

LEANDERSON DA CONCEIÇÃO OLIVEIRA

**ATRATIVIDADE DE VARIEDADES DE
CITROS CULTIVADAS NO ESTADO DA
BAHIA SOBRE A *Diaphorina citri* Kuwayama
(HEMIPTERA: STERNORRHYNCHA: LIVIIDAE) E
IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS
ORGÂNICOS VOLÁTEIS EMITIDOS**

Feira de Santana – BA

2019

LEANDERSON DA CONCEIÇÃO OLIVEIRA

**ATRATIVIDADE DE VARIEDADES DE CITROS
CULTIVADAS NO ESTADO DA BAHIA SOBRE A *Diaphorina
citri* Kuwayama (HEMIPTERA: STERNORRHYNCHA:
LIVIIDAE) E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS
ORGÂNICOS VOLÁTEIS EMITIDOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Profª Drª. Alessandra Selbach Schnnadelbach

Coorientadora: Drª. Cristiane de Jesus Barbosa

Feira de Santana – BA

2019

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

O48a Oliveira, Leanderson da Conceição
Atratividade de variedades de citros cultivados no Estado da Bahia sobre a *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Sternorrhyncha: Liviidae) e identificação dos compostos orgânicos voláteis emitidos./ Leanderson da Conceição Oliveira. – 2019.
85f.: il.

Orientadora: Alessandra Selbach Schnadelbach
Coorientadora: Cristiane de Jesus Barbosa
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2019.

1.Greening (Doença de plantas). 2.Citrus sp. 3.Metabolômica. 4.Psilídeo asiático dos citros. I.Schnadelbach,Alessandra Selbach , orient. II.Barbosa, Cristiane de Jesus, coorient. III.Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU : 632.752

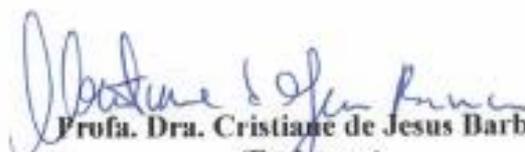
BANCA EXAMINADORA



**Prof. Dr. Eduardo Chumbinho de Andrade
(Embrapa Mandioca e Fruticultura)**



**Prof. Dr. Antonio Souza do Nascimento
(Embrapa Mandioca e Fruticultura)**



**Profa. Dra. Cristiane de Jesus Barbosa
(Embrapa)
Coorientadora e Presidente da Banca**

*Aos amores da minha vida,
minha família, dedico.*

AGRADECIMENTOS

Ao universo por conspirar sempre a meu favor e às pessoas que cruzaram meu caminho e me ajudaram a não desistir, seja por um conselho, ajuda ou um ato carinhoso.

À minha amada mãe pelo carinho de sempre, por me amar incondicionalmente e cuidar de mim mesmo de longe. Te amo! Agradeço a meu pai, que mesmo sem perceber, com suas ações, só me incentivou a ser um grande homem, querer seguir sempre em frente e lutar por mudança de vida. A você agradeço, mesmo que não entenda.

Ao Gabriel Magalhães Andrade que foi a minha melhor companhia nos últimos tempos. Obrigado por dar ouvidos às minhas lamúrias, reclamações e aflições.

Eu agradeço em especial às minhas orientadoras, Alessandra S. Schnadelbach e Cristiane de J. Barbosa por me aconselharem, dividirem suas histórias de vida e por me ajudarem mesmo quando não existia a obrigação. Vos adoro!

Aos coorientadores não oficiais Paulo Roberto Ribeiro de Mesquita, pela ajuda com os experimentos e ensino da técnica de cromatografia e o uso do cromatógrafo, e Frederico Medeiros de Rodrigues pelo apoio, carinho, preocupação, conselhos, orientação de carreira e por toda orientação para a vida, além da contribuição nos experimentos. E também à Marilene Fancelli por ter me orientado na segunda etapa do projeto com os bioensaios com o inseto *Diaphorina citri*.

Aos meus irmãos Fábio e Viviane Bela da Conceição Oliveira e Gerson, Greice Quele, Islane, Greice, Girlane e Jéssica da Conceição Oliveira a quem tanto amo. Aos meus sobrinhos Eloisia, Alícia, Fábio Jr. e Ester Sophia em quem vejo a esperança se renovar. Vos amo a todos!

Às minhas tias Antônia Bela e Izabel Lago pelo apoio desde a graduação, por se fazerem presentes e pela preocupação de sempre.

Ao meu amigo Denilson Oliveira em especial pelos momentos de extrema felicidade, pelas prosas filosóficas e pelo cuidado mesmo de longe. Te amo há muito tempo!

À Daniela Machado, Alaíne Nicácio e Gilca Cunha, que em pouco tempo se tornaram amigas de longa data, pelas conversas, comemorações, almoços, jantares, sessão cinema.

Ao Eiden (como ele gosta de ser chamado), que apesar de ter tido pouca participação na minha vida nesses últimos tempos, deixou-me muitos aprendizados e reflexões.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia Química do Centro Tecnológico Agropecuário do Estado da Bahia (CETAB), especialmente à mestranda e amiga Vivian Marina Laje com quem dividi experiências com o cromatógrafo e angústias relacionadas a nossa prática laboratorial e

aquelas referentes à vida adulta. Aos agregados, Ayala Gomes, Danielle Vieira, Igor Gabriel e Camila Dias.

Ao grupo do Laboratório de Entomologia da Embrapa, Natielli Santos, Daiana Nogueira, Manuela Rosa, Hernandes Castro, Sr. Dilson Brito, Sr. Zé e Diego que de uma forma ou de outra me auxiliaram.

Ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal coordenado pela analista Mabel Ribeiro Sousa, a quem considero minha amiga.

Aos amigos que cultivei na Embrapa fora dos laboratórios: Thaís Nascimento, Luana Laís, Sidnara, Elaine Cruz e Flávia Angelica. Obrigado por fazerem a estadia longe da família ser menos sofrida.

Ao Jorge da Silva pela atenção e o auxílio com as plantas.

Ao Maurício Antônio Coelho Filho e Rilquer Mascarenhas da Silva pelo auxílio com a estatística.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura e ao Centro Tecnológico Agropecuário da Bahia pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

A todos os professores do PPG em Recursos Genéticos Vegetais da UEFS pelos ensinamentos, que contribuíram significativamente para a minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, pelo apoio financeiro projeto T.O. RED0040/2014.

À todos amigos e pessoas que de uma forma ou de outra participaram dessa caminhada. Sintam-se abraçados!

Meu eterno obrigado!

...Eu me inspiro *numa* frase de minha mãe: “não vai fazer suas coisas não, fica aí!”

E foi assim que as coisas foram acontecendo desde menino, desde as tarefas escolares às obrigações de casa. Em mente sempre tive que trabalho bom é trabalho realizado, acabado.

Interessante é que, antes de ir para Salvador começar a graduação em Biologia, tive que trabalhar *numa* fazenda de citros para juntar *um dinheiro* para *ajeitar* os dentes e arcar com as despesas da mudança. Mal podia imaginar que trabalharia na pós-graduação novamente com citros, embora *num* outro âmbito.

Eu costumava atrelar as coisas boas que aconteciam na minha vida a um Deus ou à sorte. Mas com o tempo eu percebi que eu ficava sem o mérito. Hoje eu prefiro agradecer ao universo por conspirar a favor; favorecer o encontro com pessoas que contribuem de forma tão sutil, mas com uma representatividade que só nos damos conta em momentos de distração e

ócio.....

RESUMO

O huanglongbing (HLB) é uma doença dos citros causada por bactérias do gênero *Candidatus* que provoca mosqueado nas folhas, redução no tamanho e maturação irregular dos frutos, degeneração do floema e abortamento das sementes. Atualmente, o HLB é a doença mais devastadora para a citricultura no mundo. No Brasil, o HLB pode ser disseminado nos pomares pelo inseto vetor, o psilídeo *Diaphorina citri* ou através da enxertia de material propagativo infectado. Ainda não existem variedades resistentes aos patógenos e o manejo da doença se dá por meio da erradicação das plantas sintomáticas, produção de mudas livres do agente causal e controle das populações de *D. citri*. No Brasil, a doença é restrita aos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná, sendo o estado da Bahia considerado área livre do HLB, embora apresente condições adequadas à ocorrência da doença. Neste sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar a atratividade de variedades de citros, cultivados no estado da Bahia, sobre a *Diaphorina citri* e identificar os compostos orgânicos voláteis emitidos. Para tanto, foram analisadas as copas de laranja doce (*Citrus sinensis* Osbeck) ‘Valência’, ‘Westin’ e ‘Pera’ e os porta-enxertos, limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck), ‘Sunki Tropical’ (*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex. Tanaka), e o ‘HTR 059’ (híbrido de *P. trifoliata*). O porta enxerto ‘Flying Dragon’ (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) foi utilizado como controle menos atrativo e a murta de cheiro (*Murraya paniculata* L. Jack), como controle mais atrativo ao vetor. Os bioensaios de olfatométrica foram conduzidos em um olfatômetro de quatro vias para identificar as variedades mais e menos atrativas ao psilídeo e os dados obtidos foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para verificação da normalidade, e ao teste *t* para avaliar as diferenças entre as médias dos tratamentos. Os COV’s foram extraídos conforme a técnica SPME e identificados através da GC-MS. Os dados obtidos foram avaliados através da análise de componentes principais (PCA) e de agrupamento hierárquico (HCA) no software Metaboanalyst. Os resultados demonstraram que as variedades ‘Sunki Tropical’, limoeiro ‘Cravo’ e ‘Valência’ foram mais atrativas do que o controle menos atrativo. Em relação ao controle mais atrativo, a variedade ‘HTR 059’ foi a menos atrativa. Os principais compostos encontrados nas variedades menos atrativas foram β -pineno e linalol para a copa ‘Pera’, β -pineno e decanol para a copa ‘Westin’, β -cariofileno e γ -elemeno para o porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’. Desta forma, o porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’ e as copas ‘Pera’ e ‘Westin’ são as variedades indicadas em ações de prevenção à introdução e disseminação da doença no estado da Bahia. A copa ‘Valência’ e os porta-enxertos ‘Sunki Tropical’ e limoeiro ‘Cravo’ foram os mais atrativos e menos indicados para cultivo quando se almeja a prevenção do HLB na Bahia.

Palavras-chave: Greening, bactérias restritas ao floema, *Citrus* sp., metabolômica, psilídeo asiático dos citros.

ABSTRACT

Huanglongbing (HLB) is a citrus disease caused by bacteria of the genus *Candidatus* which induces blotchy mottling, diminishment of fruit size and irregular fruit maturation, phloem degeneration and abortion of the seeds. Currently, HBL is the most devastating disease of citrus in the world. In Brazil, HLB can be disseminated in the orchards through the insect vector, the psyllid *Diaphorina citri* or through grafting of contaminated propagative material. There is still no resistant variety to the pathogens and the management of the disease includes the eradication of all symptomatic plants, the use of disease-free seedling produced in insect-proof nurseries and control of *D. citri*. In Brazil, the disease is restricted to São Paulo, Minas Gerais and Paraná states. The state of Bahia is considered HLB-free area, even though the state presents all of the suitable conditions for the occurrence of the disease. Therefore, the objective of this study was to evaluate the attractiveness of citrus varieties grown in the State of Bahia on *Diaphorina citri* and to identify the volatile organic compounds emitted. For this purpose, the following varieties were analysed: 'Valencia', 'Westin' and 'Pera' sweet orange scions (*Citrus sinensis* Osbeck) and the rootstocks, 'Rangpur lime' (*Citrus limonia* Osbeck), 'Sunki Tropical' (*Citrus sunki* (Hayata) hort ex. Tanaka), and 'HTR059' (*Poncirus trifoliata* - hybrid). The 'Flying Dragon' rootstock (*Poncirus trifoliata* L. (Raf.) was used as the least attractive control and the orange jasmine (*Murraya paniculata* L. Jack), as the most attractive control to the vector. The olfactometer bioassays were conducted in a four-way olfactometer to identify the most and the least attractive variety to the psyllid and the data obtained were submitted to the Shapiro-Wilk test for normality, and *t* test for assessing differences between the average of the treatments. The VOCs were extracted according to the SPME technique and identified through GC-MS. The data obtained were evaluated through the principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering (HCA) in Metaboanalyst software. The results showed that only the varieties 'Sunki Tropical', 'Rangpur lime' and 'Valencia' were more attractive than the less attractive control 'Flying Dragon'. Regarding to the more attractive control orange jasmine, the 'HTR 059' rootstock was the least attractive. The main compounds found in the least attractive varieties were β -pinene and linalol for 'Pera', β -pinene and decanol for 'Westin', β -caryophyllene and γ -element for 'HTR 059'. In this way, 'HTR 059' hybrid and 'Pera' and 'Westin' sweet orange scions are the varieties indicated to implement actions to prevent the introduction and spread of the disease in the State of Bahia. The Valencia sweet orange and the 'Sunki Tropical' and 'Rangpur lime' rootstocks were the most attractive cultivars, and therefore less suitable for cultivation in Bahia when HLB prevention is required.

Key-words: Greening, phloem-restricted bacteria, *Citrus* sp., Metabolomics, Asian citrus psyllid.

