

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE CITROS E AFINS À *Diaphorina citri*
KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

LORENA VIANA RIBEIRO

Cruz das Almas, fevereiro de 2017

LORENA VIANA RIBEIRO

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE CITROS E AFINS À *Diaphorina*
citri KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: Liviidae)

Trabalho de Conclusão de
Curso apresentado ao
Colegiado do Curso de
Engenharia Florestal da
Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia -
UFRB - pela estudante
Lorena Viana Ribeiro
como requisito parcial
para obtenção do grau de
Bacharel em Engenharia
Florestal, sob a orientação
do Professor Marcos
Gonçalves Lhano.

Cruz das Almas, fevereiro de 2017

AGR RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE CITROS E AFINS À *Diaphorina citri*
KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

LORENA VIANA RIBEIRO

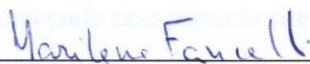
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB- pela estudante Lorena Viana Ribeiro como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Florestal.

Aprovado em: 07/03/2017

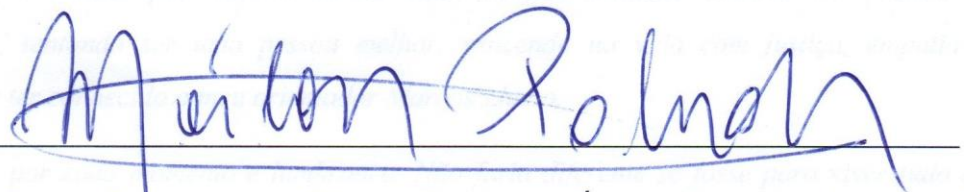
Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Marcos Gonçalves Lhano/Doutor em Ciências Biológicas – Opção Zoologia/
Universidad de la República, Uruguai.



Dra. Marilene Fancelli/Doutora em Entomologia/USP



Prof. Dr. Marlon Paluch/ Doutor em em Ciências Biológicas (Área de Zoologia, Concentração em Entomologia)/UFPR

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus guias e mentores espirituais por terem me guiado, iluminado meu caminho e me concedido paciência, sabedoria e paz interior para concluir mais essa jornada.

À minha mãe, Rose, por ter sido sempre meu porto seguro e me mostrado desde sempre sua força e seu espírito guerreiro, não me deixando esquecer que a nossa independência quanto mulher é fundamental para nosso crescimento e evolução. Ao meu irmão, Dú, por ter sido sempre o orgulho e exemplo de casa e à irmã, Bribá, pela confiança e estímulo. A minha vó, Nega, por todo carinho dado. Ao avô Delsuc (in memoriam) por ter sido o primeiro a me apoiar pelo curso que escolhi e a toda família (Rosa, Lex, Cacaso, Léo, Laura, Virgínia, Neto) que de alguma forma contribuiu para que meu sonho se realizasse.

À minha pessoa, Júlia, por ter me mostrado da forma mais pura e no sentido exato da palavra o que é o amor. Por me deixar participar de sua vida me dando apoio, força e coragem para enfrentar meus medos e ser uma pessoa melhor.

Ao Laboratório de Entomologia da EM BRAPA Mandioca e Fruticultura onde eu pude desenvolver meu trabalho e aprender de forma prática e eficiente o que foi passado.

À minha orientadora da EM BRAPA, Marilene Fancelli, por ser uma mulher magnífica, pela paciência e ensino nesses últimos dois anos. Conhecimento que levarei para vida toda e pessoa que lembrarei sempre com carinho e gratidão. Agradeço pela confiança que depositou em mim e por ter mostrado o quanto posso evoluir e crescer.

À minha amiga, Flávia, por me deixar claro que vínculos afetivos verdadeiros se sustentam independente da distância. Aos canelados Édén, Dani, João, Teu e Rol por termos começado juntos e sempre uns pelos outros. Á Nanda pela confiança, lealdade e amizade. A Vini pelo crescimento pessoal e por tanto conhecimento compartilhado. À Mari por todo apoio, carinho e pela sensibilidade em estar feliz com a minha felicidade. A Je, Lay, Marie e Jô por tantas loucuras, risadas e momentos de felicidade. Á Dry por ter começado essa jornada comigo e pelos 15 anos de amizade e lealdade.

Ao Centro Espírita Obreiros da Fraternidade por ter me ensinado sobre amor, caridade e esperança. Pelas palavras que levarei por toda a minha vida. Viverei tentando colocar em prática e, conseqüentemente, tentando ser uma pessoa melhor, vencendo na vida com justiça, empatia e serenidade. E, por ter conhecido o meu orientador Marcos Lhano.

Agradeço a todos por cada momento e lembrança. Não faria diferente se fosse para viver tudo de novo. Muito obrigada!

RESUMO

Atualmente, o *Huanglongbing* (HLB) é um dos principais problemas de ordem fitossanitária para a cadeia produtiva da citricultura. Acarreta perdas altamente significativas na produção devido à inviabilização da comercialização dos frutos. *Diaphorina citri* é o vetor do HLB. Como ainda não há cura para a doença, as medidas para manejo do HLB dependem de um eficiente controle do vetor. Esse trabalho foi conduzido com o objetivo de identificar genótipos porta-enxerto de citros e afins promissores quanto à resistência à *Diaphorina citri*. Foram realizados dois experimentos, o primeiro em setembro e outubro de 2015 e o segundo em junho de 2016. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial, com 24 genótipos e 6 repetições. No primeiro experimento, foram realizadas 13 avaliações para número de adultos e 2 para número de ninfas. Para número de ovos, foi feita uma avaliação sete dias após a infestação. No segundo experimento, avaliou-se apenas o número de adultos (16 avaliações). Para infestação, foram distribuídos homogeneamente 720 adultos (Experimento 1) e 3316 adultos (Experimento 2). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%). No primeiro experimento, observou-se menor número de adultos nos genótipos TRBK (Trifoliata 'Benecke'), LCR x TR - 001, HTR-069, LRF x (LCR x TR) - 005, HTR-051, TSKC x (TR x LCR) - 040, TSK x TRBK - CO, TSKC x CTCM - 008, considerados repelentes. Os genótipos TSKC x CTCM - 008, HTR-069, LCR x TR - 001, TSKC x (TR x LCR) - 040, Citrandarin 'Riverside', LRF x (LCR x TR) - 005 e TRBK (Trifoliata 'Benecke') apresentaram deterrência para oviposição e nenhuma ninfa. Com relação ao segundo experimento, Tangerineira 'Sunki Tropical' foi o genótipo mais atrativo. Tangerineira 'Cleópatra' e LCRSTC (Limoeiro 'Cravo Santa Cruz') mantiveram-se também como preferidos, porém juntamente com HTR-208 e TSKC x (LCR x TR) - 017. Os genótipos LRF x (LCR x TR) - 005, HTR-051, TSKC x CTSW - 028, Citrandarin 'Riverside', TSKC x CTCM - 008, Citrandarin 'San Diego', LCR x TR - 001, TSKC x (LCR x TR) - 059, TSK x TRBK (Trifoliata 'Benecke') - CO e TRBK (Trifoliata 'Benecke') foram considerados pouco atrativos para o inseto. Verifica-se a existência de variabilidade para a atratividade de genótipos porta-enxertos à *D. citri*, havendo necessidade de estudos adicionais para identificar os mecanismos de resistência envolvidos.

Palavras-chave: Citricultura, psílideo dos citros, HLB, atratividade, não preferência.

ABSTRACT

Currently, Huanglongbing (HLB) is one of the main phytosanitary problems for the citrus production chain. It entails highly significant losses in production due to the unfeasibility of commercialization of the fruits. *Diaphorina citri* is the vector of HLB. As there is still no cure for the disease, the measures for HLB management depend on efficient vector control. This work was conducted with the objective of identifying citrus rootstock genotypes and related promising for resistance to *Diaphorina citri*. Two experiments were carried out, the first in September and October 2015 and the second in June 2016. The experimental design was completely randomized in the factorial scheme, with 24 genotypes and 6 replicates. In the first experiment, 13 evaluations were performed for adults and 2 for nymphs. For egg numbers, an evaluation was made seven days after the infestation. In the second experiment, only the number of adults (16 evaluations) was evaluated. For infestation, 720 adults (Experiment 1) and 3316 adults (Experiment 2) were homogeneously distributed. Data were submitted to analysis of variance and means were compared by the Scott-Knott test (5%). In the first experiment, fewer adults were observed in the genotypes TRBK (Trifoliata 'Benecke'), CCR x TR-001, HTR-069, LRF x (LCR x TR) -005, HTR-051, TSKC x (TR x LCR) -040, TSK x TRBK-CO, TSKC x CTCM-008, considered repellent. The genotypes TSKC x CTCM-008, HTR-069, LCR x TR-001, TSKC x (TR x LCR) -040, Citrandarin 'Riverside', LRF x (LCR x TR) -005 and TRBK (Trifoliata 'Benecke') Presented detergency for oviposition and no nymph. Regarding the second experiment, 'Sunki Tropical' mandarin was the most attractive genotype. (LCR x TR) -005 (LCR x TR) -07 genotypes were also maintained as preferred, but together with HTR-208 and TSKC x (LCR x TR) -07. HCR-051, TSKC x CTSW-028, Citrandarin 'Riverside', TSKC x CTCM-008, Citrandarin 'San Diego', LCR x TR-001, TSKC x (LCR x TR) -059, TSK x TRBK (Trifoliata 'Benecke') - CO and TRBK (Trifoliata 'Benecke') were considered unattractive for the insect. The existence of variability for the attractiveness of rootstock genotypes to *D. citri* is verified, and there is a need for additional studies to identify the mechanisms of resistance involved.

Key words: Citriculture, citrus psyllids, HLB, attractiveness, non-preference.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 Importância da citricultura no Brasil	8
1.2 Huanglongbing (HLB)	9
1.2.1 Descrição	9
1.2.2 Sintomas do HLB	10
1.3 Identificação taxonômica e classificação de <i>D. citri</i>	11
1.3.1 O inseto-vetor, <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Homiptera, Liviidae)	11
1.3.2 Descrição e aspectos bioecológicos de <i>Diaphorina citri</i>	12
1.3.3 Bioecologia de <i>Diaphorina citri</i>	13
1.4 Manejo do HLB	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Coleta e manutenção de adultos de <i>Diaphorina citri</i>	16
3.2 Obtenção de mudas de genótipos e afins	16
3.3 Infestação das mudas de genótipos de citros e afins de <i>Diaphorina citri</i>	18
3.3.1 Experimento 1	19
3.3.2 Experimento 2	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 Experimento 1	24
4.2 Experimento 2	30
5. CONCLUSÕES	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. Introdução

1.1 Importância da citricultura no Brasil

O Brasil é responsável por mais de 50% da produção mundial de suco de laranja e também por 85% das exportações mundiais do produto, sendo que o estado de São Paulo e Flórida (Estados Unidos) respondem por 81% da produção de fruta cítrica. A exportação de suco de laranja do Brasil é destinada principalmente para Europa (72%) e Estados Unidos (12%). Em 2010, foram exportadas 1,2 milhões de toneladas de suco de laranja, gerando aproximadamente US\$1,8 bilhões (CITRUS BR, 2011).

