
- 12 SILVA NETO, J. F. DA; KOIDE T.; GOMES, S. L.; MARQUES, M. DO V. **The**
13 **single extracytoplasmic-function sigma factor of *Xylella fastidiosa* is**
14 **involved in the heat shock response and presents an unusual regulatory**
15 **mechanism**. *Journal of Bacteriology*, v. 189, n. 2, p. 551-560, 2007
- 16 SILVA, D. C. da. **Detecção molecular de *Xylella fastidiosa*, agente causal**
17 **da clorose variegada dos citros, em pomares no estado do Amazonas.**
18 29f. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) -
19 Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2021.
- 20 SILVA, D. F. **Investigação da ação bactericida de produtos naturais sobre**
21 **a bactéria *Xylella fastidiosa*.** 2013. 90f. Dissertação (Mestrado profissional em
22 química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.
- 23 SILVA, I. P. **Disseminação da clorose variegada dos citros (CVC) no**
24 **Recôncavo Baiano: disponibilidade de inóculo em plantios e material**
25 **propagativo, disponibilidade de inóculo em plantios e material**
26 **propagativo.** 2015. 100 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) -
27 Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2015.
- 28 SILVA, M. C. C. R. CASTILHOS, R. V.; LOPES, J. R. S.; BRUGNARA, E. C.
29 Bactéria *Xylella fastidiosa* detectada em oliveiras no sudeste brasileiro.
30 **Agropecuária Catarinense** (Informativo técnico), v. 30, n. 2, p. 35–37, 2017.
- 31 SILVA, M. S. **Caracterização dos genes de adesão na formação do biofilme**
32 **e na patogenicidade de *Xylella fastidiosa* e expressão diferencial de**
33 **proteínas.** 106f. 2011. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) -
34 Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2011.
- 35 SILVA, S. E. L. da (Ed). **Sistemas de Produção: Cultivo de citros para o**
36 **Estado do Amazonas.** Manaus, AM: Embrapa Amazônia Ocidental, v. 3, 52p.,
37 2006.

- 1 SILVA, S. R.; OLIVEIRA, J. C.; STUCHI, E.S.; DONADIO, L. C.; SOUZA, P. S.;
2 GONZALEZ-JAIMES, E.P. Avaliação de tangerinas, tangores e tangelos em
3 relação à clorose variegada dos citros. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 26, n.1, 2004.
- 4 SIMONETTI, L. M.; YALY, M.C.; SCHINOR, E. H.; MACHADO, M. A.; Reação
5 de híbridos de citros à clorose variegada. **Citrus Research & Technology**,
6 Cordeirópolis, v.32, n.2, p.77-83, 2011
- 7 SIMPSON, A.J.G.; REINACH, F.C.; ARRUDA, P. *et al.* The genome sequence
8 of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Nature**, v. 406, n. 13, p. 151-157, 2000.
- 9 SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C. **Citros: Do plantio à colheita**. 1ª ed.
10 Viçosa: UFV, 278p., 2017.
- 11 SISTERSON, M. S.; THAMMIRAJU, S. R.; Lynn-Patterson, K.; GROVES, R. L.;
12 DAANE, K. M. Epidemiology of Diseases Caused by *Xylella fastidiosa* in
13 California: Evaluation of Alfalfa as a Source of Vectors and Inocula. **Plant**
14 **Disease**, v. 94, n. 7, p. 827-834, 2010
- 15 SOUZA, A. A .de; TAKITA, M. A.; COLETTA-FILHO, H. D.; CALDANA, C.;
16 YANAI, G. M.; MUTO, N. H.; OLIVEIRA, R. C.; NUNES, L. R.; MACHADO, M.A.
17 Perfil de expressão gênica do fitopatógeno *Xylella fastidiosa* durante a
18 formação de biofilme in vitro. **FEMS Microbiol.**, v.237, p.341-353, 2004.
- 19 SOUZA, A. A.; MULLER, G. W. A. A premunização no controle da tristeza dos
20 citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v.27, n.1, p.57-70, 2006.
- 21 SOUZA, A. A.; TAKITA, M. A. AMARAL, A. M.; COLETTA-FILHO, H. D.;
22 MACHADO, M. A. Citrus Responses to *Xylella fastidiosa* infection, the causal
23 agent of citrus variegated chlorosis. **Tree and Forestry Science and**
24 **Biotechnolog**, v. 3, n. 3, 2008.