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ADAB: Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CDA: Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo

CETAB: Centro Tecnológico Agropecuário da Bahia

CG/EM: Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa

CG: cromatografia a gás

COV: Composto orgânico volátil

DVB/CAR/PDMS: Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano

Embrapa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EUA: Estados Unidos da América

g: Grama

Kpa: Quilopascal

mL: Mililitro

ME: Microscopia Eletrônica

MeSA: Salicilato de metila

°C: Graus Celsius

UEFS: Universidade Estadual de Feira de Santana

µm: Micrômetro

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO GERAL

Tabela 1. Principais características de algumas variedades cítricas cultivadas no Brasil.2

Tabela 2. Retrato da citricultura em São Paulo de 2007 a 2015. O monitoramento começou 3 anos após a primeira detecção do HLB no município de Araraquara. Fonte: CDA - SP, 201.5

Tabela 3. Diferença na quantidade produzida por hectare nos cinco estados maiores produtores de laranja do país. O estado do Paraná apresenta maior rendimento. Retirado e modificado de IBGE (2019).8

CAPITULO 1

Tabela 1. Composição relativa (%) dos COV's identificados nos controles e nas variedades copa e porta-enxerto.55

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1.** Algumas espécies de citros cultivadas no mundo. A) *Citrus sinensis*, B) *Citrus reticulata*, C) *Citrus limonia*, D) *Citrus paradisi* e E) *Citrus latifolia*. Fonte: FUNDECITRUS, 2018.1
- Figura 2.** Número de plantas sintomáticas para o HLB. Mais de 40 milhões de plantas erradicadas no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro no período de 2007 a 2015. A partir de 2013, o número de remoções começa a reduzir. Fonte: CDA, 2018.6
- Figura 3.** Mapa das duas principais regiões produtoras de citros da Bahia. Litoral norte e recôncavo em cinza. Retirado de Ramos et al., 2014 apud Centro, 1994.7
- Figura 4.** A) Probabilidade de novas ocorrências do HLB no mundo. A faixa tropical do globo oferece maior adequabilidade para novas ocorrências e instalação da doença. A presença do vetor nessas áreas é uma forte variável, que eleva o risco de ocorrência. Retirado de Narouei-Khandan et al. (2016).10
- Figura 5.** A) Sintomas do huanglongbing em citros. Planta apresentando amarelecimento das folhas e queda dos frutos; B) Ramo apresentando mosqueado aparentemente em estado inicial (seta); C) Frutos assimétrico com tamanho reduzido; D) Fruto com floema da columela de coloração alaranjada e semenete aparentemente abortada (setas). Foto: A-C) Silva, 2016; D) Fundecitrus, 2009.14
- Figura 6.** *Diaphorina citri*. A) Ovos. B) Ninfas recém-eclodidas, de coloração amarelada C) Ninfa em quarto instar secretando a substância açucarada ‘honey dew’. D) Psílideo adulto. A-C: Fundecitrus 2016; D: Hall, 2007.17

Figura 7. Cromatograma gerado de plantas infectadas e não infectadas pelo HLB. Retirado de Mann et al. (2012).23

CAPÍTULO 1

Figura 1. Aspecto das plantas utilizadas no ensaio biológico para o estudo de olfalmetria e detecção de compostos orgânicos voláteis (COV's): A. 'Westin'; B. 'Valência'; C. 'Pera'; D. 'Sunki Tropical'; E. Limoeiro 'Cravo'; F. híbrido 'HTR 059'. A-C: Variedades Copa enxertadas em 'limoeiro 'Cravo'; D-F: Variedades Porta-Enxertos.41

Figura 2. A) Vista parcial da cerca-viva de murta de cheiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura; B) Gaiolas de criação do *D. citri* no Insetário do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura; e C) Fêmeas se alimentando em ramos de murta de cheiro após sexagem. Fonte: Barbosa, 2019.42

Figura 3. A) Painel de filtros e rotômetros. B) Câmara confeccionada em saco do tipo poliéster. C) Arena de quatro vias e seus campos demarcados por números. Fonte: FANCELLI et al. (2017).43

Figura 4. Material utilizado na extração e detecção dos COV's. A) Pesagem do material. B) Maceração da folha com bastão de vidro; C) Lacração do *vial headspace* (HS). D) Bloco de alumínio sobre a placa aquecedora. E) Cromatógrafo a gás utilizado na detecção dos COV's (CETAB).46

Figura 5. Tempo de residência, em minutos, das fêmeas de *D. citri* em resposta aos odores emitidos por variedades de copas e de porta-enxerto de citros em arena de 4 vias de cada tratamento. Laranja e amarelo: tempo de permanência nos tratamentos 'Sunki Tropical', híbrido 'HTR 059', limoeiro 'Cravo', 'Westin', 'Valência' e 'Pera'; Verde: tempo de permanência no controle *M. paniculata*; Azul: tempo de permanência no controle *P. trifoliata*. * $P \leq 0,05$, n.s. não significativo pelo teste t.50

Figura 6. Número de entradas das fêmeas de *D. citri* em cada tratamento em resposta aos compostos emitidos por variedades de copas e de porta-enxerto de citros em arena de 4 vias. Laranja e amarelo: número de entradas nos tratamentos ‘Sunki Tropical’, híbrido ‘HTR 059’, limoeiro ‘Cravo’, ‘Westin’, ‘Valência’ e ‘Pera’; Verde: número de entradas no controle *M. paniculata*; Azul: número de entradas no controle *P. trifoliata*. * $P \leq 0,05$ e n.s. não significativo pelo teste t.51

Figura 7. Tempo de residência, em minutos, de fêmeas de *D. citri* aos compostos emitidos pelo híbrido ‘HTR 059’, ‘Westin’ e ‘Flying Dragon’, quando o controle ‘ar puro’ foi usado. * $P \leq 0,05$ teste t. Azul: tempo de permanência nos tratamentos híbrido ‘HTR 059’ e ‘Westin’, e no controle *P. trifoliata*; Laranja: tempo de permanência no controle ‘ar puro’.53

Figura 8. Dendograma associado ao mapa de calor dos compostos voláteis identificados nas variedades de citros e afins utilizadas neste estudo. M, *M. paniculata*; P, *P. trifoliata* (‘Flying Dragon’); V1, híbrido ‘HTR 059’; V2, limoeiro ‘Cravo’; V3, ‘Sunki Tropical’; V4, ‘Westin’; V5, ‘Pera’; V6, ‘Valência’. Legenda: 6 a -6 refere-se a área do pico. 6, alto; -6, baixo).57

Figura 9. Gráfico de escores de PCA 3D para as amostras das variedades de citros e afins envolvidas no estudo. M, *M. paniculata*; P, *P. trifoliata* (‘Flying Dragon’); V1, híbrido ‘HTR 059’; V2, limoeiro ‘Cravo’; V3, ‘Sunki Tropical’; V4, ‘Westin’; V5, ‘Pera’; V6, ‘Valência’).60

RSUMO	x
ABSTRACT	xi
LISTA DE SIGLAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 A Família Rutaceae e o gênero <i>Citrus</i> L	1
1.2 A citricultura no Brasil	3
1.2.1 Citricultura na Bahia	6
1.3 O Huanglongbing dos citros	11
1.4 Sintomas do Huanglongbing	13
1.5 O vetor <i>Diaphorina citri</i>	16
1.6 Manejo do Huanglongbing	18
1.7 Compostos Orgânicos Voláteis (COV's)	21
1.8 Objetivos	25
Referências	26
2 CAPÍTULO I - BIOENSAIOS DE OLFATOMETRIA E DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE COV'S DE VARIEDADES DE CITROS CULTIVADAS NA BAHIA VISANDO DETERMINAR SUA ATRATIVIDADE À <i>Diaphorina citri</i>, INSETO VETOR DO HLB	34
RESUMO	34

ABSTRACT	35
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS	68

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A Família Rutaceae o gênero *Citrus* L.

A família Rutaceae é constituída de aproximadamente 150 gêneros e 2.000 espécies, com distribuição predominantemente pantropical. No Brasil, é representada por 32 gêneros e cerca de 200 espécies (SOUZA & LORENZI, 2012). Dentre os gêneros desta família, *Citrus* L. se destaca por sua importância econômica e social (MAPA, 2016).

Os principais representantes desse gênero são as laranjas doces (*Citrus sinensis* Osbeck), tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco e *Citrus deliciosa* Ten.), limões [*Citrus limon* (L.) Osbeck], limas doces (*Citrus limettioides* Tanaka) e ácidas [*Citrus latifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka e *Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle], pomelos (*Citrus paradisi* Macfad.), cidra (*Citrus medica* L.), laranjas azedas (*Citrus aurantium* L.) e toranjas (*Citrus grandis* Osbeck) (Fig. 1A, 1B, 1C, 1D) (MATTOS-JUNIOR et al., 2005; BASTOS et al., 2014).

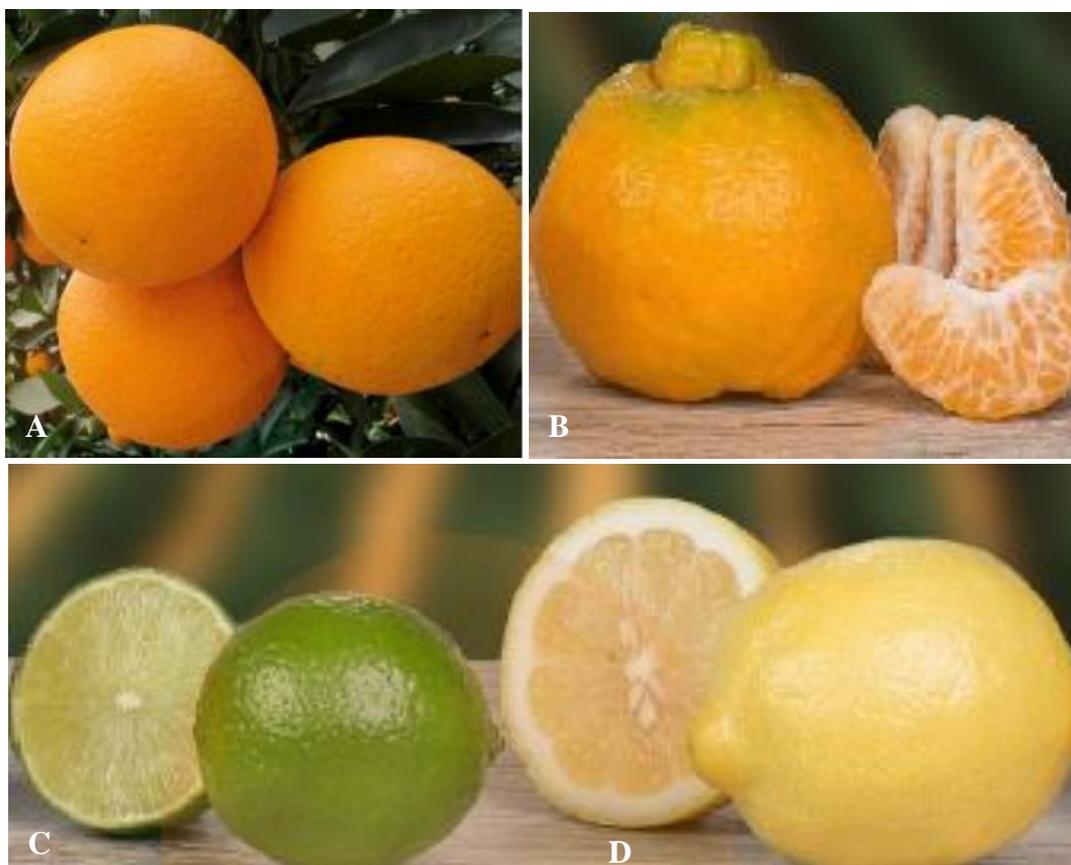


Figura 1. Algumas espécies de citros cultivadas no mundo. A) *Citrus sinensis*, B) *Citrus reticulata*, C) *Citrus latifolia* e D) *Citrus limon*. Fonte: FUNDECITRUS, 2018.

Os citros têm sua origem principalmente nas regiões subtropicais e tropicais do sul e sudeste da Ásia, e também áreas da Austrália e África. Levados para a Europa na época das Cruzadas, foram trazidos para o Brasil no século XVI pelos portugueses (MATTOS-JUNIOR et al., 2005).

Apesar de terem sido introduzidos a partir de 1530 no Brasil, os citros passaram a ter relevância na economia somente a partir do século XX. As primeiras sementes de laranja doce foram introduzidas na Bahia e em São Paulo, coincidentemente, dois dos estados com maior área e produção no país atualmente (PASSOS, 1990; IBGE, 2019).

Uma planta cítrica comercial é formada pelo enxerto ou copa e pelo porta-enxerto, agregando os benefícios de cada uma dessas partes e sua interação. Algumas variedades cultivadas no Brasil no sistema de enxertia podem ser visualizadas na tabela abaixo (Tab. 1).

Tabela 1. Principais características de variedades cítricas cultivadas no Brasil.

Grupo cítrico	Cultivar	Característica da planta		Característica do fruto				Mercado
		Porte	Copa	Maturação	Semente	Teor de suco	Acidez	
Laranja	Pera	Médio	Ereta	Ano todo	Ausente	Alto	Baixa	Indústria e mesa
	Valência	Alto	Arredondada	Tardia	Ausente	Alto	Média	Indústria e mesa
	Natal	Alto	Compacta	Tardia	Ausente	Alto	Média	Indústria e mesa
	Folha murcha	Médio	Arredondada	Tardia	Ausente	Alto	Baixa	Indústria e mesa
	Hamlin	Médio	Arredondada	Precoce	Presente	Baixo	Alta	Indústria e mesa
	Bahia	Alto	Arredondada	Meia-estação	Ausente	Baixo	Média	Mesa
	Baianinha	Alto	Arredondada	Meia-estação	Ausente	Baixo	Média	Mesa
	Lima	Médio	Arredondada	Meia-estação	Ausente	Baixo	Baixa	Mesa
	Rubi	Alto	Arredondada	Meia-estação	Ausente	Médio	Média	Mesa
Tangerina	Westin	Baixo	Semiereta	Precoce	Ausente	Médio	Media	Mesa
	Ponkan	Médio	Cônica	Meia-estação	Presente	Médio	Média	Mesa
	Murcott	Médio	Arredondada	Tardia	Presente	Baixo	Média	Mesa
Lima - limão	Lima-da-pérsia	Alto	Arredondada	Meia-estação	Ausente	Médio	Baixa	Mesa
	Tahiti	Alto	Arredondada	Precoce	Ausente	Médio	Alta	Indústria e mesa
	Galego	Baixo	Ereta	Meia-estação	Presente	Médio	Alta	Indústria e mesa

Retirado de Bastos et al., 2014.

Alguns gêneros relativos a *Citrus*, como *Fortunella* Swingle e *Poncirus* Raf., são importantes na busca por fontes de resistência ou tolerância às principais doenças e pragas, fatores que mais limitam a expansão da lavoura. Além disso, são importantes na oferta de genótipos de porta-enxerto de qualidade, adaptados a diferentes condições de solo, clima e que possuam boas características fitossanitárias (BOVÉ, 2006; BOVÉ, 2012).

1.2 A citricultura no Brasil

A citricultura no Brasil é uma atividade econômica muito importante pelo seu alto grau de empregabilidade, além de ser uma das principais portas para o mercado internacional. Toda cadeia gera em torno de 400 mil empregos diretos e indiretos.