Com o crescimento das exportações e desenvolvimento da citricultura, atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de laranjas com 17.549.536 mil toneladas. O estado de São Paulo produziu em 2013, 74,2% da produção nacional, numa área cultivada de 446,043 mil hectares, com uma produção de 13.018.878 toneladas de laranja (IBGE, 2013).

Em 2010, o valor total da produção de citros brasileira foi R\$ 7,1 bilhões incluindo laranjas doces, tangerinas, limas ácidas e limões verdadeiro. Em vista disso, o Brasil ocupa o quinto lugar entre as principais cadeias produtivas do agronegócio brasileiro (SOBRINHO, 2014).

Anualmente a citricultura no Brasil gera um faturamento de US\$ 3 bilhões e 400 mil empregos diretos e 1,2 milhões de empregos indiretos. Mesmo tendo uma alta produção, a produtividade do Brasil é baixa, comparada com outros países produtores de laranja, com 22t/há. Essa baixa produtividade está diretamente relacionada com as pragas e doenças da cultura (BARBOSA, 2007).

Com isso, entende-se que a citricultura é uma atividade de grande importância socioeconômica no Brasil, possibilitando a permanência e fixação do homem no campo, gerando empregos e apresentando ótimo retorno financeiro ao citricultor e para o país (EMBRAPA, 2003).

Considerando o grande número de pragas em *Citrus* (PARRA, 2002) os prejuízos que as mesmas, juntamente com doenças, causam à citricultura podem acarretar abandono de propriedades, com consequentes impactos na geração de renda e êxodo rural, contribuindo para desestabilizar a balança comercial do país (SUGAYAMA et al., 2015). De todas as limitações de ordem fitossanitária, a mais importante recentemente é o *Huanglongbing*,

doença constatada pela primeira vez em São Paulo e trazida para o Brasil de forma clandestina provavelmente por material de propagação vegetativo. Hoje em dia está disseminada por todo estado (DAESP, 2017).

O estado da Bahia é o segundo maior produtor de laranja, correspondendo a 5,5% da produção nacional (IBGE, 2010). Entretanto, as características de produção diferem das do estado de São Paulo, pois a citricultura na Bahia é uma atividade desenvolvida em sua maioria (80%) pela agricultura familiar, com uma área total de produção de laranja de aproximadamente 10 hectares (OLIVEIRA et al., 2013).

1.2 *Huanglongbing* (HLB)

O HLB foi constatado pela primeira vez no Brasil em pomares do estado de São Paulo, no município de Araraquara, ocasionando perdas significativas. É considerada a doença de citros mais importante em diversos países (FERNANDES, 2004), como por exemplo, EUA, China, Índia, México e África do Sul (EMBRAPA, 2017) causando alto impacto socioeconômico na Ásia, onde ocasionou perdas de aproximadamente 50 milhões de árvores de citros infectadas pela doença, sendo a maioria no sudeste asiático (LEONG et al., 2002). Atualmente, não há cura para a doença (GRAFTON-CARDWELL, 2013).

O HLB promove enormes prejuízos em todas as regiões onde ocorre (BOVÉ, 2006., HALBERT & MANJUNATH, 2004). Além de ocorrer no estado de São Paulo, essa doença encontra-se distribuída em algumas cidades do noroeste do Paraná e do triângulo mineiro (CASTRO et al., 2010). O Estado da Bahia é reconhecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como área livre do HLB. Contudo, deve estar em alerta, já que o estado faz fronteira com Minas Gerais. Apesar do triângulo mineiro ter a doença controlada, não tendo sido confirmados novos focos de HLB nem evolução da mesma desde 2013 devido à eliminação das plantas com sintomas de HLB pelos produtores (FERNANDES, 2016), é preciso ter precaução pois o prejuízo causado na Bahia, em caso de introdução do HLB num cenário com ausência de adoção de medidas de controle, seria de aproximadamente R\$ 1,8 bilhões (OLIVEIRA et al., 2013).

1.2.1 Descrição

Huanglongbing (HLB), doença também conhecida como greening, foi descrita pela primeira vez no final do século XIX, na China, (COLETTA-FILHO et al., 2004) em 1919 pelo pesquisador chinês Dr. Kung Hsiang Lin (BOVÉ, 2006). Já no início do século XX, foi encontrada na África do Sul e atualmente é relatada em países da África e da Ásia. No entanto, a ocorrência de bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter* spp., foi relatada em 2004 no estado de São Paulo (COLETTA-FILHO et al., 2004).

HLB é causado por bactérias gram negativas, restritas ao floema das plantas. Pertencem à subdivisão alfa do grupo Proteobacteria e por ainda não serem cultiváveis em meio artificial, são designadas de *Candidatus*, com três espécies conhecidas: *Candidatus* (*Ca.*) *Liberibacter* (*L.*) *africanus*, *Ca. L. asiaticus* e *Ca. L. americanus* (BOVÉ, 2006). É transmitida pelos insetos *Trioza erytrae* (relacionada à forma africana da doença) e *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) relacionada à forma asiática e americana (CAPOOR et al., 1967; MACHADO et al., 2010).

1.2.2 Sintomas do HLB

A bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* ocasionam o desenvolvimento dos sintomas em diferentes partes dos citros, especialmente nas que consomem mais do que produzem seiva elaborada, isso porque ela altera a expressão gênica da planta em diferentes níveis, mas não afeta o processo de fotossíntese, mesmo outros fatores apresentando irregularidades, acreditando-se que os órgãos mais afetados pela doença sejam os frutos e as brotações (ALBRECHT & BOWMAN, 2009).

Os sintomas mais aparentes estão relacionados com a presença de um ou mais ramos com as folhas amareladas diferindo do verde normal dos outros ramos, presença de um mosqueado constante nas folhas, com pequenas áreas verde-claras ou amareladas mescladas com o verde normal das folhas, deficiência de zinco e nitrogênio, se limitando ao ramo afetado, sendo que nesses ramos os frutos se apresentam de tamanho menor e quando cortados ao meio observa-se assimetria em relação à columela central e com maturação desuniforme entre as partes, sendo que um lado pode amadurecer e o outro não; ocorrência de desfolha; queda de frutos

nos ramos afetados (FERNANDES, 2004; GRAFTON-CARDWELL, 2013), abortamento de sementes (necrosadas), albedo (parte esbranquiçada da casca) apresentando espessura maior do que um fruto em boas condições, o suco das frutas doentes apresentam sabor ácido, menos açucarado e amargo (FUNDECITRUS, 2016).

1.3 Identificação taxonômica e classificação de *D. citri*

A superfamília Psylloidea (Hemiptera) é dividida em oito famílias, 235 gêneros e aproximadamente 4000 espécies descritas. Essa classificação foi proposta por Burckhardt e Ouvrad (2012) que os dividiu em Phacopteronidae, Aphalaridae, Carsidaridae, Homotomidae, Liviidae, Calophyidae, Triozidae e Psyllidae e são comumente chamados de psílideos (BURCKHARDT, 1994; SANTANA et al., 2003). A classificação taxonômica de *Diaphorina citri* está estratificada da seguinte forma: (Tabela 01)

TABELA 01: CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE *Diaphorina citri*

K U W A Y A M A

Ordem	Hemiptera
Sub-ordem	Sternorrhyncha Liviidae
Família	Liviidae
Gênero	<i>Diaphorina</i>
Espécie	<i>Diaphorina citri</i>
Nome popular	Psílideo-dos-citros

Fonte: DURAN, 2012.

1.3.1 O inseto vetor, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera, Liviidae)

O psílideo asiático do *citrus*, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), é a praga mais importante de citros em todo o mundo (HALBERT & MANJUNATH, 2004), devido principalmente ao seu papel como vetor de *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *D. citri* também pode transmitir *Candidatus Liberibacter americanus*, que só é conhecido no Brasil (MEAD, 2014), atualmente ocorrendo em baixa incidência (TEXEIRA et al. 2010).

De origem asiática, *D. citri* foi registrado no Brasil em 1942 e em 1998 foi detectado nos Estados Unidos (FERNANDES, 2004). A ocorrência do psilídeo em pomares no estado de São Paulo sempre foi constante durante anos (COSTA LIMA, 1942), entretanto o HLB somente foi descrito 62 anos após a constatação da praga, na década XXI, em 2004. Portanto, aspectos biológicos já estudados anteriormente devem ser revisados, pois é possível que haja um novo *strain* ou linhagem de *Diaphorina citri* com diferentes características das apresentadas desde 1942 (PARRA, 2010). A disseminação de HLB pode ter ocorrido também através da introdução de materiais propagativos de citros ou de outras rutáceas exóticas infectadas com o patógeno como, por exemplo, a presença de *Candidatus Liberibacter americanus* que nunca foi registrada em citros em regiões onde a doença é endêmica (PARRA, 2010).

1.3.2 Descrição e aspectos bioecológicos de *Diaphorina citri*

Inseto adulto de *D. citri* mede aproximadamente entre 2 a 3 mm de comprimento, apresenta coloração marrom escuro quando adulto. Os adultos são alados e apresentam manchas pretas nas asas posteriores. Durante sua alimentação, se apresentam inclinados numa posição de 45° (GALLO, et al. 2002). Quando ninfas são achatados, amarelados e pouco convexos, com pernas curtas, apresentando 1 estágio ninfal e 5 ínstars (AUBERT, 1988). Seu período ninfal dura entre 11 e 15 dias e seu ciclo de vida total está entre 15 e 47 dias variando de acordo com a temperatura e época do ano podendo apresentar até 10 gerações por ano (CHAVAN & SUMMANWAR, 1993; LIU YH, 2000).

As ninfas de *D. citri* no quinto ínstar têm tecas alares que geralmente são largas e localizam-se ao lado do mesa e metatórax, fazendo com que a largura do seu corpo seja maior do que as ninfas nos primeiros ínstars. Ninfas no quarto e quinto ínstar e adultos são bastante ativos, podendo passar de ramo em ramo ou de planta em planta, diferenciando das formas mais jovens que tem seus movimentos mais restritos. Esses insetos são ovíparos, se alimentando geralmente da seiva elaborada de brotos novos e vivendo nas folhas e ramos de citros (GALLO et al. 2002).

Os ovos de *D. citri* apresentam coloração amarela-alaranjado (PARRA et al., 2010) e são colocados em brotos novos de seu hospedeiro (FUNDECITRUS, s/d), preferencialmente em

brotações de 3 a 4 cm de comprimento. São alongados e afilados na extremidade (FUNDECITRUS, 2009).

Em função de novos estudos sistemáticos e de acordo com a nova classificação de Burckhardt & Ouvrard (2012), os psílideos da subfamília Liviinae saíram da família Psyllidae, passando a fazer parte da família Liviidae.