- 25 SOUZA, M. do S. P.; GALDINO, M. S. da S. **Crescimento inicial de**
26 **laranjeiras cultivadas com recomendações de adubação no nordeste**
27 **paraense**. 52f. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
28 Agronomia). Faculdade de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal
29 Rural da Amazônia, Capitão Poço- PA, 2019.
- 30 SOUZA, P. V. D.; SCHAFER, G. **Produção de mudas de citros**. In: EFRON,
31 C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org). Citricultura do Rio Grande do Sul: Indicações
32 técnicas. 1ª ed. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação
33 (SEAPI); *Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária* (DDPA),
34 289p., 2018.
- 35 SUBHASHINI, M.H.A.D.; SENEVIRATHNE, K.S.I.; GAJANAYAKE, S.;
36 PIYATISSA, D.E.; LEELARATHNE, C.; WICKRAMAARCHCHI, W.A.R.T.

- 1 Investigation of the presence of *Xylella fastidiosa*: A quarantine pathogen in
2 potential host plants in Sri Lanka. **Sri Lankan Journal of Agriculture and**
3 **Ecosystems**, v. 4, n.1, p. 20-28, 2022.
- 4 TALAMINI, V.; FERREIRA, J. M. S.; RAMOS, S. R. R. Incidência e severidade
5 da queima-das-folhas em cultivares de coqueiro em Pernambuco. Aracaju:
6 Embrapa Tabuleiros Costeiros (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**), n.
7 81, 16p., 2013.
- 8 THEODORO, G. DE F., NESI, C. N. ., VERONA, L. A. F. .; ANDRADE, T. P. R.
9 . Intensidade da clorose variegada dos citros em pomares de laranja doce no
10 Oeste Catarinense. **Agropecuária Catarinense**, v. 18, n.1, p. 91–94, 2005.
- 11 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE FOREIGN
12 AGRICULTURAL SERVICE (USDA). **Citrus: World markets and trade**.
13 Foreign Agricultural Service/USDA, Global Market Analysis, 2023. Disponível
14 em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>. Acesso em:
15 17/04/2023.
- 16 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE FOREIGN
17 AGRICULTURAL SERVICE (USDA). **Citrus Anual. Foreign Agricultural**
18 **Service/USDA, Global Agricultural Information Network**, 2021. Disponível
19 em:
20 [https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?f](https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Citrus%20Annual_Sao%20Paulo%20ATO_Brazil_12-15-2021.pdf)
21 [ileName=Citrus%20Annual_Sao%20Paulo%20ATO_Brazil_12-15-2021.pdf](https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Citrus%20Annual_Sao%20Paulo%20ATO_Brazil_12-15-2021.pdf)
22 Acesso em: 23/10/2023
- 23 VALE, F. X. R. do; ZAMBOLIM, L. **Influência da temperatura e da umidade**
24 **nas epidemias de doenças de plantas** (Ed.). In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J.
25 M.; PRESTES; A. M. PICININI, E. C. Revisão anual de patologia de plantas.
26 Passo Fundo: RAPP, v. 4, cap. 5, p. 149-200, 1996.
- 27 VIDAL, M. F. **Agropecuária: Laranja** (Caderno Setorial ETENE). Fortaleza:
28 Banco do Nordeste (BNB), ano 8, n.277, 2023.
- 29 VOS, S.; CAMILLERI, M.; DIAKAKI, M.; LÁZARO, E.; PARNELL, S.; SCHENK,
30 M.; SCHRADER, G.; VICENT, A. Pest survey card on *Xylella fastidiosa*
31 European. **EFSA Supporting publication**, v.16, n.6, 2019.
- 32 WALIULLAH, S.; DI GENOVA, D.; OLIVER, J. E; ALI, M. E. Development of a
33 CAPS Marker and a LAMP Assay for Rapid Detection of *Xylella fastidiosa*
34 Subsp. *multiplex* and Differentiation from *X. fastidiosa* Subsp. *fastidiosa* on
35 Blueberry. **Int. J. Mol. Ciência**, v. 23, p.1937, 2022.
- 36 WATSON, J. D.; BAKER, T. A.; BELL, S. P.; GANN, A.; LEVINE, M.; LOSICK,
37 R.; HARRISON, S. C. **Biologia molecular do gene**. Tradução: VARGAS, A.

- 1 E.; PASSAGLIA, L. M. P.; FISCHER, R. 7^a Ed. Porto Alegre: Artmed, 916p.,
2 2015
- 3 WELLS J. M.; RAJU B.C.; HUNG H.Y; WEISBURG W.G.; MANDELCO-PAUL
4 L.; BRENNER D. J. *Xylella fastidiosa* gev. nov. sp. nov: Gram-negative, xy-
5 lem-limited fastidious plant bacteria related to Xanthomonas spp. **International**
6 **Journal of Systematic Bacteriology**, v. 37, p. 136-143, 1987.
- 7 WELLS, J. M.; RAJU, B.C.; NYLAND, G.; LOWE, S. K. Medium for isolation and
8 growth of bacteria associated with plum leaf scald and phony peach diseases.
9 **Applied and environmental microbiology**, v.42, n.2, p.357-363, 1981
- 10 WU, G., TEROL, J., IBANEZ, V.; LÓPEZ-GARCÍA , A.; PÉREZ-ROMÁN, E.;
11 BORREDÁ, C.; DOMINGO, C.; TADEU, F. R.; CARBONELL-CABALLERO, J.;
12 ALONSO, R.; CURK, F.; DU, D.; OLITRAULT, P.; ROOSE, M. L.; DOPAZO,
13 J.; GMITTER, F. G.; ROKHSAR, D. S.; GARRA, M. Genomics of the origin
14 and evolution of citrus. **Nature**, v. 554, p. 311-316, 2018.
- 15 YAMAMOTO P. T.; FELIPPE, M. R.; CAETANO, A. C.; SANCHES, A. L.;
16 ALMEIDA, E. J.; NOCITI, L. A. S. Eficiência de inseticidas neonicotinóides
17 aplicados via tronco no controle de *Oncometopia facialis* (Signoret) (Hemiptera,
18 Cicadellidae) em mudas de laranja 'Pêra'. **Centro de Pesquisas Citrícolas** –
19 Fundecitrus, Araraquara-SP, 2002.
- 20 YAMAMOTO P. T.; LOPES, J. R. S. Cigarrinhas na proliferação da Clorose
21 Variegada dos Citros. **Visão Agrícola**, n. 2, p. 60–63, 2004
- 22 YASEEN, T.; DRAGO, S.; VALENTINI, F.; ELBEAINO, T.; STAMPONE, G.;
23 DIGIARO, M.; D'ONGHIA, A. M. On-Site Detection of *Xylella fastidiosa* in host
24 plants and in “spy insects” using the real-time loop-mediated isothermal
25 amplification method. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 54, n. 3, p. 488–496.
26 2015.
- 27 YORINORI, M.A.; RIBAS, A. F.; UENO, B.; MASSOLA JUNIOR, N. S.; LEITE
28 JUNIOR, R. P.; Detecção de *Xylella fastidiosa* em germoplasma de cafeeiro.
29 **Fitopatol. bras.**, v 28, n.4, 2003
- 30 YUAN, X.; MORANO L.; BROMLEY R.; SPRING-PEARSON S.;
31 STOUTHAMER R.; NUNNEY L. Multilocus sequence typing of *Xylella*
32 *fastidiosa* causing pierce's disease and oleander leaf scorch in the United
33 States. **Phytopathology**, v. 100, p. 601–611, 2010.
- 34 ZAUZA, E. A. V.; FERREIRA, M. A. Manejo integrado de doenças bióticas em
35 viveiros florestais In: SANTOS, B.A. dos; ZANOTTO, E.; PINTO, F. A. M. F.;
36 DORNELAS, G. A.; VASCO, G. B.; SILVA, G. M. da; SANTOS NETO, H.;

- 1 ALENCAR, N. E.; MARTINS, S. J.; TERRA, W. C. (Ed.). **Patologia Florestal:**
- 2 **Desafios e Perspectivas.** São Carlos, SP: Suprema, p. 103-117, 2013.
- 3 ZUCOLOTO, M.; SCHMILDT, E. R.; COELHO, R. I. (Org). **Fruticultura**
- 4 **tropical: Diversificação e consolidação.** Alegre, ES: CAUFES, 186 p., 2015.