O estado de São Paulo é o maior produtor mundial de suco de laranja juntamente com a Flórida nos Estados Unidos da América (EUA), um caso raro em se tratando de *commodities* agrícolas (BELASQUE-JUNIOR et al., 2009; FRANCO, 2016).

Dados publicados de 2010 a 2016 revelaram queda na área destinada à colheita, passando de 851.142 para 669.195 ha plantados com aproximadamente 200 milhões de laranjeiras com uma produção de 17,2 milhões de toneladas de laranja doce para a indústria de processamento. Grande parte dessa produção é exportada por mais de US\$ 2,4 bilhões, representando 63% do suco de laranja produzido no mundo. Em outros termos, significa dizer que a cada dez copos de suco de laranja consumidos no mundo, pouco mais de seis saem do Brasil. Os maiores consumidores, em ordem crescente, são China, Japão, Estados Unidos e a União Europeia, que soma US\$ 1,13 bilhão correspondente a 1,5 milhão de toneladas de suco exportado (BELASQUE-JUNIOR et al., 2010; FRANCO, 2016; IBGE, 2019).

Essa cadeia bilionária passou a ser ameaçada em 2004 quando árvores com sintomas do Huanglongbing (HLB), doença mais grave para a citricultura, foram registradas em Araraquara, região central de São Paulo (COLETTA-FILHO, 2004). Em 2005, a ocorrência de duas bactérias causadoras do HLB em pomares da região Central de São Paulo foi confirmada por diagnóstico molecular. No mesmo ano, a presença da *Candidatus L. asiaticus*, já conhecida como agente causal do HLB em pomares do continente asiático, era bem baixa, em torno de 2% em relação a *Candidatus L. americanus*. Dessa forma, de grande parte do material possivelmente positivo para o HLB (ramos de plantas sintomáticas), cerca de 90% tinha como agente etiológico *Ca. Liberibacter americanus* (TEIXEIRA et al., 2005a,b,c). Esse cenário começou a mudar a partir de 2007, quando a forma asiática da doença se tornou prevalente, provavelmente devido a condições ambientais e competição, já que a forma asiática apresenta maior tolerância a altas temperaturas (LOPES et al., 2009).

Após ser relatada em São Paulo em 2004, o HLB foi também descrito no ano seguinte no estado de Minas Gerais (região citrícola do Triângulo Mineiro) e, cerca de

dois anos depois, foi detectado nos pomares do Paraná (Região Norte), onde se encontra disseminada por pelo menos 89 dos 399 municípios do Estado. Meses após a primeira detecção em São Paulo, pelo menos 46 municípios registraram ao menos um pomar citrícola afetado com HLB. Alguns desses pomares, todos presentes na região de Araraquara, tinham mais de 50% das plantas assintomáticas. Em 2008, foi constatado que o HLB ocorria em todas as regiões citrícolas de São Paulo, o que levou a crer que a sua introdução tenha ocorrido cerca de 10 anos antes (BELASQUE-JUNIOR et al., 2009; LEITE-JUNIOR, 2017).

Em 2016, após suspeita de presença do HLB nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Minas Gerais (MG), Distrito Federal (DF), Bahia (BA) e Pará (PA), folhas e/ou columela dos frutos de laranja doce, de lima e de mandarina de pomares comerciais com sintomas do HLB foram submetidas ao testes PCR duplex com *primers* específicos para detecção de *Ca. L. americanus/asiaticus*. Apenas amostras coletadas em pomares de Minas Gerais acusaram a presença de *Ca. L. asiaticus*. Não foram encontradas *Ca. L. americanus* ou *asiaticus* em amostras coletadas no município de Bom Jesus da Lapa/BA nem nos demais estados. Portanto, a Bahia permanece com o *status* de área livre do HLB (SANCHES et al, 2016), apesar de *Ca. L. americanus* ter sido encontrada recentemente no inseto vetor *Diaphorina citri*.

O avanço do HLB só aumentou nos pomares do cinturão citrícola São Paulo/Minas Gerais de 2008 até 2015, quando o índice de plantas afetadas passou de 0,61% para 17,89%. A partir de 2016, esse índice começou a apresentar pequena queda, passando, dessa forma, de 17,89% em 2015 para 16,73% em 2017, mas voltou a crescer em 2018. A remoção de plantas sintomáticas só aumentou ano a ano desde quando o monitoramento foi iniciado em 2007 até 2012, quando então começou a reduzir. O levantamento para número total de plantas também mostrou redução se comparado com anos anteriores (principalmente nos anos de 2009, 2010, 2011 e 2012), quando existiam aproximadamente 240 milhões de árvores totais (em idade produtiva e não produtiva) (Tab. 2). Atualmente, o número total de árvores não ultrapassa 200 milhões. Do segundo semestre de 2007, quando a remoção de árvores sintomáticas passou a fazer parte do plano de controle do HLB, até 2015, já foram removidas aproximadamente 44 milhões de plantas afetadas pelo HLB só em São Paulo. (Tab. 2, Fig. 2) (CDA, 2018; FUNDECITRUS, 2017a, 2017b, 2018).

As remoções de plantas têm acarretado grande aumento no custo de produção decorrente das inspeções semanais, quinzenais ou mensais ou de acordo com o programa de controle do HLB adotado por cada produtor, a depender do tamanho da propriedade, situação das áreas vizinhas, e a condição e idade dos talhões (BASSANEZI; BELASQUE-JÚNIOR; MONTESINO, 2013; BASSANEZI et al., 2013). Atualmente, a doença está presente nas regiões produtoras do estado de São Paulo, no Triângulo Mineiro e no Norte do Paraná, embora sua incidência seja maior nas regiões Central e Sul de São Paulo (BELASQUE JUNIOR et al., 2009; FUNDECITRUS, 2017a).

Tabela 2. Retrato da citricultura em São Paulo de 2007 a 2015. O monitoramento começou 3 anos após a primeira detecção de HLB no município de Araraquara. Fonte: CDA, 2018.

Data/Base	Período/Base		Total de Propriedades	Total de Produtores	Nº de Plantas Existentes	Nº de Plantas Eliminadas por HLB	Total de Talhoes					
	Semestre	Ano										
-	2º	2007	14.614	-	-	-	128.881.554	-	763.745	-	-	-
-	1º	2008	17.966	22,9%	-	-	177.562.465	37,8%	939.033	23,0%	-	-
-	2º	2008	19.207	6,9%	-	-	212.635.779	19,8%	1.341.018	42,8%	-	-
-	1º	2009	23.000	19,7%	-	-	226.050.122	6,3%	1.983.963	47,9%	-	-
-	2º	2009	22.129	-3,8%	-	-	234.420.345	3,7%	3.006.662	51,5%	-	-
-	1º	2010	19.184	-13,3%	-	-	245.265.748	4,6%	3.173.907	5,6%	99.903	-
-	2º	2010	18.274	-4,7%	-	-	231.470.909	-5,6%	1.671.507	-47,3%	95.733	-4,2%
-	1º	2011	19.066	4,3%	-	-	240.779.372	4,0%	2.293.523	37,2%	98.631	3,0%
10/03/2016	2º	2011	18.675	-2,1%	12.993	-	231.542.677	-3,8%	3.225.647	40,6%	97.038	-1,6%
10/03/2016	1º	2012	17.913	-4,1%	12.489	-3,9%	229.171.336	-1,0%	3.520.468	9,1%	92.746	-4,4%
11/03/2016	2º	2012	17.062	-4,8%	11.902	-4,7%	219.242.825	-4,3%	4.178.026	18,7%	88.884	-4,2%
11/03/2016	1º	2013	15.738	-7,8%	11.110	-6,7%	211.643.039	-3,5%	3.941.213	-5,7%	81.848	-7,9%
11/03/2016	2º	2013	14.454	-8,2%	10.279	-7,5%	203.773.888	-3,7%	3.845.081	-2,4%	74.848	-8,6%
11/03/2016	1º	2014	13.579	-6,1%	9.706	-5,6%	201.464.291	-1,1%	2.369.282	-38,4%	69.823	-6,7%
11/03/2016	2º	2014	13.120	-3,4%	9.381	-3,3%	196.303.490	-2,6%	2.411.612	1,8%	68.358	-2,1%
14/03/2016	1º	2015	12.284	-6,4%	8.831	-5,9%	193.652.025	-1,4%	2.144.313	-11,1%	64.559	-5,6%
14/03/2016	2º	2015	11.222	-8,6%	8.140	-7,8%	187.127.641	-3,4%	1.792.495	-16,4%	60.735	-5,9%

Fonte: CDA, 2018.

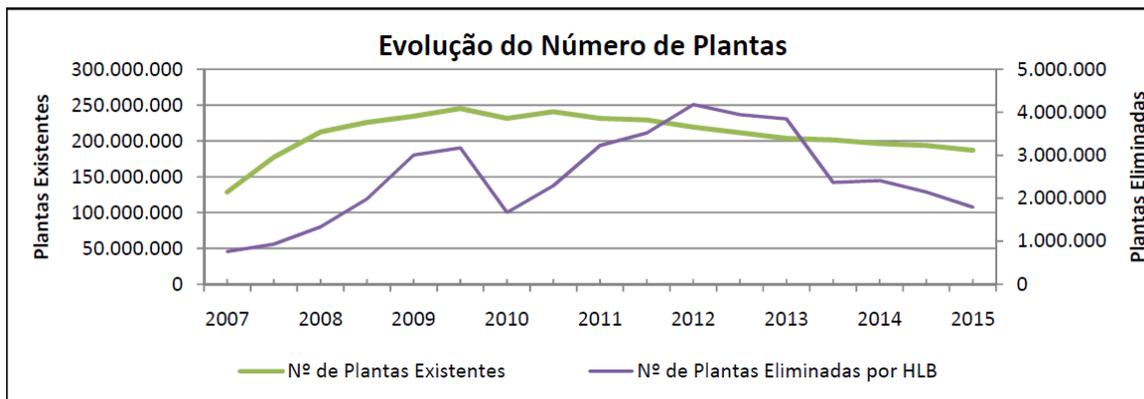


Figura 2. Número de plantas sintomáticas para o HLB. Mais de 40 milhões de plantas erradicadas no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro no período de 2007 a 2015. A partir de 2013, o número de remoções começa a reduzir. Fonte: CDA, 2018.

Apesar do alto índice de remoções de plantas (Fig. 2), a estimativa de safra 2017/2018 para o cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro revelou aumento de 49% em comparação com a safra anterior, quando a estimativa foi de 187 milhões de caixas. As 364,47 milhões de caixas da safra atual constituem um volume de produção menor se comparadas com as safras de 2011/2012 (416 milhões de caixas) e 2012/2013 (387 milhões de caixas) (FUNDECITRUS, 2017b).

1.2.1 Citricultura na Bahia

O estado da Bahia, depois de quase três décadas ocupando o segundo lugar no *ranking* nacional da produção citrícola, passou a ocupar o quarto lugar em 2018, mas continua na liderança da produção de citros na região Nordeste (IBGE, 2019). No entanto, esse cenário pode ser seriamente comprometido se a doença mais séria dos citros, o HLB, for introduzida.

A Bahia possui duas principais regiões produtoras de citros, com o destaque para a produção de laranja doce (Fig. 3). O Litoral Norte constitui a maior região produtora, concentrando 70% da produção, sendo o município de Rio Real detentor de 31% dos 68.000 ha plantados, e o maior crescimento da produção (RAMOS et al., 2014). A região do Recôncavo detém 25% da área plantada, com destaque para o município de Cruz das Almas, que ocupa 3.350 ha com o cultivo de citros (MAPA, 2016). Outras regiões como

Agreste de Alagoins e mais recentemente a região Oeste também produzem a fruta (ADAB, 2017).

A Chapada Diamantina vem se mostrando promissora na produção cítrica a exemplo da tangerina ‘Ponkan’, que apresenta qualidade superior àquelas produzidas em outras regiões do país. Isso é devido, em parte, às condições climáticas locais e ao tipo de solo. A região tem aptidão para produção de frutas do tipo “mesa”, que possuem maior valor de mercado agregado (PASSOS; ALMEIDA; SOARES-FILHO, 2009).



Figura 3. Mapa das duas principais regiões produtoras de citros da Bahia. Litoral Norte e Recôncavo em cinza. Retirado de Ramos et al. (2014) apud Centro, 1994

A receita para 2016 com a comercialização de laranja foi de R\$ 413 milhões. Esse valor gerou em torno de 21.000 empregos diretos, mas o número total de pessoas envolvidas chegou a 84.000. Dos aproximadamente 15.000 produtores, cerca de 80% são

praticantes da chamada agricultura familiar, que geralmente apresentam menor produtividade por área (16 t/ha), reflexo da baixa tecnificação e mecanização da produção. Em grandes propriedades, essa produção pode alcançar 35 t/ha. O destino de maior parte da produção é para o varejo (consumo *in natura*) e outra parte para indústria em Sergipe. Os mercados consumidores são Sergipe, São Paulo, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Piauí (MAPA, 2016; ADAB, 2017). A relação fruto para consumo *in natura*/fruto para processamento pode ser invertida a depender da qualidade da safra. Os pequenos produtores e os produtores familiares recebem menos com a produção devido à menor qualidade quando comparados aos grandes produtores.

O Estado apresenta características favoráveis para crescimento da citricultura, principalmente por ser área livre de doenças como o HLB e o cancro cítrico, condições de solo e de clima favoráveis, facilidade para escoamento da produção e proximidade com a EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, centro de pesquisa que pode fornecer suporte tecnológico quando necessário (MAPA, 2016).

A Bahia, nos últimos três anos, vem apresentando queda na quantidade média produzida por hectare (Tab. 3) (IBGE, 2019). De acordo com Passos (2012), isso se deve ao baixo nível de aprimoramento produtivo pelo agricultores familiares. Ainda segundo o autor, a falta de aprimoramento se refere principalmente ao uso de variedades tradicionais dadas pela combinação ‘Pera’ sobre o limoeiro ‘Cravo’.

Estados como São Paulo e Paraná, apesar de conviverem com doenças severas como o HLB e o cancro cítrico (FUNDECITRUS, 2017a), conseguiram alcançar produtividade média de mais de 30 t/ha nos últimos 2 anos do registro (Tab. 3) (IBGE, 2019).

Tabela 3: Diferença na quantidade produzida por hectare nos cinco estados maiores produtores de laranja do país.