1.3.3 Bioecologia de *Diaphorina citri*

As plantas hospedeiras de *D. citri* são da família Rutaceae, com aproximadamente 21 espécies. No entanto, em algumas espécies não ocorre desenvolvimento completo e, em outras, *D. citri* coloca apenas os ovos (PARRA, 2010). Quando presente, *D. citri* localiza-se nas brotações novas da planta sugando a seiva e depois de repetidas picadas, acabam causando elevado dano fazendo com que as folhas enrolem, os brotos fiquem retorcidos, corroborando na morte da gema apical e conseqüentemente impedindo que a planta cresça GALLO et al. (2002)

Murraya paniculata (L.) Jack, mais conhecida como falsa murta ou murta-de-cheiro, planta utilizada como cerca viva ou como ornamental no Brasil, é também um dos principais hospedeiros desse vetor. A fêmea deposita ovos de cor amarela, em seus hospedeiros, em gemas recém brotadas e as ninfas vão se desenvolvendo à medida que os ramos vão crescendo. Os adultos de *D. citri* podem se alimentar de folhas maduras, mas para o crescimento populacional do vetor é necessária a disponibilidade de novas brotações como fator determinante (PARRA, 2010).

As fêmeas de *D. citri* são muitos férteis e abundantes, podendo se desenvolver rapidamente e colocar até 800 ovos em seu ciclo de vida (MEAD, 2007). Os ovos são colocados em brotações novas, sendo o período de incubação dos ovos de aproximadamente 3 dias (NAVA et al., 2007).

Tanto as fêmeas quanto os machos de *D. citri* surgem sem protandria ou protoginia. A cópula dura em torno de 20 a 100 minutos e acontece exclusivamente em folhas novas e durante a fotofase (WENNINGER & HALL, 2007). Para manter sua máxima capacidade reprodutiva, a fêmea de *D. citri* precisa de vários acasalamentos durante todo o seu ciclo de vida. Um dia após o acasalamento, as fêmeas começam a ovipositar (WENNINGER & HALL, 2008).

Quando presentes em condições adequadas de temperatura e umidade relativa, *D. citri* pode causar danos severos, como deformações de folhas jovens, seca de brotações e presença de fumagina (HALBERT & MANJUNATH, 2004).

Esses sintomas são causados pela injeção de toxinas devido à alimentação das ninfas, alterando assim o crescimento das partes infestadas. A deformação das folhas se dá como resultado da retirada de seiva elaborada de plantas hospedeiras. A fumagina é um fungo que ocorre a partir da excreção de *honeydew* e pode fazer com que as estruturas vegetais atacadas sequem. Os danos estão relacionados ao nível populacional do vetor. Quando em altas densidades, pode ocorrer abscisão de folhas e até mesmo de todo o ramo infectado (HOY & NGUYEN, 2001; PAIVA, 2009).

6.1 Manejo do HLB

Para o HLB, ainda não existe tratamento curativo nem variedade resistente. As plantas novas não conseguem produzir e as adultas se tornam improdutivas num período de 2 a 5 anos quando infectadas (FUNDECITRUS, 2009).

A incidência do HLB ocasionou grandes alterações no manejo de pragas em vigor na citricultura. Novas estratégias de manejo foram propostas nos pomares brasileiros na tentativa de reduzir o impacto da doença com base no tripé constituído pelo plantio de mudas saudáveis, erradicação de plantas com sintomas e o controle de *D. citri* (SNA, 2015).

A Instrução Normativa (IN) nº 53, de 16 de Outubro de 2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, prevê que os citricultores devem inspecionar os seus pomares, identificando plantas com HLB e fazendo essa inspeção a cada três meses. A IN 53 também prevê que os citricultores devem eliminar as plantas sintomáticas ou os talhões inteiros com mais de 28% de plantas sintomáticas numa única inspeção e juntamente com isso enviar relatórios semestrais sobre suas atividades à Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 2015).

É imprescindível que os citricultores realizem inspeções constantes para identificação e eliminação das plantas sintomáticas visando à eliminação das fontes de inóculo para o inseto, caso contrário o órgão responsável por fiscalizar as propriedades de pomares cítricos, pode atuar e multar os mesmos (RUIZ et al., 2010). Em São Paulo, por exemplo, de acordo com

relatório emitido pela Coordenadoria de Defesa Agropecuária, mais de 26 milhões de árvores foram erradicadas entre 2005 e 2013 (FUNDECITRUS, 2013).

Num esforço para manter a produção dos pomares afetados pela doença, os produtores são aconselhados a efetuarem a erradicação de plantas sintomáticas, bem como utilizarem mudas saudáveis e realizarem o controle do inseto vetor com inseticidas (BASSANEZI et al., 2010). Entretanto, a eficiência do controle químico é bastante discutível, requerendo sucessivas pulverizações e elevando o risco potencial de acúmulo de resíduos de agrotóxicos e de desenvolvimento de populações resistentes (TIWARI et al., 2011). Particularmente, para o estado da Bahia, na iminência da entrada do HLB, considerando as características dos produtores locais (pequenas propriedades de cunho familiar e com baixo nível de adoção de tecnologias), não há perspectiva de uso do controle químico pela impossibilidade de emprego do manejo regional da doença (BASSANEZI et al., 2010). Assim, novas estratégias de controle têm sido estudadas atualmente por pesquisadores e empresas relacionadas ao citros.

Dentre as estratégias para manejo de insetos-praga, destaca-se a resistência de plantas a insetos como uma alternativa de baixo custo, não poluente e compatível com outras táticas de manejo (LARA, 1991). Considerando a ampla variabilidade genética encontrada no gênero *Citrus*, denotada pelo grande número de acessos presentes no Banco Ativo de Germoplasma de *Citrus* na Embrapa Mandioca e Fruticultura, a resistência de plantas pode ser considerada uma estratégia promissora para manejo de *D. citri* e, conseqüentemente, do HLB.

Atualmente, genótipos porta-enxerto estão sendo desenvolvidos no sentido de reduzir o porte da planta (LORETI, 2003), permitindo assim o maior adensamento dos plantios como uma estratégia de minimizar o impacto causado pelo HLB (SANTOS, 2013), quando da necessidade de erradicação de plantas. Considerando que a enxertia pode afetar a manifestação da resistência na copa, a utilização de genótipos porta-enxerto resistentes à *D. citri* poderá contribuir para o manejo da praga.

Dessa forma, esse trabalho foi conduzido com o objetivo de caracterizar genótipos porta-enxertos de citros e afins quanto à atratividade ao vetor, visando posterior aplicação em programas de melhoramento da cultura. Embora não haja cura para o HLB, genótipos com baixa atratividade para o psilídeo podem exercer efeito significativo na redução do potencial de transmissão da doença.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Identificar genótipos porta-enxerto de citros e afins promissores quanto à resistência à *Diaphorina citri*.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a atratividade de genótipos porta-enxerto de citros e afins para *D. citri*.
- Identificar preferência de genótipos porta-enxerto de citros e afins para oviposição de *D. citri*.

3. Materiais e Métodos

3.1 Coleta e manutenção de adultos de *Diaphorina citri*

Insetos adultos de *D. citri* foram coletados no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura em brotações de *Murraya paniculata* (L.) Jack (RUTACEAE), popularmente conhecida como falsa murta, por meio de um aspirador entomológico manual. Em seguida, os adultos foram transferidos para gaiolas (dimensões de 47 x 47 x 47 cm) com laterais de tela anti-afídica e sistema de abertura/fechamento frontal para manipulação (entrada/saída) dos insetos, limpeza da área e cuidados com as plantas. Cada gaiola continha de duas à quatro mudas de *M. paniculata* como substrato de alimentação e oviposição dos insetos. As gaiolas foram mantidas sob condições de laboratório (temperatura: $27,2 \pm 1^\circ\text{C}$, UR.: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 14h).

3.2 Obtenção de mudas de genótipos e afins

Os genótipos avaliados (Tabela 02) foram oriundos do Banco Ativo de Germoplasma de *Citrus* na Embrapa Mandioca e Fruticultura. As mudas foram obtidas a partir de sementes coletadas de frutos dos diferentes genótipos.

TABELA 02: GENÓTIPOS HÍBRIDOS DE PORTA-ENXERTOS DE CITROS E SUA RESPECTIVA IDENTIFICAÇÃO.

Identificação	Genótipo	Nome
1	Citrandarin 'Riverside'	Citrandarin 'Riverside'
2	TSKC x (LCR x TR) - 017	Tangerineira Sunki Comum x (Limão Cravo x trifoliata) - 017
3	TRBK	(Trifoliata 'Benecke')
4	LVK x LCR - 038	Limão Volkameriano x Limão Cravo - 038
5	TSKC x (LCR x TR) - 040	Tangerineira Sunki Comum x (Limão Cravo x Trifoliata) - 040
6	TSKC x (LCR x TR) - 073	Tangerineira Sunki Comum x (Limão Cravo x Trifoliata) - 073
7	Citrandarin 'Índio'	Citrandarin 'Índio'
8	HTR-208	Híbrido trifoliata - 208
9	Tangerineira 'Cleópatra'	Tangerineira 'Cleópatra'
10	LRM	(Limoeiro 'Rugoso Mazoe')
11	LCR x TR - 001	Limão cravo x trifoliata - 001
12	TSK x TRBK - CO	Tangerineira Sunki x Trifoliata 'Benecke' - Colômbia
13	TSKC x (LCR x TR) - 059	Tangerineira Sunki Comum x (Limão Cravo x trifoliata) - 059
14	Citrandarin 'San Diego'	Citrandarin 'San Diego'
15	TSKC x CTSW - 041	Tangerineira Sunki Comum x citrumelo Swingle - 041
16	Tangerineira 'Sunki Tropical'	Tangerineira 'Sunki Tropical'
17	LAJC	Laranjeira 'Azeda Jacarandá'
18	HTR-069	Híbrido Trifoliata - 069
19	HTR-051	Híbrido Trifoliata - 051
20	TSKC x CTCM - 008	Tangerineira Sunki Comum x <i>Citranges</i> 'Coleman' - 008
21	TSKC x CTSW - 028	Tangerineira Sunki Comum x citrumelo Swingle - 028
22	LCRSTC	Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'
23	HTR-051	Híbrido Trifoliata - 051
24	LRF x (LCR x TR) - 005	Limoeiro Rugoso Flórida x (Limão Cravo x Trifoliata) - 005

* (Tangerineira Sunki Comum [*Citrus sunki* (Hayata) hort. Ex Tanaka], Limão cravo (*C. limonia* O sbeck), Trifoliata [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], Limão Volkameriano (*C. volkameriana* V. Ten & Pasq.), Limoeiro Rugoso 'Mazoe' (*C. jambhiri* Lush.), Citrange 'Coleman' [*C. sinensis* (L.) O sbeck x *P. trifoliata*], Laranja 'Azeda Jacarandá' (*C. aurantium* L.), Citrumelo 'Swingle' [*C. paradisi* Macfad. x *P. trifoliata*], 'Santa Cruz' (*C. limonia*), 'Flórida' (*C. jambhiri*), 'Cleopatra' (*C. reshni* hort. ex Tanaka), 'Sunki Tropical' (*C. sunki*), 'Riverside', 'Índio' e 'San Diego' *C. sunki* x *P. trifoliata*).