Estado	Ano - kg/ha					
	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Sergipe	14.581	11.996	11.839	11.607	11.277	11.087
Bahia	15.920	15.741	16.472	15.283	15.044	13.379
Minas Gerais	23.626	22.689	21.901	22.428	23.045	24.766
São Paulo	28.433	29.187	28.988	29.758	31.908	33.146
Paraná	32.479	33.935	36.123	35.845	30.156	36.249

Retirado e modificado de IBGE (2019).

A citricultura do estado da Bahia é mais vulnerável do que aquela praticada em São Paulo por ser uma atividade agrícola predominantemente da agricultura familiar, praticada em pomares pequenos (10 ha em média), com produtividade máxima de até 16 t/ha (OLIVEIRA et al., 2013). Caso o HLB seja introduzido no Estado, esse fato provavelmente dificultará o manejo em três frentes: (i) aplicação de inseticida várias vezes durante o ano para combate do vetor, (ii) remoção de plantas contaminadas e (iii) replantio com mudas saudáveis (BOVÉ, 2012), uma vez que a aderência significativa dos produtores seria um agravante pelos custos das inspeções do *D. citri* e das aplicações de inseticidas, inspeções e remoções de árvores sintomáticas em idade produtiva. Sendo o HLB introduzido na Bahia e as medidas de controle não forem aplicadas, em um cenário de 20 anos, os prejuízos poderiam superar R\$1,8 bilhão (OLIVEIRA et al., 2013).

Por outro lado, estudos mostraram que as áreas mais propícias para a disseminação do HLB no mundo se concentram na zona tropical do globo, coincidentemente onde estão localizados os maiores produtores de laranja doce (NAROU EI-KHANDAN et al., 2016). Ainda de acordo com este estudo, praticamente todo o território brasileiro oferece alta adequabilidade climática para o estabelecimento do HLB, além de ampla distribuição do vetor. Em uma escala de 0 a 1, a grande parte do território nacional ficou em níveis de 0,61 a 1 de probabilidade de ocorrência. As duas principais regiões produtoras da Bahia, litoral norte e recôncavo, aparecem com alto risco de ocorrência da doença (Fig. 4).

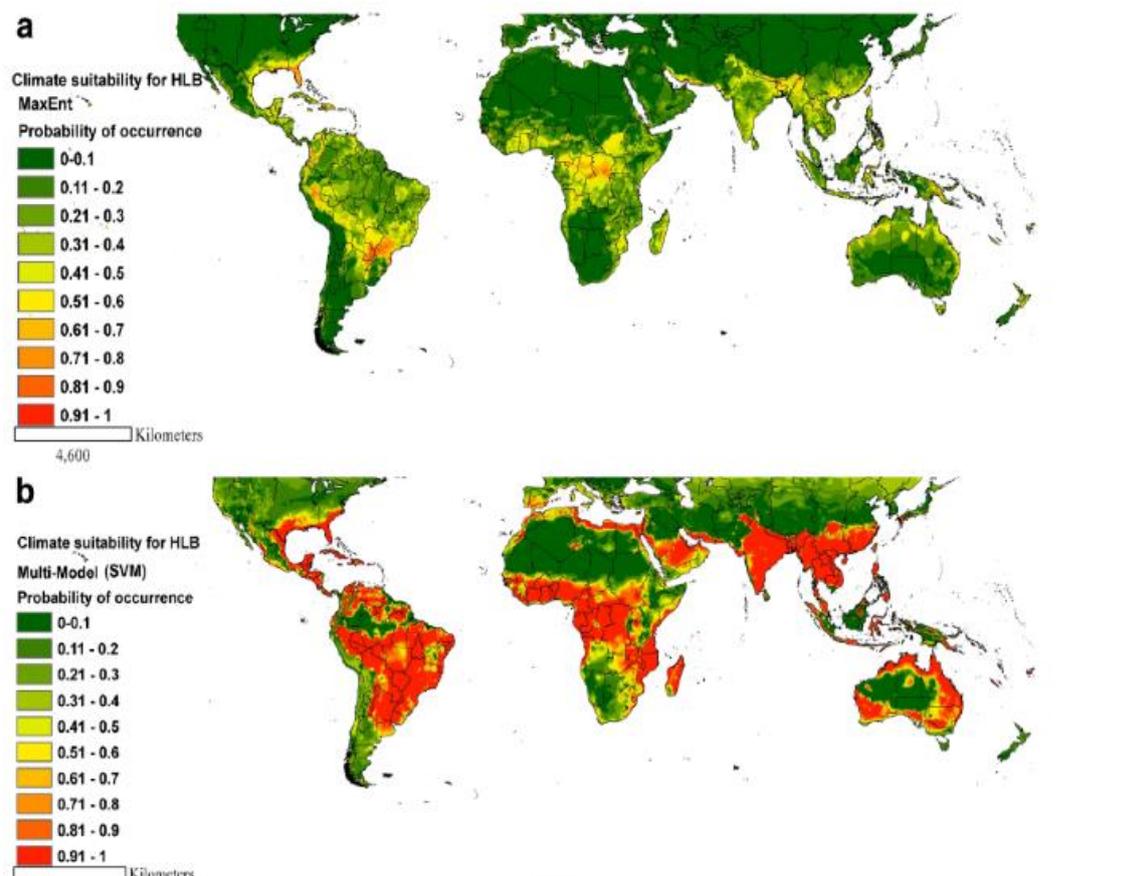


Figura 4. Probabilidade de novas ocorrências do HLB no mundo. A faixa tropical do globo oferece maior adequabilidade para novas ocorrências e instalação da doença. A presença do vetor nessas áreas é uma forte variável, que eleva o risco de ocorrência. Retirado de Narouei-Khandan et al. (2016).

Dessa forma, os primeiros esforços devem ser para evitar a entrada do HLB na Bahia e conseqüente disseminação não apenas nos pomares baianos, mas de outros territórios do Nordeste que se destacam na produção de citros como Sergipe (IBGE, 2019). No entanto, paralelo às medidas de barreira à entrada da doença, estudos de entendimento do comportamento do inseto nas condições climáticas locais e sobre as principais variedades de citros plantadas na Bahia devem ser conduzidos.

1.3 O Huanglongbing dos citros

A doença é causada por bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter* pertencentes ao:

Filo: Proteobacteria

Classe: Alphaproteobacteria

Ordem: Rhizobiales

Família: Phyllobacteriaceae

Gênero: *Candidatus Liberibacter*

As espécies são nomeadas de acordo com o continente onde foram descritas pela primeira vez: *Candidatus Liberibacter africanus*, no continente africano; *Ca. L. asiaticus*, no continente asiático; *Ca. L. americanus* no continente americano; e *Ca. L. caribbeanus*, restrita à Colômbia (COLETTA-FILHO, 2004; TEIXEIRA et al., 2005a; BOVÉ, 2006; KEREMANE et al., 2015).

A espécie africana é restrita ao continente onde foi primariamente detectada, já as espécies asiática e a americana se encontram em outras regiões citrícolas além do continente de origem (BOVÉ, 2006). A forma africana da doença é transmitida pelo psílídeo *Trioza erythrae* Del Guercio 1918, (Hemiptera, Triozidae) e as formas asiática e americana, pelo psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama 1908 (Hemiptera: Liviidae). Embora de menor importância, a disseminação também ocorre pela propagação vegetativa de material contaminado como borbulhas. Experimentalmente, as bactérias *Ca. L. africanus* e *Ca. L. asiaticus* também podem ser transmitidas dos citros para a planta hospedeira *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. por meio da planta parasita *Cuscuta campestris* Yunck. Na *C. roseus*, conhecida popularmente como vinca-de-madagáscar as bactérias causadoras do HLB alcançam altos títulos, o que levou a sua utilização preferencial para estudos em Microscopia Eletrônica da bactéria, além de facilitar o estudo taxonômico, visto que as bactérias causadoras do HLB ainda não foram cultivadas em meio de cultura estéril (AUBERT, 1987; BOVÉ, 2006; LOPES & FRARE, 2008; LOPES et al., 2009).

O HLB foi relatado há mais de um século na Ásia e vem trazendo prejuízo à indústria citrícola principalmente da Índia, Filipinas, China, Brasil e Estados Unidos da América, África do Sul, gerando ônus para a produção e desemprego. Apesar de sua existência secular, os primeiros relatos de sintomas datam de 1919 na China, quando recebeu o nome *greening* pelo fato de os frutos das plantas afetadas permanecerem verdes mesmo após caídos. Embora o HLB seja amplamente conhecido como *greening*, o nome mais apropriado é *huanglongbing*, por ter sido o primeiro termo usado para denominar a doença em chinês, que em português significa *doença do ramo amarelo* (BOVÉ, 2006; TEIXEIRA et al., 2010).

Até 2004, o HLB estava associado a *Ca. L. africanus* e a *Ca. L. asiaticus*. No entanto, em março de 2004, Coletta-Filho et al. (2004) relataram sintomas de HLB em pomares no município de Araraquara, região citrícola central do estado de São Paulo, no Brasil. Parte do material sintomático coletado para realização do diagnóstico via PCR mostrou resultado negativo para as *Ca. Liberibacter* spp. já conhecidas para citros. Como os ramos coletados apresentavam os sintomas característicos para HLB, suspeitou-se que uma nova bactéria estaria associada ao HLB em Araraquara. A investigação prosseguiu com a amplificação do rDNA 16S de procariotos com o uso dos *primers* universais fD1 e rP1. Os resultados acusaram a existência de uma nova espécie de α -proteobactéria restrita ao floema, a *Ca. Liberibacter americanus* (COLETTA-FILHO, 2004; TEIXEIRA et al., 2005a, 2005b, 2005c).

Após a primeira detecção em Araraquara, outros municípios da região Central de São Paulo também relataram sintomas do HLB nos pomares, o que, somado à severidade dos sintomas encontrados, à ocorrência do inseto vetor há mais de 60 anos e ao grande número de municípios acometidos (35), sugere que sua introdução na região tenha ocorrido cerca de 10 anos antes da sua detecção (TEIXEIRA et al., 2005b, 2005c; BOVÉ, 2006).

Em 2005, sete anos após o primeiro relato da presença do inseto vetor, *D. citri* nos Estados Unidos, foi registrado o primeiro relato de HLB na Flórida, estado que domina a produção citrícola daquele país. Nos anos subsequentes, os estados da Geórgia, Louisiana, Carolina do Sul, além de Porto Rico e as Ilhas Virgens dos Estados Unidos relataram a presença de árvores sintomáticas nos pomares (HALBERT & MANJUNATH, 2004; HALBERT, 2005; USDA, 2014).

Nos anos seguintes, outros países americanos também detectaram a presença de *Ca. L. asiaticus* no vetor ou em plantas sintomáticas: Cuba em 2007 (LUIS et al., 2009), República Dominicana em 2008 (MATOS; HILF; CAMEJO, 2009). Em 2010, Las Organizaciones Nacionales de Protección a las Plantas (ONAPP) notificaram a presença de *Ca. L. asiaticus* em amostras de *D. citri* coletadas nos municípios de Mazatlán, Escuinapa e Sinaloa, no México (ONAPP, 2010). Em seguida, uma nova espécie foi encontrada em amostras do vetor *D. citri* e de laranja doce (*Citrus sinensis*) coletados na parte Norte da Colômbia, próximo ao Mar do Caribe e, por isso, recebeu o nome de *Candidatus Liberibacter caribbeanus*. Pouco se conhece sobre a nova bactéria, inclusive

se as plantas infectadas apresentam sintomas como aqueles já conhecidos para o HLB (KEREMANE et al., 2015).

As espécies de *Ca Liberibacter* spp. presentes no Brasil foram classificadas de acordo com a tolerância ao calor. Dessa forma, *Ca Liberibacter americanus* como termossensível e *Ca Liberibacter asiaticus* como termotolerantes (LOPES et al., 2009; GASPAROTO et al., 2012). A tolerância ao calor explica, em parte, a prevalência da *Ca Liberibacter asiaticus* nas áreas afetadas do Brasil (LOPES et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2010). Nessa linha de raciocínio, caso a introdução do HLB ocorra na Bahia, essa bactéria provavelmente será mais comum em testes diagnósticos do que a *Ca Liberibacter americanus*.

1.4 Sintomas do Huanglongbing

As bactérias *Candidatus Liberibacter* spp. são parasitas restritas do floema dos citros, onde podem se aglomerar e causar obstrução, dificultando a livre circulação de nutrientes na planta. A obstrução ainda pode ocorrer pelo acúmulo de amido nas placas clivadas, que provoca sintomas foliares semelhantes à deficiência mineral de magnésio, ferro e zinco, que progridem com o passar do tempo até senescência da planta (BOVÉ, 2006).

O HLB caracteriza-se pela presença dos seguintes sintomas: mosqueado das folhas (Fig. 5A, 5B), que se assemelha à deficiência mineral; redução no tamanho do fruto e maturação irregular (Fig. 5C); abortamento das sementes e degeneração do floema, visto principalmente nos feixes vasculares da columela com coloração alaranjada (Fig. 5D) (BOVÉ, 2006; TEIXEIRA et al., 2010).

Os sintomas iniciais do HLB aparecem com maior frequência no final do verão até o início da primavera (fevereiro a setembro) no Brasil. Isso se deve às temperaturas amenas do inverno e do outono, que favorecem a colonização das diferentes partes das plantas de citros tanto por *Ca. L. asiaticus*, quanto por *Ca. L. americanus*. Nas estações mais quentes do ano, a menor temperatura do solo em relação àquela observada na copa pode tornar as raízes dos citros reservatórios do patógeno, que retorna a colonizar as plantas sistemicamente quando as condições climáticas voltam a ser favoráveis (FUNDECITRUS, 2009; GASPAROTO et al., 2018).

Os sintomas apresentados pelas plantas afetadas têm uma evolução que vai de leve ou moderada à severa, de acordo com as condições nutricionais da planta, variedade e estação do ano. Estes sintomas podem ser facilmente confundidos com sintomas apresentados por outras doenças, como CVC e a Gomose (FUNDECITRUS, 2009). Como as bactérias colonizam o floema das plantas, os sintomas surgem primariamente como resultado de um desequilíbrio no metabolismo da planta hospedeira, provocado pela diminuição ou interferência na translocação de fotoassimilados (TEIXEIRA et al., 2010; MANN et al., 2010; RAIOL-JUNIOR, 2017).



Figura 5. A) Sintomas do huanglongbing em citros. Planta apresentando amarelecimento das folhas e queda dos frutos; B) Ramo apresentando mosqueado aparentemente em estado inicial (seta); C) Frutos assimétrico com tamanho reduzido; D) Columela deformada com floema de coloração alaranjada e semente aparentemente abortada (setas). Foto: A-C) Silva, 2016; D) Fundecitrus, 2009.

Dessa forma, plantas afetadas geralmente apresentam um ou poucos ramos com folhas amareladas (que podem evoluir para toda a copa), que caracteriza o “mosqueado” – a mesma folha apresenta-se com partes amarelas e verdes, sem delimitação clara entre essas duas cores, o que se assemelha a deficiência de manganês, ferro ou zinco. Além disso, as folhas podem apresentar nervuras espessadas e escuras que dão um aspecto corticoso. Com o avanço da doença, pode haver morte de ponteiros (LOPES et al., 2008, 2009; FUNDECITRUS, 2009). Mann et al. (2012) constataram não só a deficiência desses nutrientes, mas também de nitrogênio, fósforo e magnésio. No entanto, para potássio e boro, as concentrações foram altas.

As folhas de plantas sintomáticas apresentam-se curvadas, de tamanho reduzido com nervuras espessadas e escuras, de fácil destacamento do ramo. Os frutos de ramos sintomáticos geralmente apresentam tamanho reduzido, assimetria, maturação incompleta e irregular, pois normalmente o amadurecimento se inicia na região estilar. Pode haver queda prematura dos frutos nesses ramos. As sementes geralmente são inviáveis ou apresentam tamanho reduzido (FUNDECITRUS, 2009; BELASQUE JÚNIOR et al., 2009; DAGULO et al., 2010; SHEN et al., 2013).

Em plantas sob condições de laboratório, o amarelecimento das folhas apicais similar à deficiência de manganês e ferro aparece aproximadamente de quatro a cinco meses depois da inoculação ou poda. O mosqueado e a clorose aparecem mais tarde, em torno do sexto mês (LOPES et al., 2009).

A deposição de amido nas células parenquimáticas do floema, que causa obstrução à passagem de fotoassimilados, pode ser observada em plantas sintomáticas. Fan et al. (2013) verificaram a susceptibilidade de uma variedade de limoeiro rugoso (*Citrus jambhiri* Lush) e uma de laranja doce, previamente indicadas como tolerante e susceptível ao HLB, respectivamente, por Folimonova et al. (2009). Os autores perceberam que a laranja doce sofre muito mais danos no floema do pecíolo foliar e das raízes secundárias do que o limoeiro rugoso.

Frutos de árvores infectadas perdem seu valor comercial pela redução no valor de °Brix, aumento da acidez, sabor amargo e redução no tamanho. Consequentemente, perdem também o valor tanto para consumo *in natura*, quanto para o processamento industrial, embora a baixa qualidade de frutos sintomáticos seja diluída quando misturados aos saudáveis (BALDWIN et al., 2010; DAGULO et al., 2010). Plantas infectadas podem tornar-se improdutivas em dois a cinco anos e plantas jovens nem

chegam a produzir. A perda completa de pomares pode acontecer em até 13 anos a depender da idade e variedade das plantas (BOVÉ, 2006).

1.5 O vetor *Diaphorina citri*

O psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Sternorrhyncha: Liviidae – Fig. 5), transmissor do HLB, é relatado no Brasil desde 1942 (BOVÉ, 2006), 62 anos antes da primeira detecção do HLB em São Paulo. Um período amplo, se comparado com o cenário da Flórida, Estados Unidos, onde a presença do *D. citri* foi relatada em 1998 por Halbert (1998), apenas sete anos antes da primeira detecção do HLB (HALBERT, 2005).

Atualmente o psílídeo se encontra disseminado pelas principais regiões citrícolas brasileiras. Marsaro-Júnior et al. (2014) relataram a presença do inseto sobre plantas de *Citrus limon* (L.) e *Murraya paniculata* (L.) Jack no município de Boa Vista, Roraima. Moraes; Blanco; Noronha (2017) e Nascimento; Silva; Laranjeira (2015) registraram a presença de *D. citri* nos municípios de Belém, Castanhal, Capanema e Capitão Poço/Pará, vivendo apenas sobre plantas de murta. Farias et al. (2018) relataram o psílídeo para Sergipe, um dos estados do Nordeste que se destaca no cenário citrícola nacional como quinto maior produtor de citros (IBGE, 2019). A presença do psílídeo também foi relatada para o estado do Amazonas, vivendo sobre plantas de murta, e na Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Sul foi relatada em pomares cítricos (NASCIMENTO; SILVA; LARANJEIRA, 2015).

As fêmeas desse inseto colocam até 800 ovos de coloração amarelada (Fig. 6A). Seu ciclo pode durar até 15 dias nas estações mais quentes ou até 40 dias no inverno (FUNDECITRUS, 2018), embora o tipo de hospedeiro também tenha influência nessa duração (ALVES; DINIZ; PARRA, 2014). As ninfas, de cor amarelo-alaranjada, apresentam cinco instares (Fig. 6B), alimentam-se da seiva de brotações jovens e eliminam uma substância doce e esbranquiçada ('honey dew') (Fig. 6C), que facilita o desenvolvimento do fungo causador da fumagina. A fumagina reduz a capacidade fotossintética das plantas (FUNDECITRUS, 2009; YAMAMOTO; ALVES; BELOTI, 2014). Assim como as ninfas, os adultos podem passar despercebidos aos olhos menos

treinados (Fig. 6D). Medem de 2 a 3 mm de comprimento, possuem asas transparentes com bordas escuras (FUNDECITRUS, 2009).

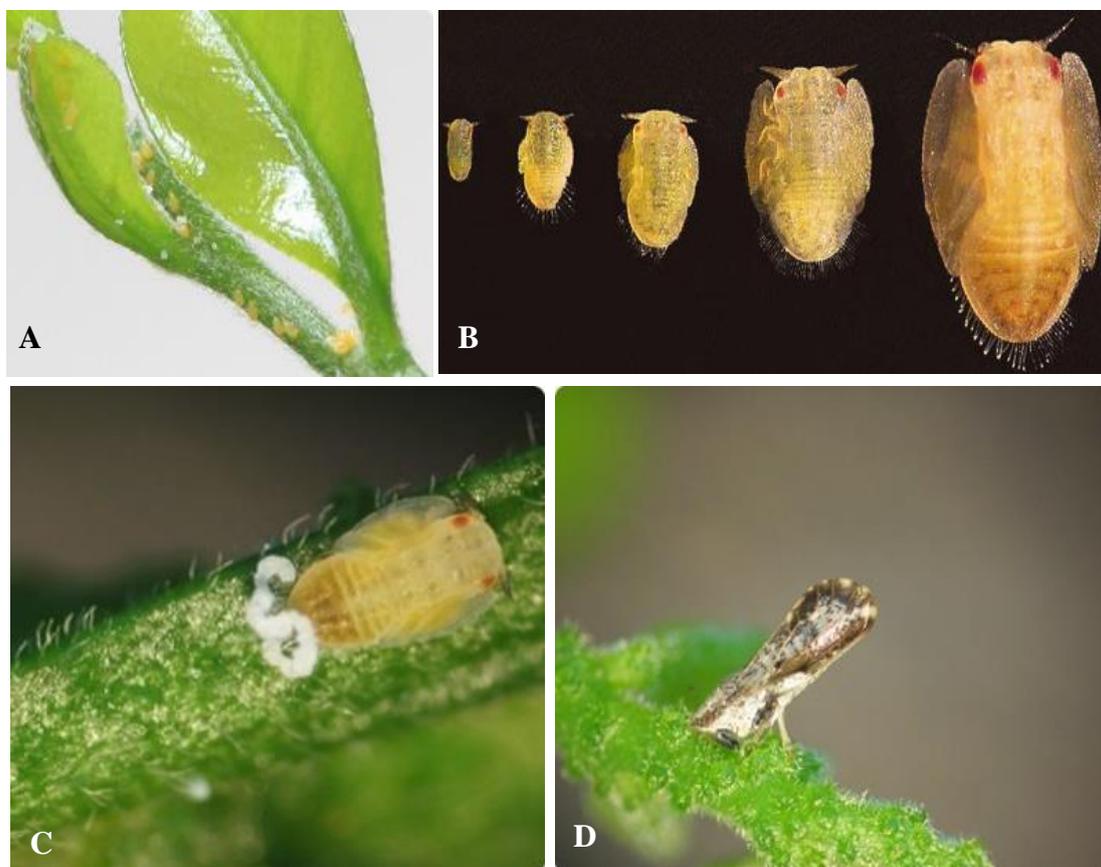


Figura 6. *Diaphorina citri*. A) Ovos. B) Ninfas recém-eclodidas, de coloração amarelada C) Ninfa em quarto instar secretando a substância açucarada 'honey dew'. D) Psílideo adulto. A-C: Fundecitrus 2016; D: Hall, 2007.

Os machos possivelmente são atraídos por feromônios sexuais liberados pelas fêmeas (WENNINGER, STELINSKI, HALL, 2008). Apesar de se alimentarem em ramos (folhas) maduros, assim como as ninfas, possuem preferência pelos ramos mais novos. Quando se alimentam, assumem uma posição característica formando um ângulo de 45° em relação à superfície da folha, o que favorece o contato do aparato bucal com o substrato (GARZO et al., 2012).

Algumas plantas da família Rutaceae (principalmente aquelas do gênero *Citrus*), são citadas como hospedeiras de *D. citri*, mas notadamente sua preferência é pela planta conhecida como murta de cheiro ou falsa murta (*Murraya paniculata*) tanto para alimentação, ovoposição e desenvolvimento ninfal. Espécies como *Poncirus trifoliata* L.

e *Bergera koenigii* L. são consideradas hospedeiras ocasionais do inseto (AUBERT, 1987; PATT & SÉTAMOU, 2010; HALL et al., 2012).

Alves; Diniz; Parra (2014) indicaram que a murta e a variedade de laranja doce ‘Valência’, uma das mais plantadas em São Paulo (FUNDECITRUS, 2017b; CDA, 2018) oferecem melhor condição para o desenvolvimento do inseto, principalmente quanto à taxa de sobrevivência e viabilidade dos ovos. Ainda segundo os autores, os resultados indicam que essa variedade deve ser evitada nas bordas dos pomares, já que maiores populações do psíldeo se concentram também nas bordas dos pomares.

Conforme Alves (2017), a variedade Valência foi mais atrativa à *D. citri* em relação as outras variedades ‘Ponkan’, limoeiro ‘Siciliano’, ‘Pera’ e ‘Hamlin’. Em relação à viabilidade ovo/adulto, a combinação do porta enxerto tangerina ‘Sunki’ com a copa ‘Valência’ apresentou maior razão, se mostrando-se mais adequada, com índice de 74,21%. Já o comportamento alimentar foi similar em todas as variedades do estudo sob a técnica de “Electrical Penetration Graph”.

Wu et al. (2015) observaram que a qualidade nutricional do hospedeiro e a disponibilidade de novas brotações é fator determinante para escolha final do psíldeo, possivelmente porque a presença de brotos influencia na ovoposição. O *status* nutricional e sanitário da planta também influencia na escolha final psíldeo (MANN et al., 2012).

1.6 Manejo do Huanglongbing

O controle da doença é muito difícil nos pomares. Vários antibióticos foram testados, porém foram ineficazes em combater o patógeno, pois os sintomas do HLB reaparecem meses mais tarde (BOVÉ, 2006; HU; JIANG; WANG, 2017). Alguns antibióticos experimentados não foram eficientes em eliminar *Ca. L. asiaticus*, outros não apresentaram efeitos quando administrados isoladamente ou ainda apresentaram fitotoxicidade. Nesses casos, apenas os títulos da bactéria foram diminuídos, mas as plantas tratadas continuavam nos pomares funcionando como fonte de inóculo. O manejo HLB com o uso de coquetel de nutrientes e a não remoção de plantas afetadas levaram a altíssimos índices de incidência do HLB nos pomares da Flórida. Estima-se atualmente que esse índice seja maior que 90% (GOTTWALD et al., 2012; FUNDECITRUS, 2017a; HU; JIANG; WANG, 2017).

Outros fatores que contribuem para a dificuldade no combate da doença são: (i) falta de sintomas específicos; (ii) a latência prolongada que varia geralmente de três meses a até um ano; (iii) a distribuição irregular da bactéria nas plantas de citros; (iv) a influência do ambiente (especialmente a temperatura) na expressão dos sintomas, na multiplicação e na translocação do patógeno; (v) a provável variação na tolerância da bactéria na planta hospedeira e no vetor; e (vi) a natureza fastidiosa da bactéria (JAGOUÉIX; BOVÉ; GARNIER et al., 1994; BOVÉ, 2006; MANJUNATH et al., 2008; RAIOL-JUNIOR, 2017).

No Brasil, o manejo é realizado por meio de uso de material propagativo sadio, controle do inseto vetor com inseticida e eliminação e/ou substituição de plantas afetadas do pomar. Entretanto, o manejo com aplicação de inseticidas, remoção de plantas sintomáticas e replantio com mudas sadias são eficientes apenas em locais de grandes talhões (BELASQUE-JUNIOR et al., 2010b). Nas regiões onde predominam pequenos produtores, deve-se formar unidades de pelo menos 500 ha para tornar o controle o mais viável possível, como assinalado por Bové (2012).

Além disso, ações como o monitoramento de fronteira e da comercialização de plantas de murta de cheiro, o controle de populações do *D. citri* e a erradicação de pomares abandonados (improdutivos) devem fazer parte do plano de manejo (OLIVEIRA et al., 2013; MAPA, 2016). Para essa última medida, um esforço governamental seria indispensável e apenas custaria 2 a 3% dos tributos que a cadeia citrícola rende. Essas ações devem evitar perdas futuras bem maiores (MAPA, 2016). O controle do HLB é mais efetivo se for iniciado logo após a detecção, antes de o nível de contaminação atingir 8% das árvores (BELASQUE-JUNIOR et al., 2010b; BASSANEZI et al., 2010; BOVÉ, 2012). E se ocorrer, em blocos com contaminação acima de 28%, todas as plantas devem ser eliminadas, isso porque números altos de incidência de plantas sintomáticas indicam um número bem maior de plantas afetadas ou até mesmo todas as plantas do pomar. Olhos treinados são importantes para a detecção do inseto vetor, mas também serão importantes na detecção de eventuais sintomas do HLB para tomada de decisões cabíveis o mais rápido possível (FUNDECITRUS, 2018).