A semeadura foi realizada em 04/09/2014 e após 220 dias do plantio e 30 dias do transplante, as mudas foram utilizadas. Para início do experimento, assegurou-se que todas as mudas continham brotações e que estavam livres da infestação por outras pragas.

As mudas foram identificadas amarrando-se uma etiqueta de alumínio em seu caule (Figura 01). Foram mantidas em telado antiáfídico, recebendo os tratamentos culturais preconizados para a cultura. Quando necessário, o controle de pragas (pulgões e ácaros) foi realizado mediante pulverização de solução de detergente neutro a 10%.



Figura 01. Detalhe de muda de citros com identificação do genótipo Híbrido Trifoliata - 208 por meio de etiqueta de alumínio.

3.3 Infestação das mudas de genótipos de citros e afins por *D. citri*

Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro feito em setembro e outubro de 2015 em casa de vegetação, com T média $30 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR máxima $97 \pm 10\%$ e UR mínima $34 \pm 10\%$, utilizando os 24 genótipos descritos na Tabela 01, com seis repetições e 720 insetos (20 por frasco). As variáveis avaliadas foram número de ovos, número de ninfas, número de insetos adultos/planta, número de folhas/genótipo e altura da planta. O segundo experimento foi feito em Junho de 2016, também em casa de vegetação, com T média $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR máxima $97 \pm 10\%$ e UR mínima $63 \pm 10\%$, utilizando 24 genótipos, com seis repetições e inicialmente 2016 insetos com a reintrodução durante o experimento de 1000 insetos e depois 300. A variável avaliada foi número de insetos adultos/planta.

Os dois experimentos foram feitos a fim de avaliar as variáveis analisadas e identificar os genótipos menos preferidos e mais preferidos por *Diaphorina citri* para abrigo, alimentação e oviposição em diferentes épocas do ano e com uma densidade diferente de número de adultos/planta.

3.3.1 Experimento 1

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial, avaliando-se 24 genótipos e 13 avaliações para número de insetos, com seis repetições.

Para a variável número de ovos, como os valores foram muito baixos, optou-se por avaliar essa variável por meio de uma escala de notas (Tabela 03), adaptada de Westbrook et al. (2011). A avaliação foi feita sete dias após a infestação.

TABELA 03: ESCALA DE NOTAS PARA AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE OVOS DE *Diaphorina citri* EM GENÓTIPOS DE CITROS

Nota	Classificação quanto à infestação
0	Sem ovos
$> 0 \leq 1$	Baixa infestação (menor que 10 ovos)
$> 1 \leq 2$	Média infestação (entre 11 e 20 ovos)
> 2	Alta infestação (maior que 21 ovos)

Fonte: RIBEIRO, L. Adaptada de WESTBROOK et al. (2011).

Para número de ninfas, foram feitas duas avaliações, sendo a primeira 13 dias após a infestação e a segunda 15 dias após a infestação.

No início da infestação, foi mensurada a altura e número de folhas de todas as mudas. Realizou-se o sorteio da posição das mudas dos diferentes genótipos avaliados. As mudas foram posicionadas de forma a manter uma distância das plantas vizinhas, evitando-se o contato entre elas (cerca de 13 cm de distância uma das outras) e arranjadas em bancadas localizadas em casa de vegetação do Laboratório de Entomologia sob condições ambiente (temperatura máx. 35,7°, temperatura mín. 20,7°C e U.R. 37,6 ± 10%) (Figura 02). O experimento foi realizado no período de setembro à outubro de 2015.



Figura 02. Vista parcial do experimento para realização do *screening* de genótipos de citros e afins à *Diaphorina citri*.

Para infestação, foram distribuídos, na casa de vegetação, 36 frascos de vidro contendo 20 adultos de *D. citri*/frasco, sem distinção de sexo e idade conhecida, coletados em campo e mantidos em gaiolas de manutenção. Para melhor distribuição dos insetos, os frascos foram colocados sobre vasos de 14 cm de altura (Figura 03). Foram usados 36 frascos, totalizando 720 insetos liberados em casa de vegetação. As variáveis avaliadas foram: número de insetos adultos/planta, número de ovos, número de ninfas, número de folhas e a altura das plantas.

O início das avaliações foi feito 1 hora após a infestação, repetindo-se as avaliações nos seguintes 7 dias, sendo que no primeiro dia foram 6 avaliações, no segundo dia 4 avaliações, no terceiro dia 1 avaliação, no quarto dia 2 avaliações (1 pela manhã e uma pela tarde) e no sétimo dia finalizando com 1 avaliação.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5%. As variáveis número de adultos/planta e número de ninfas foram transformadas para raiz quadrada ($x+0,5$).



Figura 03. Vista parcial do experimento mostrando a distribuição dos potes de vidro para liberação de insetos.

3.3.2 Experimento 2

Foram coletados 3400 insetos adultos de *D. citri* no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura em brotações de falsa murta (*M. paniculata*) por meio de um aspirador manual. A infestação de adultos no campo experimental estava alta com uma densidade populacional mais do que suficiente para a coleta, facilitando assim a obtenção dos mesmos. Em seguida, os insetos foram colocados numa gaiola de vidro com tela lateral anti-afídica e duas portas frontais para manutenção das mudas e dos insetos. Foram colocadas seis mudas de falsa murta para alimentação dos adultos (Figura 04).

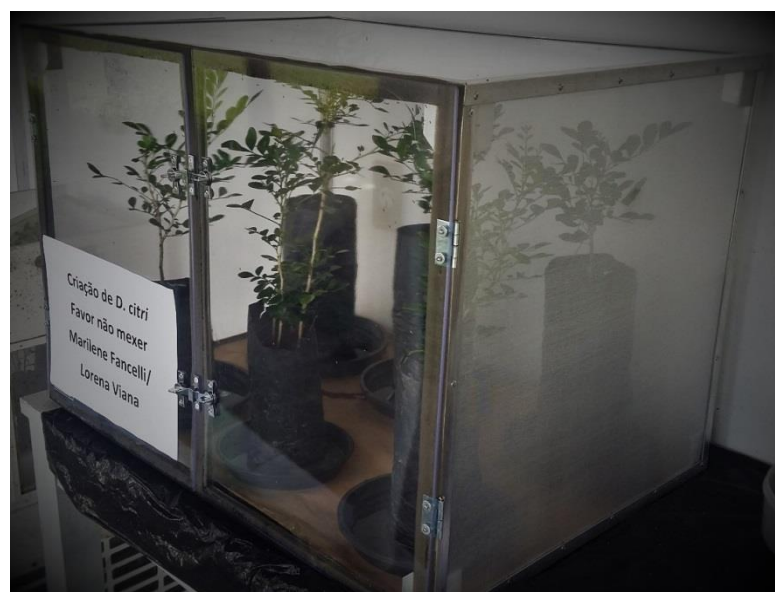


Figura 04. Gaiola utilizada para manutenção de *Diaphorina citri*.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial, avaliando-se 24 genótipos e 16 avaliações para número de insetos, com seis repetições. Primeiramente foi feito o sorteio da posição das mudas dos diferentes genótipos avaliados. As mudas foram dispostas afim de manter entre si uma distância de aproximadamente 13 cm uma da outra para evitar o contato entre as copas (Figura 05).



Figura 05. Frasco de vidro utilizado para distribuição dos insetos adultos de *Diaphorina citri*.

Genótipos entre 10 e 15 cm de altura foram colocados sobre suportes com altura de aproximadamente 13 cm para manter a homogeneidade de altura entre todas as plantas dos diferentes genótipos (Figura 06).



Figura 06. Planta de Tangerineira Sunki x Trifoliata 'Benecke' - Colômbia com 14 cm de altura disposta sobre suporte para homogeneização das alturas das copas entre todos os genótipos do telado.

Foram utilizados *a priori* 2016 insetos, sem distinção de sexo e sem idade conhecida, sendo distribuídos em 36 frascos, com 56 insetos/frasco. As variáveis utilizadas foram número de insetos adultos/planta e sua localização (folha face abaxial, folha face adaxial, folíolo apical e caule) na mesma.

O início das avaliações também foi feito 1 hora após a infestação, repetindo-se as avaliações durante 20 dias sendo que no primeiro dia, foram seis avaliações, no segundo dia, duas avaliações (01 pela manhã às 08 horas e outra pela tarde às 16 horas), no terceiro dia, duas avaliações com a reintrodução de 1000 insetos pela manhã, no quarto dia, uma avaliação, no quinto dia, uma avaliação com reintrodução de 300 insetos, no sexto dia uma avaliação, no sétimo dia uma avaliação, no décimo terceiro dia uma avaliação e por fim no vigésimo dia uma avaliação às 16 horas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5%. A variável número de adultos/planta foi transformada para raiz quadrada ($x+0,5$).

4. Resultados e Discussão

4.1 Experimento 1

A dispersão de adultos para as plantas iniciou logo após sua liberação (Figuras 7, 8, 9 e 10).

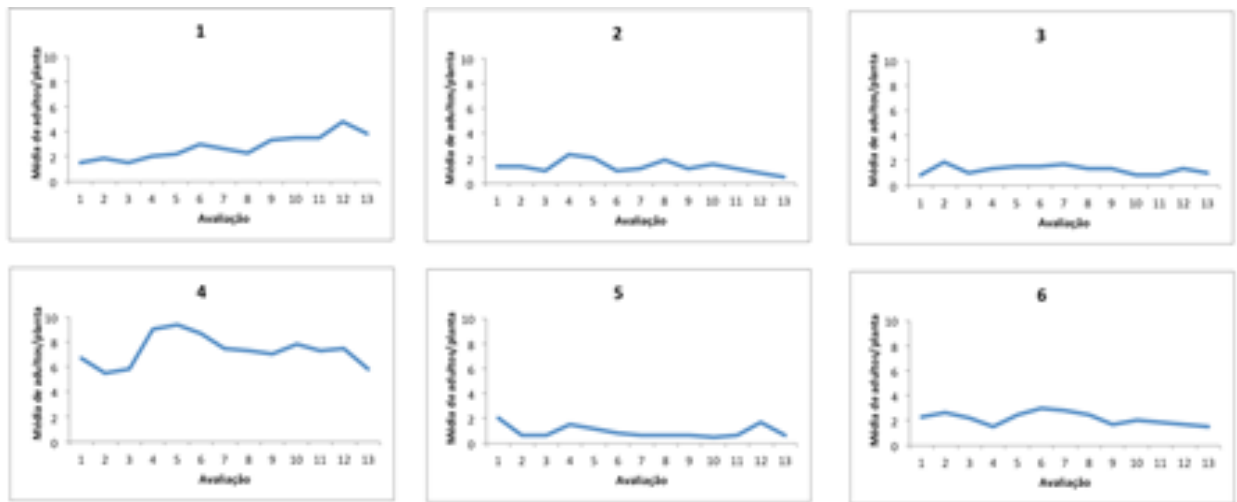


Figura 7. Número médio de adultos de *Diaphorina citri* por planta de genótipos de citros e afins ao longo das 13 avaliações. 1: Citrandarin 'Riverside', 2: TSKC x (TR x LCR) - 017, 3: TRBK (Trifoliata 'Benecke'), 4: LVK x LCR - 038, 5: TSKC x (TR x LCR) - 040, 6: TSKC x (LCR x TR) - 073.