Uma alternativa para o controle do HLB é a obtenção de variedades tolerantes ou resistentes, que mantenham níveis aceitáveis de produtividade. A tolerância ao HLB foi reportada em um acesso de *Citrus latipes* e em espécies de cinco gêneros relacionados a *Citrus*: *Aegle marmelos* (L.), *Aeglopsis chevalieri* (Swingle), *Balsamocitrus dawei*

(Stapf.), *Microcitrus australis* (Planch.) e *Murraya*. Para essas plantas, um quadro de recuperação e indetectabilidade da *Ca. L. asiaticus* foi observado (GODFREY et al., 2017). Outro estudo conduzido com 65 acessos de *Citrus* sp. e 33 acessos de 20 gêneros relacionados a citros propagados por sementes e exposto a condições naturais de transmissão do HLB avaliou parâmetros como títulos da bactérias, sintomas e recuperação após infecção. Os resultados indicaram que os acessos provenientes do gênero *Citrus* foram os mais suscetíveis, além disso, foram os únicos que apresentaram morte desde o segundo ano de seis anos de experimento (RAMADUGU et al., 2016).

O controle das populações da praga é rotineiramente realizado com o uso de inseticidas, empregados geralmente de forma alternada, para, assim, reduzir o desenvolvimento de resistência. Para evitar gastos, é importante a detecção e monitoramento do *D. citri* nos pomares. Em São Paulo, as maiores populações desse inseto ocorrem no final do outono e o final do verão, quando o índice de novas brotações alcança seu auge (FUNDECITRUS, 2009).

Alternativamente aos inseticidas pode ser usado o controle biológico pelo ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) (MORAES; BLANCO; NORONHA, 2017; CHAVEZ et al., 2017; FARIAS et al., 2018). As fêmeas do *T. radiata* parasitam ninfas de *D. citri* do terceiro ao quinto ínstares. Quando os adultos emergem, abrem um orifício circular na porção dorsal da ninfa, que é característico da espécie. Além do parasitismo, as fêmeas de *T. radiata* ainda se alimentam de ínstares iniciais de *D. citri* (primeiro, segundo e terceiro) e dos ovos (KONDO et al., 2012; MORAES; BLANCO; NORONHA, 2017). O fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosea* Wise (Hypocreales: Cordycipitaceae) também se mostrou eficiente no controle do *D. citri* em condições de laboratório, o qual mostrou grande potencial disseminativo, que pode alcançar mortalidade de até 100% do psilídeo em 8 dias (AVERY et al., 2009).

O controle comportamental de *D. citri* é outra linha de manejo do HLB que se baseia no estudo do efeito de plantas hospedeiras ou não hospedeiras sobre o comportamento do inseto. Algumas espécies são descritas como atrativas, a exemplo da falsa murta (*Murraya paniculata*) ou repelentes ao vetor como *Poncirus trifoliata* e estas características parecem estar relacionadas à presença de substâncias como os composto orgânicos voláteis: D-limoneno (um dos mais abundantes nas plantas cítricas), β -

cariofileno, ocimeno, β -pineno e β -mirceno e salicilato de metila (MeSA) (MANN et al., 2012; ANDRADE et al., 2016).

1.7 Compostos Orgânicos Voláteis (COV's)

Os compostos orgânicos voláteis são substâncias químicas que podem ser produzidas, armazenadas e liberadas pelas plantas, mas também por outros organismos como as bactérias e fungos, além daqueles formados por reações na natureza. Aqueles produzidos pelas plantas se encaixam nas seguintes categorias: monoterpenos, sesquiterpenos, álcoois, ácidos, aldeídos, cetonas e ésteres. Esses compostos são armazenados nas plantas em diferentes órgãos como as folhas e frutos (HARLEY et al., 1998; SOUZA et al., 2002).

As plantas liberam COV's de forma induzida quando são atacadas por pragas ou quando sofrem danos mecânicos. Signoretti (2008) constatou que as plantas de milho liberam os COV's apenas em condições que a praga *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepdoptera: Noctuidae) a forrageia ou quando o dano mecânico provocado (corte de parte da lâmina foliar) foi tratado com regurgito da lagarta (*S. frugiperda*), evidenciando que a presença do herbívoro é indispensável para desencadear a liberação dos compostos. As plantas ainda podem liberar compostos que atraem inimigos naturais que controlam a população da praga em questão (interação tritrófica) (OLIVEIRA, 2014).

Por outro lado, as plantas ainda produzem compostos constitutivos, que podem ser liberados na superfície dos tecidos vegetais ou presentes em altas quantidades em glândulas especializadas e nos tricomas que são usados para afastar herbívoros (PARÉ & TUMLINSON, 1999).

Dessa forma, grupos de pesquisa ao redor do mundo e também no Brasil vêm estudando os compostos liberados pelas plantas cítricas que podem influenciar o comportamento do inseto transmissor do HLB. Além de extratos vegetais, padrões comerciais têm sido testados tanto isoladamente quanto combinados em bioensaios com o uso de sistema de olfatométrica em “Y” ou com arena de quatro vias (WENNINGER; STELINSKI; HALL, 2009b; NORONHA-JUNIOR, 2010; ONAGBOLA et al., 2011; MANN et al., 2012; SIGNORETTI, 2014; KUHNS et al., 2016; FANCELLI et al., 2017).

Kuhns et al. (2016) testaram a ação de repelência de óleos do abeto canadense [*Picea glauca* (Moench) Voss], citronela chinesa (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) e de *Litsea cubeba* Persoon contra o *D. citri*. Apenas o abeto canadense se mostrou repelente, entretanto, segundo os autores, o emprego desse óleo vegetal é economicamente inviável para uso como ferramenta de controle do *D. citri*. Os principais compostos relacionados à repelência do óleo de abeto canadense ao psilídeo foram α -pineno, 2- β -pineno, δ -3-careno e canfeno.

Os COV's possuem efeito sinérgico e dependente da dose (PATT & SÉTAMOU, 2010). O COV linalol foi indicado como possível atrativo ao *D. citri*, mas o D-limoneno pode ser atrativo em dose específica (PATT & SÉTAMOU, 2010; MANN et al., 2012). Por sua vez, o efeito do β -cariofileno é controverso (SILVA et al., 2016). Andrade et al. (2016) encontraram fitol, (Z)- β -ocimeno e β -elemeno entre as variedades de citros menos preferidos pelo *D. citri*.

O psilídeo *D. citri* pode responder seletivamente aos compostos liberados pelas plantas no seu estado saudável (livre do HLB) ou infectado. Mann et al. (2012) e Wu et al. (2015) indicaram que a atratividade de insetos não infectados por plantas afetadas pelo HLB foi maior do que a atratividade por aquelas não afetadas. Porém, após se alimentar em plantas infectadas, seu interesse mudou. Isso pode se dever à baixa qualidade nutricional apresentada pelas plantas afetadas. Esse fato pode ser explicado pela diferença no padrão de voláteis liberado por plantas não-infectadas e plantas infectadas (Fig. 7). Limoneno e ocimeno são compostos encontrados tanto em plantas saudáveis quanto em plantas doentes, porém salicilato de metila (MeSA) é liberado em maior quantidade por plantas infectadas ou por aquelas em que o psilídeo se alimentou. Em testes subsequentes com o MeSA sintético, *D. citri* respondeu ao composto apenas quando exposto a duas dosagens: 0,01ug (com resposta de atratividade) e 100 ug (resposta de repelência). Daqueles compostos liberados em maior quantidade por plantas não infectadas, como o antranilato de metila e o D-limoneno, apenas o último foi atrativo na dosagem 100 ug (MANN et al., 2012).

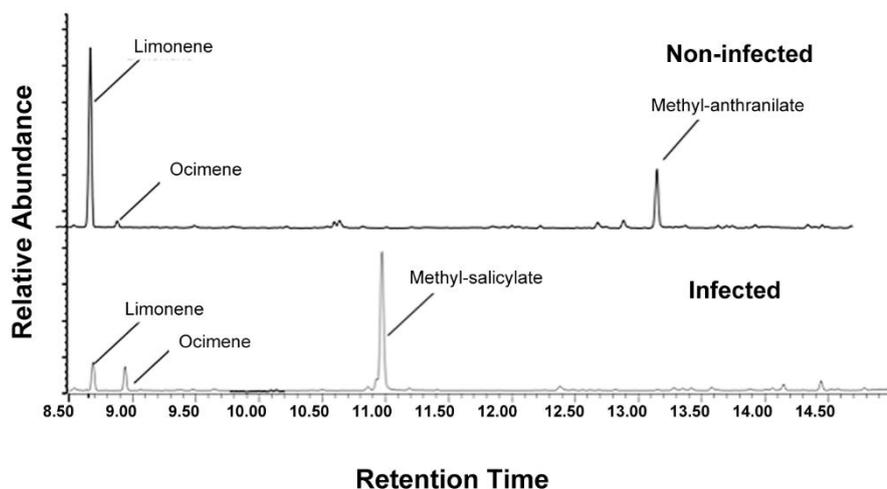


Figura 7. Cromatograma gerado de plantas de citros infectadas e não infectadas pelo HLB. Retirado de Mann et al. (2012).

Em alguns estudos, a goiabeira (*Psidium guajava* L.) se mostrou repelente ao *D. citri* (NORONHA-JUNIOR, 2010; GOTTWALD et al., 2014). Onagbola et al. (2011) verificaram que voláteis de folhas da goiabeira branca inibiram a atratividade do *D. citri* à variedade ‘Hamlin’. O volátil dissulfeto de dimetila (DMDS) pode ser, em parte, responsável por esse efeito. Gottwald et al. (2014) estudaram o efeito do plantio de *Citrus* intercalado com duas variedades de goiaba vietnamita: uma branca, ‘Thai Xaly nghi’ e outra vermelha, ‘Beaumont’. Notaram significativa redução na infestação do *D. citri* em citros interplantado com goiabeira vermelha, mas o mesmo não aconteceu quando a goiabeira branca foi usada. Ainda segundo os autores, a utilização do interplantio com uma ou outra variedade de goiabeira não previniu a introdução e a disseminação do HLB.

Em análise cromatográfica do óleo de goiabeira da variedade ‘J3’ foram encontrados compostos como o D-limoneno e o α -pineno já relatados como atrativos ao inseto (SILVA et al., 2016). Estudos indicam que o COV β -cariofileno é o composto majoritário do óleo de goiaba independente da variedade e do local de cultivo (SILVA et al., 2016; ALQUÉZAR et al., 2017). No entanto, em relação a outros compostos, as variedades de goiabeira se diferenciaram substancialmente. Importante notar que esse volátil largamente encontrado em goiabeira é um sesquiterpeno comumente encontrado não somente em um dos hospedeiros preferenciais do *D. citri*, murta de cheiro, mas também em outras espécies economicamente importantes de rutáceas (ANDRADE et al., 2016; KILLINY et al., 2017).

No Brasil, além dos estudos supracitados, outros trabalhos de comportamento do *D. citri* e de prospecção metabólica se destacam. Signoretti (2014) constatou que apenas as fêmeas de *D. citri* são atraídas por voláteis de plantas de *Citrus sinensis* variedade ‘Pêra’ enxertada sobre limoeiro ‘Cravo’. Já Noronha Jr. (2010) notou que o psíldeo é intensamente atraído por *Citrus limonia* Osbeck. Esses resultados levam ao maior conhecimento da praga com a consequente elaboração de técnicas de manejo.

Alves; Diniz; Parra (2014) perceberam maior preferência do *D. citri* pela var. ‘Valência’ com relação a parâmetros como alimentação e fertilidade. Porém, em comparação com a cv. Valência, BELOTI et al. (2017) verificaram que a planta *curry* (*Murraya koenigii* L.) foi mais atrativa. Praticamente todos os COV’s encontrados no *curry* também foram encontrados na var. ‘Valência’. No entanto, diferiram quanti e qualitativamente, sendo β -ocimeno o COV prevalente na var. ‘Valência’ (BELOTI et al., 2017). Fancelli et al. (2018) em trabalho com plantas da família Rutaceae e também com a planta não hospedeira *Anacardium occidentale* L., constataram que a última se mostrou não atrativa à *D. citri*. A análise de COV’s mostrou a presença de (E)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene e (E, E)-4,8,12-trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene em maiores quantidades na planta de caju. Quando esses compostos foram acrescentados aos extratos de *M. paniculata* e *C. sinensis*, o psíldeo mostrou preferência pelo controle (hexano), indicando que ambos podem estar relacionados à não atratividade do cajueiro.

Estudos como estes citados acima ainda são escassos para o estado da Bahia, mas trabalhos como o de Mesquita et al. (2014) e Santos (2016) se sobressaem como pioneiros. Mesquita et al. (2014) desenvolveram métodos de extração e análise de COV’s obtidos das espécies da família Rutaceae, *M. paniculata*, *Citrus limonia* e um híbrido de *Poncirus trifoliata*. Santos (2016), além de identificar COV’s de algumas espécies de Rutaceae, realizou testes de atratividade e relacionou os compostos que supostamente atraem ou repelem os psíldeos.

Diante do exposto, o potencial de atratividade de variedades econômicas de citros cultivadas na Bahia deve ser estudado, a fim de selecionar a variedade mais adequada, de modo a reduzir o potencial disseminativo do HLB.

Com o risco iminente do HLB acometer pomares baianos, haja vista que o inseto transmissor se encontra em todas as regiões produtoras do país e, portanto, na Bahia também (NASCIMENTO; SILVA; LARANJEIRA, 2015; SILVA, 2017), sem contar que pomares em Minas Gerais, estado vizinho, já se encontram afetados. Além disso, trata-se

de uma doença de difícil controle e alto custo de manejo. Considerando o controle ineficiente das bactérias *Candidatus* spp., a inexistência de variedades cítricas altamente resistentes ao HLB, e a escassez de estudos sobre o HLB e seu vetor *D. citri* para a Bahia, essa dissertação objetivou avaliar a atratividade de variedades de citros, cultivados no estado da Bahia, sobre a *Diaphorina citri* e identificar os compostos orgânicos voláteis emitidos. Espera-se que os resultados alcançados com essa pesquisa possam orientar os pequenos citricultores do estado na tomada de decisões sobre a escolha de variedades menos adequada ao psilídeo-dos-citros para, assim, evitar perdas futuras. Além disso, este trabalho também poderá contribuir para os estudos de melhoramento de citros na Bahia e demais regiões do país, subsidiando ações para a seleção e/ou desenvolvimento de genótipos resistentes à praga.