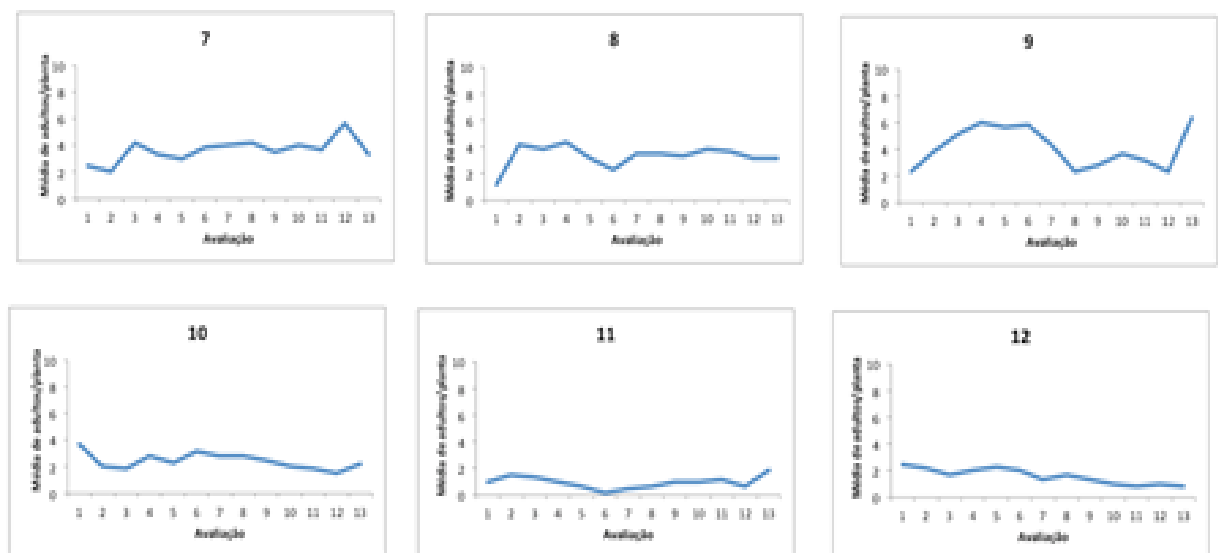


Figura 8. Número médio de adultos de *Diaphorina citri* por planta de genótipos de citros e afins ao longo das 13 avaliações. 7: Citrandarin ('Índio'), 8: HTR-208, 9: 'Tangerineira 'Cleópatra'', 10: LRM (limoeiro 'Rugoso Mazoe'), 11: LCR x TR - 001, 12: TSK x TRBK.

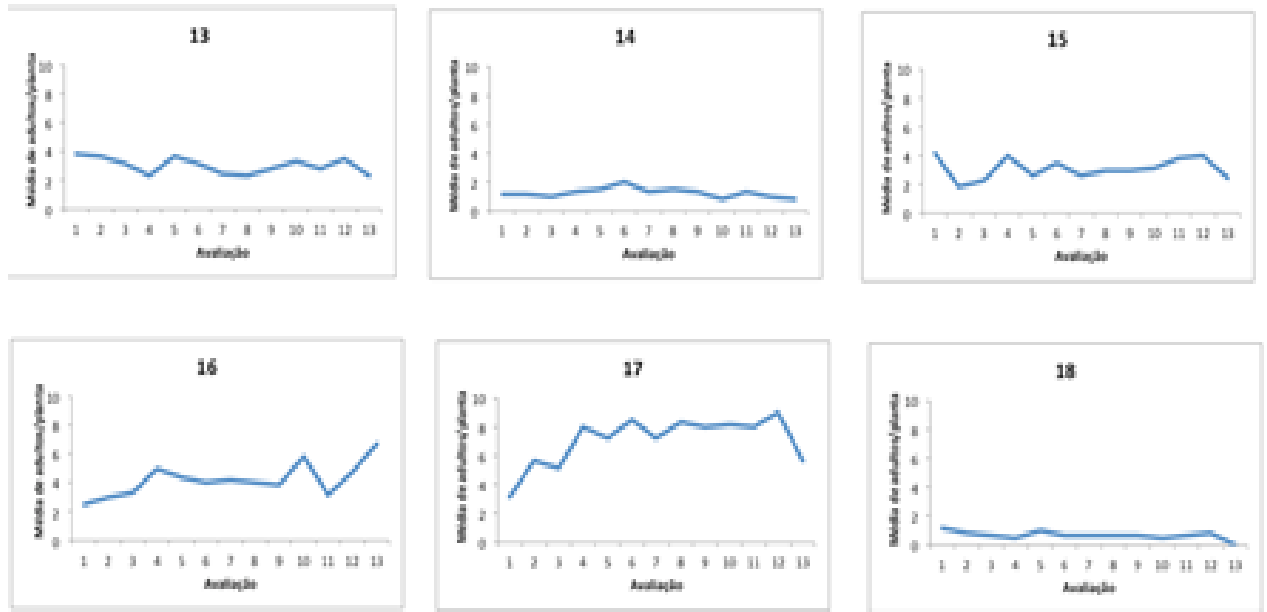


Figura 9. Número médio de adultos de *Diaphorina citri* por planta de genótipos de citros e afins ao longo das 13 avaliações. 13:TSKC x (LCR x TR) - 059, 14:Citrandarin 'San Diego', 15: TSKC x CTSW - 041, 16:Tangerineira 'Sunki Tropical', 17:LAJC (laranjeira 'Azeda Jacarandá'), 18:HTR - 069.

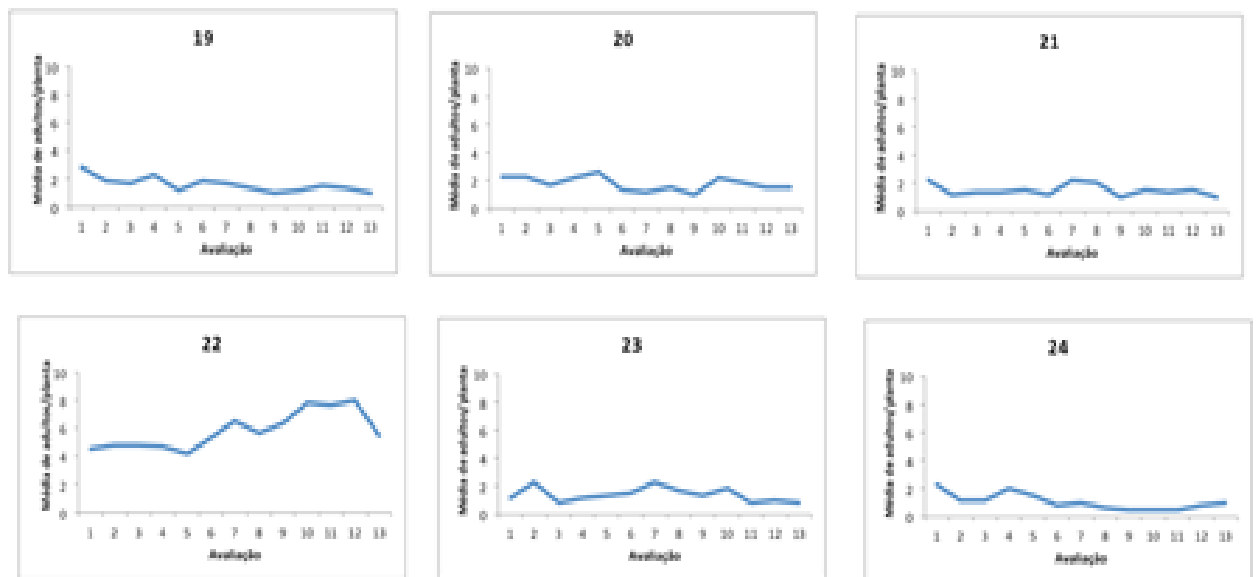


Figura 10. Número médio de adultos de *Diaphorina citri* por planta de genótipos de citros e afins ao longo das 13 avaliações. 19:HTR - 051, 20:TSKC x CTCM - 008, 21:TSKC x CTSW - 028, 22:LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz'), 23:051 e 24: LRF x (LCR x TR) - 005.

Considerando a variação de resultados ao longo das avaliações, observou-se que na maioria dos casos, houve uma baixa infestação de adultos/planta nas primeiras horas, o que indica uma dinâmica maior na escolha, exceto para os genótipos LVK x LCR - 038, TSKC x (LCR x

TR) - 059, TSKC x CTCM - 008 e LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz') onde o número de insetos uma hora após a infestação foi ≥ 4 o que indica atratividade.

Com relação ao número médio de adultos, não foi verificada interação significativa entre os fatores genótipo e avaliação. Para os fatores simples, houve diferenças significativas para essa variável apenas quanto aos genótipos ($F = 25,37$; $p < 0,01$) Observou-se a existência de cinco agrupamentos de genótipos quanto à média de adultos/planta (Figura 11).

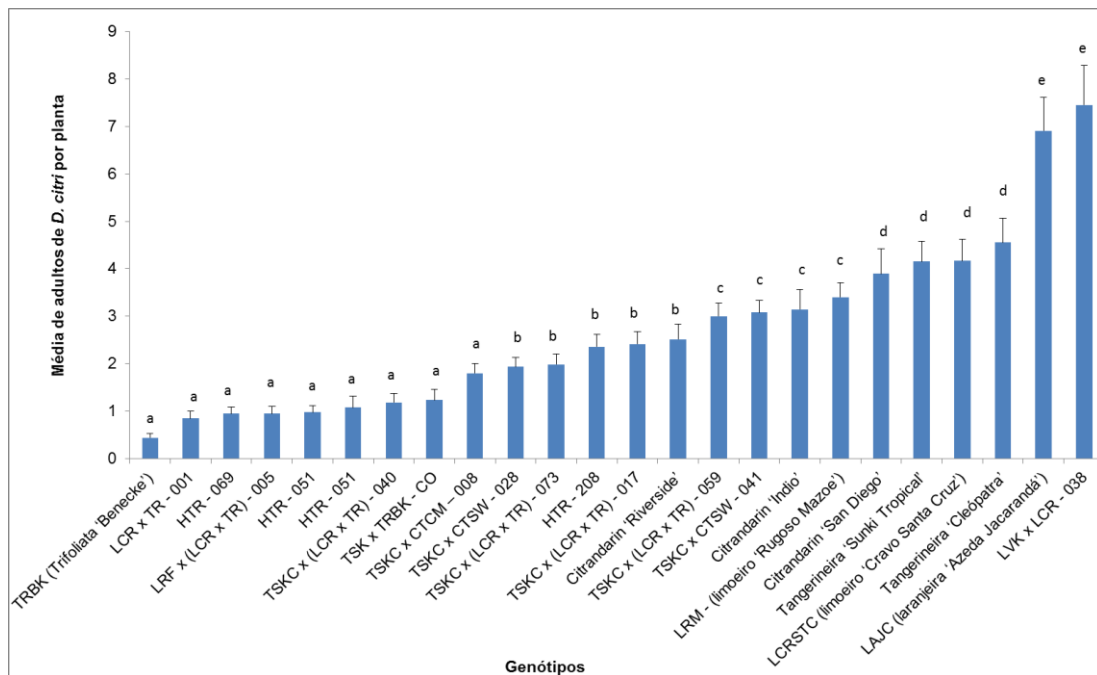


Figura 11: Média de adultos de *D. citri*/planta em diferentes genótipos de citros e afins. Barras com letras similares pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott-Knott (5%).