1.8 Objetivos

Objetivo Geral

Avaliar a atratividade de variedades de citros, cultivados no estado da Bahia, sobre a *Diaphorina citri* e identificar os compostos orgânicos voláteis emitidos.

Objetivos Específicos

- (i) Analisar o comportamento do inseto vetor, *Diaphorina citri* em resposta a voláteis de variedades copa de laranja doce (Westin', 'Pera', 'Valência') e de porta-enxerto ('HTR 059', limoeiro 'Cravo' e 'Sunki Tropical') em comparação com os padrões de atratividade (*Murraya paniculata*) e de repelência (*Poncirus trifoliata* cv. Flying Dragon);
- (ii) Identificar, sob a técnica de cromatografia gasosa, os compostos orgânicos voláteis (COV's) emitidos por variedades copa de laranja doce (Westin', 'Pera', 'Valência') e de porta-enxerto ('HTR 059', limoeiro 'Cravo' e 'Sunki Tropical')
- (iii) Identificar entre as variedades de citros estudadas, aquela(s) mais e menos atrativa(s) ao psilídeo *D. citri*, subsidiando ações de prevenção à doença no estado da Bahia.

Referências

- ADAB, Agência de Defesa Agropecuária da Bahia. **Agricultores e técnicos da Bahia e Sergipe trocam experiências em seminário da Citricultura**. 2017. Disponível em: <<http://www.adab.ba.gov.br/2017/03/1404/Agricultores-e-tecnicos-da-Bahia-e-Sergipe-trocam-experiencias-em-seminario-da-Citricultura.html>>. Acesso em: 12 de agosto de 2018
- ALQUÉZAR, B. et al. β -caryophyllene emitted from a transgenic *Arabidopsis* or chemical dispenser repels *Diaphorina citri*, vector of *Candidatus Liberibacter*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 5639, 2017.
- ALVES, G. R. **Efeitos de variedades cítricas sobre o vetor das bactérias associadas ao Huanglongbing (HLB) *Diaphorina citri* Kuwayma, 1908 (Hemiptera: Liviidae)**. 82 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo. 2017.
- ALVES, G. R.; DINIZ, A.J.F.; PARRA, J.R.P. Biology of the huanglongbing vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on different host plants. **Horticultural Entomology**, v. 107, n. 2, p. 691-696, 2014.
- ANDRADE, M. S. et al. Essential oil Variation from twenty-two genotypes of Citrus in Brazil - chemometric approach and repellency against *Diaphorina citri* Kuwayama. **Molecules**, v. 21, n. 814, p. 1-10, 2016.
- AUBERT, B. *Trioza erytrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, v. 42, n. 3 p.149–162, 1987.
- AVERY, P. B. et al. *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) infection and dissemination of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) under laboratory conditions. **Florida Entomologist**, v. 92, n. 4, p. 608-618, 2009.
- BALDWIN, E. et al. Effect of Liberibacter infection (huanglongbing disease) of citrus on orange fruit physiology and fruit/fruit juice quality: Chemical and physical analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 58, p. 1247-1262, 2010.
- BASSANEZI, R. B. et al. Efficacy of area-wide inoculum reduction and vector control on temporal progress of huanglongbing in young sweet orange plantings. **Plant Disease**, v. 97, n. 6, p. 789-796, 2013.
- BASSANEZI, R. B.; BELASQUE-JÚNIOR, J.; MONTESINO, L. H. Frequency of symptomatic trees removal in small citrus blocks on citrus huanglongbing epidemics. **Crop Protection**, v. 52, p. 72-77, 2013.
- BASSANEZI, R. B. et al. Epidemiologia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, v.31, n.1, p.11-23, 2010.
- BASTOS, D. C. et al. Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira. **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 281, p. 36-45, 2014.
- BELASQUE-JUNIOR, J. et al. Lessons from huanglongbing management in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology**. v. 92, n. 2, p. 285-302, 2010.

- BELASQUE-JUNIOR, J. et al. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de huanglongbing (HLB, *greening*) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 3, p. 137-145, 2009.
- BELOTI, V. H. et al. Curry leaf smells better than citrus to females of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v.11, n. 5, p. 709-716, 2017.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing and the future of citrus in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, n. 3, p. 465-467, 2012.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 1, p.7-37, 2006.
- CDA, Coordenadoria de Defesa Agropecuária. Dados da Citricultura Paulista - **Eliminação de plantas, quantidade de plantas na atividade produtiva e total do Estado**. 2015. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/gdsv/index.php?action=dadosCitriculturaPaulista>>. Acesso em: 20 de julho de 2018.
- CHAVEZ, Y. et al. *Tamarixia radiata* (Waterston) and *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) as biological control agents of *Diaphorina citri* Kuwayama in Ecuador. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, n. 2, p. 180-184, 2017.
- COLETTA-FILHO, H. D. et al. First report of the causal agent of huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”). **Plant Disease**, v. 88, n.12, p. 1382, 2004.
- DAGULO, L. et al. Chemical characterization of orange juice from trees infected with citrus greening (huanglongbing). **Journal of Food Science** v. 75, n. 2, p. 199-207. 2010.
- FAN, J. et al. Differential anatomical responses of tolerant and susceptible citrus species to the infection of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 83, p. 69-74, 2013.
- FANCELLI, M. et al. Attractiveness of host plant volatile extracts to the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, is reduced by terpenoids from the non-host cashew. **Journal of Chemical Ecology**, v. 44, n. 4, p. 397-405, 2018.
- FANCELLI, M. et al. SOLF – System for data acquisition in olfactometry bioassays. **Citrus Research & Technology**, v. 38, n. 1, p. 95-98, 2017.
- FARIAS, A.P. et al. Dinâmica populacional e parasitismo natural de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em pomares de citros em Sergipe. **EntomoBrasilis**, v. 11, n. 1, p. 20-25, 2018.
- FOLIMONOVA, S. Y. et al. Examination of the responses of different genotypes of Citrus to Huanglongbing (Citrus Greening) under different conditions. **Phytopathology**, v. 99, n. 12, p. 1346-1354, 2009.
- FRANCO, A.S.M. O suco de laranja brasileiro no mercado global. **Análise Conjuntural**, v.38, n.11, p. 11-12, 2016.
- FUNDECITRUS, FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA. **Psilídeo *Diaphorina citri***: Medidas essenciais de controle. 2018. 16p. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/>>. Acesso em: 29 de junho de 2018.

FUNDECITRUS, FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA. **Levantamento de doenças dos citros: HLB, CVC e Cancro Cítrico No Cinturão Citrícola De São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro.** Araraquara, SP. 2017a. 56 p. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/pdf/levantamentos/levantamento-doencas-2017.pdf>>. Acesso em: 12 de agosto de 2018.

FUNDECITRUS, FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA. **Inventário de Árvores e Estimativa de Safra de Laranja 2017/18 do Cinturão Citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro.** Araraquara, SP. 2017b. 124 p. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2017_12_05_Invent%C3%A1rio_e_Estimativa_do_Cinturao_Citricola_2017-2018.pdf>. Acesso em: 12 de agosto de 2018 Fundecitrus.

FUNDECITRUS, FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA. **Manual Técnico: Greening.** São Paulo, 2009. 12 p.

GARZO, E. et al. Morphological description of the mouthparts of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Arthropod Structure & Development**, v. 41, n. 1, p. 79-86, 2012.

GASPAROTO, M. C. G. et al. Spatiotemporal dynamics of *Citrus* huanglongbing spread: a case study. **Plant Pathology**, v. 67, n. 7, p. 1621-1628, 2018.

GODFREY P. et al. Apparent tolerance to huanglongbing in *Citrus* and *Citrus*-related germplasm. **Hortscience**, n. 52, v. 1, p. 31-39, 2017.

GOTTWALD, T. R et al. Orchard and nursery dynamics of the effect of interplanting citrus with guava for huanglongbing, vector, and disease management. **Crop Protection**, v. 64, p. 93-103, 2014.

GOTTWALD, T. R et al. Inconsequential effect of nutritional treatments on huanglongbing control, fruit quality, bacterial titer and disease progress. **Crop Protection**, v. 36, p. 73-82, 2012

HALBERT, S.E. The discovery of huanglongbing in Florida. In: **Proceedings 2nd International Citrus Canker and Huanglongbing Research Workshop**, 2005, p.50.

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, n. 3, p. 330-353, 2004.

HALBERT, S. E. 1998. Entomology Section. **Tri-ology**, v. 37, n. 3, p 6-7, 1998.

HALL, D. G. et al. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 146, p. 207-223, 2012.

HARLEY, P. et al. Emission of 2-methyl-3-buten-2-ol by pines: A potentially large natural source of reactive carbon to the atmosphere. **Journal of Geophysical Research**, v. 103, n. D19, p. 25479-25486, 1998.

HU, J. JIANG, J. WANG, N. Control of citrus huanglongbing (HLB) via trunk injection of plant activators and antibiotics. **Phytopathology**, v. 108, n. 2, p. 186-195, 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Área plantada ou destinada à colheita, área colhida, quantidade colhida, quantidade produzida, rendimento**

médio e valor da produção das lavouras temporárias e permanentes. 2019. Disponível em: <<http://www.IBGE.gov.br/sidra>>. Acesso em 20 de janeiro de 2019.

JAGOUEIX, S.; BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the *a* Subdivision of the *Proteobacteria*. **International Union of Microbiological Societies**, v. 44, n. 3, p. 379-386, 1994.

KEREMANE, M. L. et al. Report of *Candidatus* Liberibacter caribbeanus, a new citrus- and psyllid-associated Liberibacter from Colombia, South America. **The American Phytopathological Society**, 2015. Disponível em: <http://www.apsnet.org/meetings/Documents/2015_meeting_abstracts/aps2015abO253.htm>. Acesso em: 19 de agosto de 2018.

KILLINY, N. et al. Metabolically speaking: Possible reasons behind the tolerance of ‘Sugar Belle’ mandarin hybrid to huanglongbing. **Plant Physiology and Biochemistry** v. 116, p. 36-47, 2017.

KONDO T. et al. First report of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in the Department of Valle del Cauca, Colombia, **Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle**, v. 13, n.1, p. 48-51, 2012.

KUHNS, E. H. et al. Repellent activity of botanical oils against asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Insects**, v.7, n. 35, 2016.

LEITE-JUNIOR, R.P. **Situação do HLB no Estado do Paraná, no Brasil e no Mundo.** Instituto Agrônomo do Paraná. 2017. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/GSV/CFO/III_Semana_Cursos_CFO_2017/Apresentacoes_e_Materiais_Apoio/HLB_CFO_2017.pdf>. Acesso em: 18 de agosto de 2018.

LOPES, S. A. et al. Graft transmission efficiencies and multiplication of ‘*Candidatus* Liberibacter americanus’ and ‘*Ca.* Liberibacter asiaticus’ in citrus plants. **Phytopathology**, v. 99, n. 3, p. 301-306, 2009.

LOPES, S.A.; FRARE, G.F. Graft transmission and cultivar reaction of citrus to ‘*Candidatus* Liberibacter americanus’. **Plant Disease**, v. 92, n. 1, p. 21-24, 2008.

LUIS, M. et al. Occurrence of citrus huanglongbing in Cuba and association of the disease with *Candidatus* Liberibacter asiaticus. **Journal of Plant Pathology**, v. 91, n. 3, p. 709-712, 2009.

MANJUNATH. K. L. et al. Detection of ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’ in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. **Bacteriology**, v. 98, n. 4, p. 387-396, 2008.

MANN, R. S. et al. Induced release of a plant-defense volatile ‘deceptively’ attracts insect vectors to plants infected with a bacterial pathogen. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 3, p. 1-13, 2012.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. CGAC - Coordenação Geral de Apoio às Câmaras Setoriais e Temáticas Ata de reunião - **Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Citricultura**, 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriaistematicas/documentos/>>

camaras-setoriais/citricultura/anos-anteriores/ata-da-reuniao-48>. Acesso em: 11 de agosto de 2018.

MARSARO-JÚNIOR, A.L. et al. Primeiro registro de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) para o estado de Roraima, Brasil. **Revista de Agricultura**. v.89, n.3, p. 183-186, 2014.

MATOS, L; HILF, M. E; CAMEJO, J. First Report of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ associated with citrus huanglongbing in the Dominican Republic. **Plant Disease**, v. 93, n. 6, p. 668, 2009.

MATTOS-JUNIOR, D. et al. Citros: principais informações e recomendações de cultivo. **Instituto Agrônomo de Campinas**, p. 1-8, 2005. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/43.pdf>. Acesso em: 20 de setembro de 2018.

MELLÍN-ROSAS M. A. et al. Patogenicidad de cepas de hongos entomopatógenos sobre *Diaphorina citri* Kuwayama en condiciones de laboratorio. **Southwestern Entomologist**, v. 41, n. 3, p. 791-800, 2016.

MESQUITA, P. R. R. et al. Estudos preliminares para identificação de compostos orgânicos voláteis de plantas da família Rutaceae com potencial atrator ao inseto psílídeo (*Diaphorina citri*) Kuwayama. In: 8ª Jornada Científica – Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas. **Anais Embrapa Mandioca e Fruticultura**. v. 1, p. 104, 2014.

MORAES, R. F.; BLANCO, D. G.; NORONHA, A. C. S. Parasitismo de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) por *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) em murta, no estado do Pará. **21º Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental**, Belém – Pará, p. 1-4, 2017.

NAROUËI-KHANDAN, H. A. et al. Global climate suitability of citrus huanglongbing and its vector, the Asian citrus psyllid, using two correlative species distribution modeling approaches, with emphasis on the USA. **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, n. 3, p. 655-670, 2016.

NASCIMENTO, A. S.; SILVA, S. X.; LARANJEIRA, F. F. Densidade populacional de *Diaphorina Citri* (Hemiptera: Liviidae), vetor do huanglongbing (Ex-Greening), em quatro regiões indenes no Brasil. **Conbraf – Congresso Brasileiro de Fitossanidade**, Águas de Lindóia – São Paulo, 2015.

NORONHA JUNIOR, N. C. **Efeito dos coespecíficos e voláteis das plantas *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Psidium guajava* L. e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sobre o comportamento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae)**. 72 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba/São Paulo. 2010.