Os genótipos TRBK (Trifoliata 'Benecke'), LCR x TR - 001, HTR-069, LRF x (LCR x TR) - 005, HTR-051, TSKC x (TR x LCR) - 040, TSK x TRBK - CO, TSKC x CTCM - 008 foram considerados altamente repelentes pois o número de insetos por planta foi baixo equivalendo a um valor inferior a 2. Esse resultado é importante para o estudo de transmissão de doenças já que o potencial de inoculação é minimizado em razão de uma taxa menor e mínima de visitação dos genótipos em campo. Psílideos têm uma tendência em evitar cultivares que são colonizadores de *Poncirus trifoliata* fazendo com que resulte em exposições de plantas a menos inóculo (RICHARD & HALL, 2013). *Poncirus trifoliata* apresentou médias muito baixas para infestação de psílidos e colonização (WESTBROOK et al. 2011).

Os genótipos TSKC x CTSW - 028, TSKC x (LCR x TR) - 073, HTR - 208, TSKC x (LCR x TR) - 017 e Citrandarin 'Riverside' foram considerados moderadamente repelentes já que

apresentaram comportamento intermediário com baixa infestação entre 2 e 3 insetos adultos/planta.

Os genótipos TSKC x (LCR x TR) - 059, TSKC x CTSW - 041, Citrandarin 'Índio' e LRM - (limoeiro 'Rugoso Mazoe') foram considerados com baixa repelência pois apresentaram comportamento intermediário com infestação um pouco mais alta, maior que 3 e menor ou igual a 3,4 insetos adultos/planta.

Com moderada atratividade, os genótipos Citrandarin 'San Diego', Tangerineira 'Sunki Tropical', LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz') e Tangerineira 'Cleópatra' agruparam-se com médias em torno de 3,9 a 4,5 adultos.

A cultivar Cleópatra (*C. reshni* Hort. Ex Tanaka) é citada como não adequada ao desenvolvimento, sobrevivência e reprodução do inseto (Tsagkarakis & Rogers, 2010). Westbrook et al. (2011) observaram baixa taxa de colonização do inseto em seedlings de *Poncirus trifoliata* (L.) Rafinesque sob condições de campo. *P. trifoliata* juntamente com *Citrus limettoides* Tanaka, são citadas como extremamente tolerantes ao HLB em condições de casa-de-vegetação (DAWSON et al., s/d).

Já os genótipos LAJC (Laranjeira 'Azeda Jacarandá') e LVK x LCR- 038 apresentaram valores considerados altos (≥ 6 insetos/planta) o que indica preferência de *D. citri* para alimentação/abrigo quando comparado com os demais genótipos.

Para a variável número de ovos, expressa conforme escala de notas (Tabela 02), em geral, foram obtidas médias baixas (Tabela 03). Nove genótipos não apresentaram ovos (Citrandarin 'Riverside, TRBK (Trifoliata 'Benecke'), TSKC x (TR x LCR) - 040, HTR-208, LCR x TR - 001, HTR-069, HTR - 051, TSKC x CTCM - 008 e LRF x (LCR x TR) - 005, sendo considerados altamente deterrentes para oviposição. Em doze genótipos (TSKC x (LCR x TR) - 059, TSKC x CTCM - 008, Citrandarin 'San Diego', TSKC x (TR x LCR) - 017, TSKC x (LCR x TR) - 073, HTR-051, LRM (Limoeiro 'Rugoso Mazoe'), Citrandarin 'Índio', Tangerineira 'Cleópatra', TSKC x CTSW - 028, TSK x TRBK - CO e LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz'), a classe de infestação por ovos foi abaixo de 1. A classe de infestação foi igual a 1 em apenas um genótipo (LAJC (laranjeira 'Azeda Jacarandá')). Em dois genótipos (LVK x LCR- 038 e Tangerineira 'Sunki Tropical'), a classe de infestação foi superior a 1, ou seja média infestação. Os genótipos LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz'), Tangerineira 'Sunki Tropical', LAJC (Laranjeira 'Azeda Jacarandá') e LVK x LCR- 038 apresentaram média infestação, sendo os últimos os mais atrativos para adultos, conforme previamente apresentado.

TABELA 03: REPRESENTAÇÃO DAS MÉDIAS CONFORME ESCALA DEFINIDA PARA NÚMERO DE OVOS ENCONTRADOS EM GENÓTIPOS DE CITROSE AFINS

Genótipo	Média	Genótipo	Média
Citrandarin 'Riverside'	0 a	TSKC x (LCR x TR) - 059	0 a
TRBK (Trifoliata 'Benecke')	0 a	Citrandarin 'San Diego'	0 a
TSKC x (LCR x TR) - 040	0 a	TSKC x CTSW - 041	0 a
HTR - 208	0 a	HTR - 051	0 a
LCR x TR - 001	0 a	Citrandarin 'Indio'	0 a
HTR - 069	0 a	Tangerineira 'Cleópatra'	0 a
HTR - 051	0 a	TSKC x CTSW - 028	0 a
TSKC x CTCM - 008	0 a	TSK x TRBK - CO	0 a
LRF x (LCR x TR) - 005	0 a	LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz')	1 b
TSKC x (LCR x TR) - 017	0 a	LAJC (laranjeira 'Azeda Jacarandá')	1 b
TSKC x (LCR x TR) - 073	0 a	LVK x LCR - 038	1 b
LRM - (limoeiro 'Rugoso Mazoe')	0 a	Tangerineira 'Sunki Tropical'	1 b

Quanto ao número médio de ninfas, não houve diferença significativa para a interação entre genótipo e avaliação, sendo também não significativo o efeito da avaliação. Entretanto, para genótipo, detectou-se diferença significativa para essa variável ($F=3,38$; $p<0,01$). Houve uma variação de 0 a 13 ninfas/planta, sendo formados três agrupamentos. O agrupamento com os maiores valores foi constituído pelos genótipos Tangerineira 'Sunki Tropical' e LCRSTC (Limoeiro 'Cravo Santa Cruz') (Figura 12). Com médias em torno de 6 ninfas por planta, os genótipos LAJC (Laranjeira 'Azeda Jacarandá'), TSKC x (LCR x TR) - 017 e HTR-051 ficaram no grupo com infestação intermediária. Os genótipos HTR - 208, TSKC x (LCR x TR) - 073, TSK x TRBK - CO, LRM - (limoeiro 'Rugoso Mazoe'), TSKC x CTSW - 028, Tangerineira 'Cleópatra', LVK x LCR- 038 e Citrandarin 'San Diego' apresentaram baixa infestação de ninfas, porém sem diferir dos demais, nos quais não foram encontradas ninfas. Dois dos genótipos com maiores números de ninfas (LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz') e Tangerineira 'Sunki Tropical') também apresentaram maior número de ovos. O genótipo LVK x LCR- 038, que se destacou em relação ao número de adultos e de ovos, apresentou baixa infestação por ninfas, o que pode ser atribuído à possível interferência no desenvolvimento do inseto.

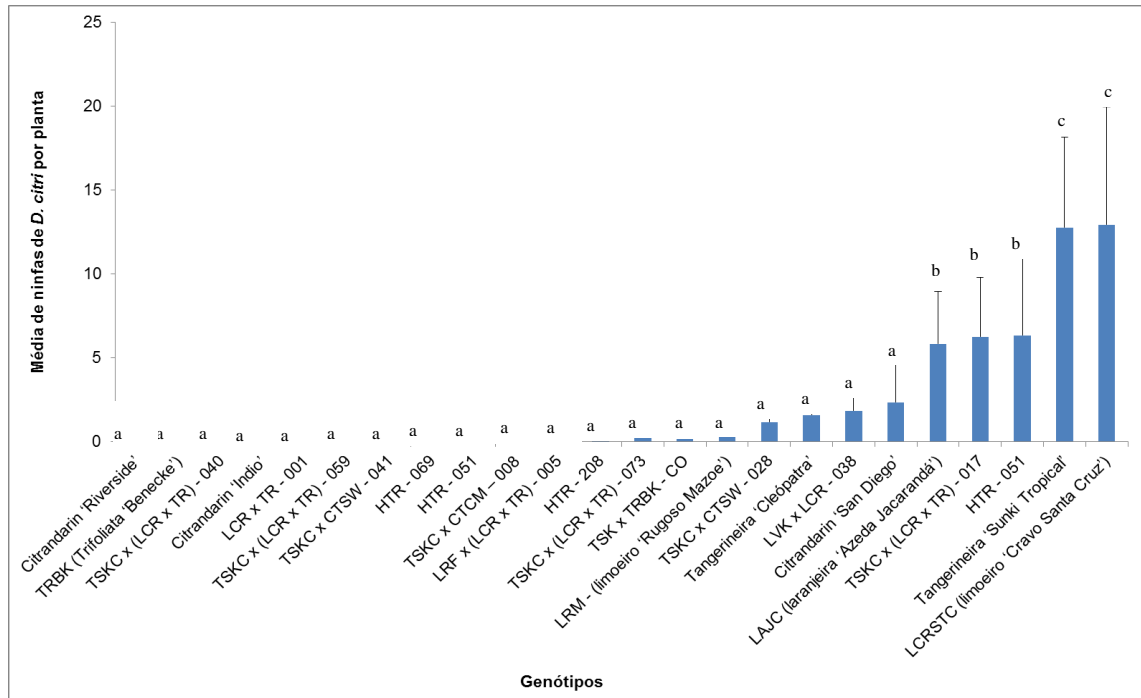


Figura 12: Médias (\pm epm) de número de ninfas/planta de *D. citri* em diferentes genótipos de citros. Barras com letras similares pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott-Knott (5%).

O número de folhas e a altura das plantas foram afetados pelos genótipos ($F = 3,71$; $p < 0,01$ e $F = 1,70$; $p < 0,05$). Para número de folhas, ficaram agrupados os genótipos Tangerineira 'Cleópatra', TSKC x CTCM - 008, LCRSTC (Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'), Citrandarin 'Riverside' e Tangerineira 'Sunki Tropical' como os que apresentaram os maiores valores para essa variável. Os demais genótipos formaram o segundo agrupamento. Quanto à altura das plantas, também foram formados dois agrupamentos, sendo as plantas mais altas representadas pelos genótipos Tangerineira 'Sunki Tropical', Citrandarin 'San Diego', TSKC x (TR x LCR) - 017, Citrandarin 'Riverside' e HTR-208. Aparentemente, o número de folhas pode ser utilizado para discriminar a preferência do inseto para abrigo, entretanto não explica a preferência para oviposição. Outros fatores de ordem morfológica ou química podem estar envolvidos nesse processo, os quais poderão ser avaliados em estudos futuros sobre não preferência para oviposição.

4.2 Experimento 2

Com relação ao número médio de adultos, não foi verificada interação significativa entre os fatores genótipo e avaliação. Para os fatores simples, houve diferenças significativas para essa

variável quanto aos genótipos ($F = 18,17$; $p < 0,01$) e avaliações ($F = 4,75$; $p < 0,01$). Observou-se a existência de cinco agrupamentos de genótipos quanto à média de adultos/planta (Figura 8). Os genótipos menos infestados foram LRF x (LCR x TR) - 005, HTR-051, Citrandarin Índio, TSKC x CTSW - 028, Citrandarin 'Riverside', TSKC x CTCM - 008, Citrandarin 'San Diego', LCR x TR - 001, TSKC x (LCR x TR) - 059, TSK x TRBK - CO e TRBK (Trifoliata Benecke), com menos de 2 insetos/planta (Figura 13).

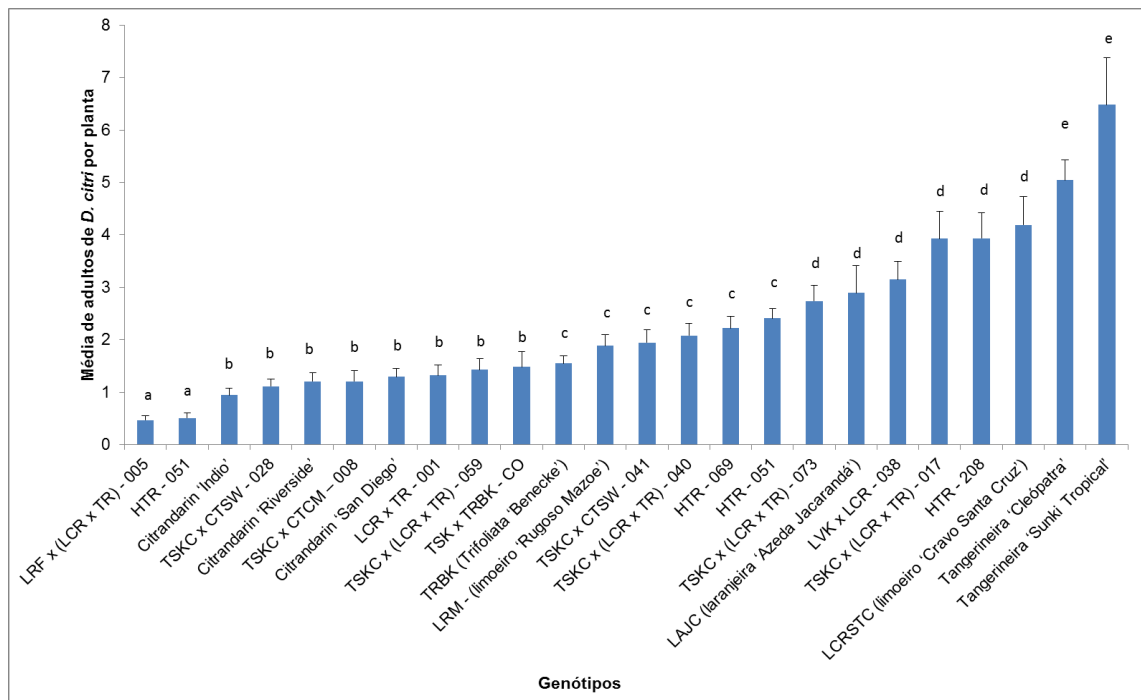


Figura 13: Média de adultos de *D. citri*/planta em diferentes genótipos de citros e afins. Barras com letras similares pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott-Knott (5%).

Os genótipos Tangerineira 'Sunki Tropical' e Tangerineira 'Cleópatra' foram os mais atrativos para os adultos (Figura 10). TSKC x (LCR x TR) - 073, LAJC (laranjeira 'Azeda Jacarandá'), LVK x LCR - 038, TSKC x (LCR x TR) - 017, HTR - 208 e LCRSTC (limoeiro 'Cravo Santa Cruz') foram pouco atrativos, com média em torno de 3 a 4 adultos por planta. O agrupamento formado pelos genótipos LRF x (LCR x TR) - 005 e HTR - 051 foi o que apresentou menor número de adultos. Os demais genótipos apresentaram comportamento intermediário em relação à preferência do inseto.

Comparando-se os resultados do primeiro com o segundo experimento, observaram-se algumas discrepâncias em relação à preferência do inseto, ou seja, TRBK (Trifoliata Benecke), TSKC x (LCR x TR) - 040, HTR - 069 e HTR - 051, genótipos que foram repelentes no primeiro experimento, contudo, no segundo experimento, apresentaram

comportamento intermediário quanto à atratividade para adultos. Adicionalmente, os genótipos TSKC x (LCR x TR) - 073, TSKC x (LCR x TR) - 017 e HTR - 208, que foram moderadamente repelentes no primeiro experimento, foram atrativos no segundo experimento. Citrandarin 'San Diego', o qual foi atrativo no primeiro experimento, foi moderadamente repelente no segundo experimento.

As diferenças verificadas na preferência dos insetos entre o primeiro e o segundo experimento podem ser devido à idade das plantas, refletindo-se em atividade fisiológica diferenciada, assim como variações nas condições de temperatura e umidade relativa apresentar dados (LARA, 1991). As plantas podem desenvolver imunidade inata por causa de defesas estruturais, químicas ou proteicas (DOUGHARI, 2015).

O segundo experimento foi realizado em época de temperatura mais amena, o que impossibilitou a avaliação do número de ovos e ninfas.

Com relação à localização do inseto na planta, observou-se maior infestação na face abaxial, independente do genótipo. A partir da décima primeira avaliação, houve um maior número de insetos/planta devido à reintrodução de insetos. Houve dois agrupamentos para o fator avaliação, sendo um deles formado pelas avaliações de números 11, 12, 13 e 14, com as maiores médias para número de adultos por planta, corroborando a informação anterior (Figura 14).

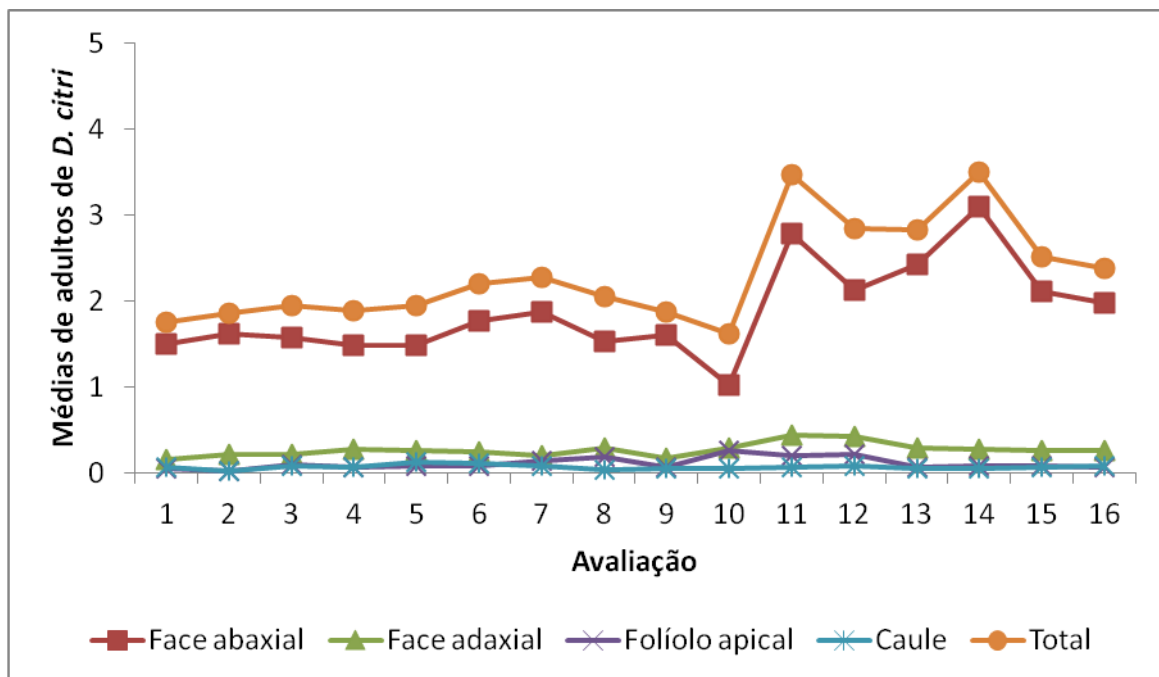


Figura 14: Médias de adultos de *D. citri*/planta nas diferentes avaliações.

Esses resultados mostram a importância do presente trabalho, pois a utilização de porta-enxerto para controle do vetor é muito promissora. Albrecht & Bowman (2012) avaliaram o efeito de porta-enxertos sobre o desenvolvimento da doença em condições de campo, observando que, embora todas as plantas fossem afetadas pelo HLB, a tolerância à doença foi mais alta em plantas enxertadas sobre algumas seleções de porta-enxerto. O germoplasma de resistência identificado no trabalho de RAO et al (2013) constitui uma base para estudos adicionais sobre a base morfológica e bioquímica de resistência para compreender o mecanismo de resistência da planta hospedeira à praga.

Em um breve futuro, o desenvolvimento e estudo de cultivares de citros e afins resistentes será a forma mais eficaz de controlar o HLB. Por isso a importância da identificação de tolerância e resistência de HLB no grupo de citros e plantas relacionadas (RAMADUGU et al., 2016).

As plantas caracterizadas como repelentes e altamente repelentes serão úteis no futuro para compreender o modo de resistência e caracterização de genes associados à resistência. Podendo ser utilizada para gerar cultivares comerciais resistentes por reprodução convencional ou por abordagens transgênicas (WESTBROCK, 2011).

De acordo com Grafton-Cardwell et al. (2013), o foco recente em pesquisas na área de resistência de plantas a insetos tem se voltado para a identificação de genótipos de citros e espécies afins que dificultem a colonização e posterior desenvolvimento do inseto. Por isso os resultados de não-preferência/antixenose são tão importantes no presente trabalho. A próxima etapa é fundamental para o Programa de Melhoramento de Citros objetivando a identificação dos mecanismos de resistência à *D. citri*.

5. Conclusões

Os genótipos LCR x TR - 001, LRF x (LCR x TR) - 005, HTR - 051, TSK x TRBK - CO e TSKC x CTCM - 008 são menos preferidos para abrigo/alimentação de adultos de *Diaphorina citri*, podendo ser considerados repelentes para o inseto, e, portanto, com potencial para estudos de interferência na transmissão da bactéria.

O genótipo LVK x LCR - 038 pode ser caracterizado como interferente no desenvolvimento do inseto.

Referências bibliográficas

- ALBRECHT U., BOWMAN K.D. *Candidatus* Liberibacter asiaticus and Huanglongbing effects on citrus seeds and seedlings. **HortScience**, v. 44, p. 1967-1973, 2009.
- ALBRECHT, U.; BOWMAN, K.D. Tolerance of trifoliolate citrus rootstock hybrids to *Candidatus* Liberibacter asiaticus. **Scientia Horticulturae**, v. 147, p. 71-80, 2012.
- AUBERT, B., **Towards an integrated management of citrus greening disease**. In: TIMMER, L.W., GARNSEY, S.M.; NAVARRO, L. (Eds). CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 10., 1988, Riverside. **Proceedings...** Riverside: University of California, 1988. p. 226-230.
- BARBOSA, J. C., **Sistema inteligente de apoio à diagnose de doenças, pragas e fatores abióticos dos citros**. 46f. Tese (Graduação)- Departamento de Ciência da Computação, Universidade Federal de Lavras, 2007.
- BASSANEZZI, R. B. et al. Epidemiologia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis. v. 31, n. 1, p. 11-23, 2010.
- BOVÉ, J. M. História, Etiologia, Identificação no Campo, Transmissão e Distribuição Mundial do Huanglongbing: uma Destrutiva, Recém -Emergida, Doença Secular de Citros. In: HUNGLONGBING - GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, 1, 2006, Ribeirão Preto. **Resumos...** [S1] France: Journal of Plant Pathology 88, 2006. p. 07-37.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, p. 7-37, 2006.
- BRASIL. *Instrução Normativa (IN) n. 53 de 16 de Outubro de 2008. Aprova os critérios e procedimentos para a realização, por parte dos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal OEDSVs das Instâncias Intermediárias integrantes do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, dos levantamentos de ocorrência da praga denominada Huanglongbing (HLB) - Greening*. Brasília, 17 Out. 2008. Seção 1.
- BURCKHARDT, D., OUVRARD, Article A revised classification of the jumping plantlice (Hemiptera: Psylloidea). **Zootaxa**, Auckland v. 3620, n. 1, p. 129-146, 2013.

CAPPOR, S.P.; RAO, D.B.; VISWANATH, S. M. *Diaphorina citri*, a vector of the greening disease of citrus in India. **Indian Journal of Agricultural Science**, v. 37, p.572-576, 1967.

CASTRO, M. E. A. et al. Situação e ações do Estado de Minas Gerais frente ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 163-168, 2010.

CHAVAN, V.M.; SUMMANWAR, A.S. Population dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw, in Maharashtra. In: NAVARRO, L., GRAÇA, J.V. da;TIMMER, L.W. (Eds). CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 12., 1993, Riverside. **Proceedings**... Riverside: University of California, 1993. p. 286-290.

CITRUS BR (Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos). **O panorama da citricultura no mundo**. 2011.

COLETTA-FILHO, H.D. et al.. First Report of the Causal Agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, p.1382, 2004.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **São Paulo é o maior produtor brasileiro de citros**. 2015. Disponível em: <<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/noticias/index.php?action=integra&cod=949>> . Acesso em: 18 Out. 2016.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Instrução Normativa n° 53, de 16 de outubro de 2008**. Diário Oficial da União. 17 out. 2008 - Seção 1. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=iew&idleg=830>> . Acesso em: 18 Out. 2016.

COSTA LIMA, A. **Ordem Homoptera**. In: Insetos do Brasil. 3° tomo. Rio de Janeiro, ENA, SÉRIE DIDÁTICA n. 4, 327p, 1942.

DAESP (Defesa Agropecuária Estado de São Paulo). **Sanidade Vegetal**. Disponível em: <<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/programas/?/sanidade-vegetal/huanglongbing-hlb-ou-greening/&cod=26>> . Acesso em: 14 Fev. 2017.

DAWSON, B.; FOLIMONOVA, S.Y.; ROBERTSON, C.J.; GARNSEY, S.M. **Examination of host responses of different citrus varieties and relatives to HLB infection**. University of Florida, Citrus Research and Education Center, Lake Alfred, FL. s.d.

Doughari, J.H. 2015. An overview of plant immunity. **Journal of Plant Pathology and Microbiology** 6:322. Doi: 10.4172/2157-7471.1000322.

DURAN, A. P. **Enemigos naturais de diaphorina citri (kuwayama) (hemiptera: psyllidae) en tres sitios del estado de veracruz.** 2011.

EMBRAPRA Amazônia Oriental. **Identificação e Controle das Principais Pragas em Pomares de Citros no Pará.** Belém. 2003.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Pesquisadores analisam a visão de consultores técnicos sobre o impacto ambiental e a adoção de tecnologias de manejo do HLB dos citros.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/mobile/noticias/-/noticia/21170434/pesquisadores-analisam-a-visao-de-consultores-tecnicos-sobre-o-impacto-ambiental-e-a-adocao-de-tecnologias-de-manejo-do-hlb-dos-citros>. Acesso em: 13 Mar. 2017.

FERNANDES, T. A. P. **Evolução do Huanglongbing (HLB) em Minas Gerais.** 2016.

FUNDECITRUS (Fundo de defesa da citricultura). **Greening/HLB.** Medidas essenciais de controle. 2016. Disponível em < file:///C:/Users/lorena.viana/Downloads/HLB.pdf >. Acesso em: 13 Mar. 2017.

FUNDECITRUS (Fundo de defesa da citricultura). **Inseto transmissor do Greening.** Folheto técnico, 2009.

FUNDECITRUS (Fundo de defesa da citricultura). **Greening.** Manual técnico, 2013. Disponível em < <http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/greening-e-responsavel-pela-eliminacao-de-267-milhoes-de-plantas-em-oito-anos/199> >. Acesso em: 15 Fev. 2016.

FUNDECITRUS (Fundo de defesa da citricultura). **Greening.** Manual técnico, 2009.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola.** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz-FEALQ, 2002. 920 p.

GRAFTON-CARDWELL, E. E.; STELINSKI, L. L.; STANSLY, P. A. Biology and management of Asian Citrus Psyllid, vector of the Huanglongbing pathogens. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 413-432, 2013.

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

HOY MA & NGUYEN R. Classical biological control of Asian citrus psylla. **Citrus Industry**, v. 81, p. 48-50, 2001.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Disponível em : <<http://www.IBGE.gov.br/sidra>>. Acesso em : 10 fev. 2017.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal. Culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro, v. 40, p.1-102, 2013.

LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo, Ícone, 1991, 336p.

LEONG, S.C.T. et al. Impacts of Horticultural Mineral Oils and Two Insecticide Practices on Population Fluctuation of *Diaphorina citri* and Spread of Huanglongbing in a Citrus Orchard in Sarawak. **Scientific World Journal**. 2012.

LIU YH, TSAI, J.H. Effects of temperature and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, v. 137, p. 201-206, 2000.

LORETI, F. Sottoprogetto miglioramento genetico dei portinnesti. In: MACFRUT, 2003, Cesena. **Atti...**

MACHADO, M.A.; LOCALI-FABRIS, E.C.; COLETTA FILHO, H. D. *Candidatus* Liberibacter spp., agentes do huanglongbing dos citros. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 25-35, 2010.

MEAD, F.W. **Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**. Gainesville: IFAS/University of Florida, 2007.

MEAD, F. W. **Asian citrus psyllid scientific name: *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**. IFAS/University of Florida, 2014.

NAVA, D.E.; TORRES, M.L.G.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; PARRA. J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal Applied Entomology**, v.131, n.9-10, p.709-715, 2007.

OLIVEIRA, J.M.C. et al. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do *Huanglongbing* (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 755-762, 2013.

PAIVA, P.E.B., **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**. Tese de doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 64p. 2009.

PARRA, J.R.P. et al. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.1, p.37-51, 2010.

PARRA, J.R.P. **Controle biológico das pragas de citros**. Boletim citrícola, Junho nº21/2002.

RAMADUGU, C. Long-Term Field Evaluation Reveals Huanglongbing Resistance in *Citrus* Relatives. **Plant Disease**. Set. 2016, v. 100, n. 9. pags. 1-64.

RAO, C. N. et al. Evaluation of citrus germplasm for resistance to Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae). **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, vol. 19, n. 2 pag. 152-155, 2013.

Richardson, M.L. and Hall, D.G. 2013. Resistance of Poncirus and Citrus X Poncirus 728 germplasm to the Asian citrus psyllid. *Crop Science* 53: 183-188

RUIZ, G.J.P. et al. Ações de defesa sanitária vegetal no estado de São Paulo contra o huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, p. 155-162, 2010.

SANTOS, M. **Reação de 16 porta-enxertos sob laranjeira 'Valência' ao agente casual, *Candidatus Liberibacter asiaticus***. 62f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, 2013.

SNA (Sociedade Nacional de Agricultura). **Pragas quarentenárias são os maiores desafios da fruticultura brasileira**. 2015. Disponível em <http://sna.agr.br/pragas-quarentenarias-sao-os-maiores-desafios-da-fruticultura-brasileira/>. Acesso em: 15 Mar. 2017.

SOBRINHO, A. P. C. et al. **Cultura dos citros**. 1. Ed. Brasília, 2014.

SUGAYAMA. R.L.; SILVA. M.L.; SILVA. S.X. B.; RIBEIRO. L.C.; RANGEL. L.E. P. **Defesa Vegetal: Fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas**. Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária. Belo Horizonte, MG, 2015. 544p.

TEIXEIRA, D.C. et al. Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 2, p. 115-128, 2010.

TIWARI, S. et al. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, v. 67, n. 10, p. 1258-1268, 2011.

TSAGKARAKIS, A.E.; ROGERS, M.E. Suitability of 'Tangerineira 'Cleopatra' Mandarin as a Host Plant for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 93, n. 3, p.451-453, 2010.

WENNINGER, E.J.; HALL, D.G. Daily timing and age at reproductive maturity in Brazil. *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 90, p. 715-722, 2007.

WENNINGER, E.J.; HALL, D.G. Importance of multiple mating to reproductive output in *Diaphorina citri*. **Physiological Entomology**, v. 33, p. 316-321, 2008.

WESTBROOK, C.J. et al. Colonization of *Citrus* and *Citrus*-related Germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Hortscience**, v. 46, n. 7, p.997-1005, 2011.