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.

OLIVEIRA, M. S. G. **Semioquímicos envolvidos nas interações tritróficas entre a palma forrageira, a chochonilha de escama *Diaspis echinocacti* (BOUCHÉ, 1833)**

(Hemiptera - Diaspididae) e dois de seus predadores, *Zagreus bimaculosus* (MULSANT, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Chilocorus nigrita* (FABRICIUS, 1798) (Coleoptera: Coccinellidae). 103 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2014.

ONAGBOLA, E. O. et al. Guava leaf volatiles and dimethyl disulphide inhibit response of *Diaphorina citri* Kuwayama to host plant volatiles. **Jornal of Applied Entomology**, v. 135, n. 6, p. 404-414, 2011.

ONAPP. Organización Norteamericana de Protección a las Plantas, Sistema de Alerta Fitosanitaria. **Detección de Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) en los Municipios de Mazatlán y Escuinapa, Sinaloa, México**, 2010. Disponível em: <<https://www.pestalerts.org/espanol/bykeyword.cfm>>. Acesso em: 20 de setembro de 2018.

PARÉ, W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, v. 121, n. 2, p. 325-332, 1999.

PASSOS, O. S.; ALMEIDA, C. O.; SOARES-FILHO, W. S. Desenvolvimento da citricultura na Chapada Diamantina, **Revista Cultivar**. 2009. Disponível em: <<https://www.grupocultivar.com.br/artigos/desenvolvimento-da-citricultura-na-chapada-diamantina>>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2019.

PASSOS, O. S. A citricultura no mundo e no Brasil. **Embrapa - CNPMF**, n. 30, p. 1-40, 1990.

PATT, J. M.; SÉTAMOU, M. Responses of the Asian citrus psyllid to volatiles emitted by the flushing shoots of its rutaceous host plants. **Environmental Entomology**, v. 39, n. 2, p. 615-624, 2010. RAIOL-JÚNIOR, L. L. **Translocação de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em citros**. 72 f. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal/São Paulo. 2017.

RAMADUGU, C. et al. Long-term field evaluation reveals huanglong resistance in *Citrus* relatives. **Plant Disease**, v. 100, n. 9, p. 1858-1869, 2016.

RAMOS, Y. C.; PASSOS, O. S. BRANDÃO, L. S. **A citricultura no Estado da Bahia: produção e comercialização no período de 1999 a 2011**, 2014. 29 p. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos/documentos_208.pdf>. Acesso em: 12 de agosto de 2018.

SANCHES, M. M. et al. Survey for phytoplasmas and “*Candidatus Liberibacter* sp.” from HLB-like symptomatic citrus plants in Brazil. **Citrus Research & Technology**, v. 37, n. 1, p. 88-93, 2016.

SANTOS, A. C. A. **Identificação de compostos orgânicos voláteis em plantas da família Rutaceae**. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, Bahia, 2016.

SHEN, W. et al. Occurrence and in-grove distribution of citrus huanglongbing in North Central Florida. **Journal of Plant Pathology**, v.95, n. 2, p. 361-371, 2013.

SIGNORETTI, A. G. C. **Identificação de voláteis de plantas de citros com potencial para uso no manejo integrado de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidea)**.

76 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo. 2014.

SIGNORETTI, A. G. C. **Indução de voláteis em plantas de milho por um hospedeiro, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepdoptera: Noctuidae) e um não-hospedeiro, *Plutella xylostella* L. (Lepdoptera: Plutellidae) e seu efeitos sobre esses insetos e seus respectivos parasitóides.** 72 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba/São Paulo. 2008.

SILVA, J. A.A. et al. Repellency of selected Psidium guajava cultivars to the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Crop Protection**, v. 84, p. 14-20, 2016.

SOUZA, S. R. et al. Emissão por folhas de *Ficus benjamina* L. (Moraceae) de compostos orgânicos voláteis oxigenados. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.4, p.413-418, 2002.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 3ª ed. 2012.

TEIXEIRA, D. C. et al. First Report of a huanglongbing-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil and association of a new Liberibacter Species, “*Candidatus Liberibacter americanus*”, with the Disease. **Plant Disease**, v. 89, n 1, p 107, 2005a.

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

TEIXEIRA, D. C. et al. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the ‘*Candidatus*’ Liberibacter species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, p. 173-179, 2005b.

TEIXEIRA, D. C. et al. ‘*Candidatus Liberibacter americanus*’, associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1857-1862, 2005c.

USDA, United States Department of Agriculture. **Quarantine area maps for citrus greening and Asian citrus psyllid.** 2014. Disponível em: <<https://www.usda.gov/topics/disaster/multi-agency-response-devastating-citrus-disease/quarantine-area-maps-citrus>>. Acesso em: 19 de setembro de 2018.

WENNINGER, E. J.; STELINSKI, L. L.; HALL, D. G. Relationships between adult abdominal color and reproductive potential in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.102, n. 3, p. 476-483, 2009a.

WENNINGER, E. J.; STELINSKI, L. L.; HALL, D. G. Roles of olfactory cues, visual cues, and mating status in orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to four different host plants. **Environmental Entomology**, v. 38, n.1, p. 225-234, 2009b.

WENNINGER, E. J.; STELINSKI, L. L.; HALL, D. G. Behavioral evidence for a female-produced sex attractant in *Diaphorina citri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 128, n. 3, p. 450-459. 2008

WU, F. et al. Movement of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) adults between huanglongbing-infected and healthy citrus. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 410-416, 2015.

WU, G. A. et al. Genomics of the origin and evolution of *Citrus*. **Nature**, v. 554, p. 311-316, 2018.

YAMAMOTO, P. T.; ALVES, G. R.; BELOTI, V. H. Manejo e controle do huanglongbing (HLB) dos cítricos. **Investigación agraria**, v. 16, n. 2, p. 69-82, 2014.

CAPÍTULO I

BIOENSAIOS DE OLFATOMETRIA E DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE COV'S DE VARIEDADES COPAS E VARIEDADE PORTA-ENXERTO DE CITROS VISANDO DETERMINAR SUA ATRATIVIDADE À *Diaphorina citri*, INSETO VETOR DO HUANGLONGBING

Leanderson da Conceição Oliveira^{1*}, Marilene Fancelli², Paulo Roberto Ribeiro de Mesquita^{3,4}, Frederico Medeiros de Rodrigues^{3,4}, Cristiane de Jesus Barbosa², Alessandra Selbach Schnadelbach^{1,5}

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana (PPGRGV/UEFS), e-mail: *oliveiraleanderson@gmail.com; ² Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Faculdade Maria Milza (FAMAM); ⁴Centro Tecnológico Agropecuário da Bahia (CETAB); ⁵Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

RESUMO

O *huanglongbing* ou HLB (*ex-greening*) é a doença mais severa dos citros nas principais regiões produtoras do mundo. No Brasil, nas principais zonas produtoras afetadas, a doença está associada principalmente a *Ca. L. asiaticus*. Além de propagado por material contaminado, o patógeno é disseminado pelo psílideo vetor, *Diaphorina citri* Kuwayama. Tentativas de controle do HLB com antibióticos ou cultivo das *Ca. Liberibacter* spp. em meio de cultura falharam e o manejo da doença se restringe à erradicação das plantas sintomáticas, produção de mudas saudáveis e controle da população de *D. citri* por meio da aplicação de inseticidas. Um método alternativo para manejo da doença é a utilização de plantas e variedades de citros menos atrativas ao inseto vetor. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar, entre seis variedades de citros cultivadas na Bahia, as mais ou menos atrativas à *D. citri*, por meio de bioensaios de olfatometria e do perfil de COV's. Os estudos foram realizados com variedades de copas e porta-enxertos de citros, além da murta de cheiro (*Murraya paniculata*) como controle mais atrativo e uma variedade de *Poncirus trifoliata* como variedade menos atrativa. Cada variedade constituiu um tratamento e todas foram confrontadas com os controles. Os bioensaios de olfatometria foram conduzidos em arena de quatro vias e os resultados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e ao test *t*. A detecção e a identificação dos COV's foi realizada por meio de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas; os COV's identificados foram submetidos à análise multivariada de componentes principais (PCA) e à análise de agrupamento hierárquico (HCA) no *software* Metaboanalyst. Os resultados indicam que as copas 'Pera' e 'Westin' e o porta enxerto híbrido 'HTR 059' foram as variedades menos atrativas ao vetor. Os compostos encontrados em maior abundância nesses genótipos foram β -pineno e linalol para a copa 'Pera', β -pineno e decanol para a copa 'Westin', e β -cariofileno e γ -elemeno para o porta-enxerto híbrido 'HTR 059'.

Palavras-chave: Bioensaios de olfatometria, atratividade, COV's, *Citrus*

ABSTRACT:

Huanglongbing or HLB (ex-greening) is the most severe disease of citrus in major producing regions of the world. In Brazil, in the main producing areas affected, the disease is mainly associated with *Ca. L. asiaticus*. In addition to propagating for contaminated material, the pathogen is widespread by the vector psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. Attempts of controlling HLB with antibiotics or culture of *Ca. Liberibacter* spp. in culture medium have failed and the disease management is restricted to the eradication of symptomatic plants, production of healthy seedlings and controlling of the population of *D. citri* by the application of insecticides. An alternative way for management of the disease is the use of plants and varieties of citrus that are less attractive to the insect vector. Therefore, the objective of this study was to evaluate the attractiveness of citrus varieties grown in the State of Bahia on *Diaphorina citri* and to identify the volatile organic compounds emitted. The studies were carried out with citrus sweet orange and citrus rootstocks, besides the orange jasmine as more attractive control and a variety of *Poncirus trifoliata* as less attractive variety. Each variety was a treatment and they were all confronted to the controls. The olfactometer bioassays were conducted in a four-way arena and the results were submitted to the Shapiro-Wilk test and the t-test. The detection and identification of VOCs was performed by gas mass chromatography spectrometer; the identified VOCs were evaluated through the principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering analysis (HCA) in Metaboanalyst software. The results indicate that the 'Pera' and 'Westin' and the 'HTR 059' hybrid were the least attractive to the *D. citri*. The compounds found in greater abundance in these genotypes were β -pinene and linalool for 'Pera', β -pinene and decanol for 'Westin', and β -caryophyllene and γ -elemene for the rootstock 'HTR 059'.

Key-words: Olfactometer bioassays, attractiveness, VOCs, *Citrus*

INTRODUÇÃO

O huanglongbing ou HLB (*ex-greening*), a doença mais séria nas áreas citrícolas mundialmente, teve seu primeiro registro na América em 2004, na Região Central do estado de São Paulo, próxima à cidade de Araraquara (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005a, b, c). São Paulo, juntamente com a Flórida/Estados Unidos da América, são os principais produtores de laranja no mundo, com participação de aproximadamente 80% da produção mundial de laranja doce. O estado de São Paulo detém 53% desse total (NEVES et al., 2011).

O estado da Bahia respondia por 5,7% da produção nacional em 2015 (LIMA, 2017), mas em 2017, com a perda do segundo lugar no *ranking* de maiores produtores nacionais, esse valor caiu para 3,81%. O estado ainda é o maior produtor do Nordeste, respondendo por 52,6% da produção (IBGE, 2019).

A comercialização de laranja e suco de laranja gera um Produto Interno Bruto (PIB) de US\$ 6,5 bilhões para o Brasil e emprega em torno de 400 mil pessoas direta e indiretamente. Pouco mais de um terço (1/3) desse montante é gerado pelas exportações de suco para China, Japão, Estados Unidos e União Europeia (FRANCO, 2016; NEVES & TROMBIN, 2017). Para a Bahia, a estimativa de receita para 2016 com a comercialização de laranja foi de R\$ 413 milhões. Essa cadeia tem grande importância no cenário baiano porque chega a envolver até 84.000 pessoas direta e indiretamente (MAPA, 2016; ADAB, 2017).

Atualmente, o HLB é causado por três espécies de α -proteobactérias restritas ao floema das plantas, a *Candidatus Liberibacter americanus*, a *Ca. L. africanus* e a *Ca. L. americanus* (BOVÉ, 2006, TEIXEIRA et al., 2005a, b, c). Recentemente, Keremane et al. (2015) relataram a ocorrência de uma nova espécie, a *Ca. L. caribbeanus*. A nova bactéria foi detectada em laranja doce (*Citrus sinensis* Osbeck) e no vetor *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) no Norte da Colômbia, próximo ao mar do Caribe. Ainda não se sabe se esta bactéria causa os mesmos danos já relatados para o HLB, mas estudos de sequenciamento e patogenicidade já estão sendo conduzidos (KEREMANE et al., 2015).

No Brasil, além da ocorrência de *Candidatus Liberibacter asiaticus*, também registra-se a ocorrência de *Ca. Liberibacter americanus* (TEIXEIRA et al., 2005a,b,c).

As espécies asiática e americana da doença são transmitidas pelo psílídeo *D. citri* e a forma africana, pelo psílídeo *Trioza erythrae* Del Guercio, 1918. O psílídeo *D. citri* tem ocorrência registrada no Brasil desde a década de 1940 (BOVÉ, 2006). Ainda que os vetores sejam os principais responsáveis pela disseminação do HLB nos pomares, a enxertia de material contaminado e a produção de mudas em áreas desprotegidas também podem contribuir com a sua propagação (LOPES & FRARE, 2008; LOPES et al., 2009a).

No Brasil, atualmente, a espécie asiática é prevalente em relação à espécie americana, provavelmente porque a *Ca. L. asiaticus* é menos sensível ao calor (LOPES et al., 2009b; TEIXEIRA et al., 2010). Sua introdução em áreas livres é iminente e de alto risco devido, principalmente, à ampla distribuição do vetor no Brasil (MARSARO-JÚNIOR et al., 2014; NASCIMENTO; SILVA; LARANJEIRA, 2015).

As condições climáticas das principais zonas produtoras do país oferecem condições favoráveis tanto ao estabelecimento do psílídeo como estabelecimento de *Ca. L. asiaticus* (NAROUËI-KHANDAN et al., 2016). O crescimento de *Ca. L. americanus* é reduzido em temperaturas acima de 32° C, o que justifica sua menor prevalência nos materiais sintomáticos analisados em São Paulo. Em 2005 essa bactéria era predominante, quando era encontrada em até 90% das amostras (LOPES et al., 2009b; TEIXEIRA et al., 2010).

Ainda não existe variedade de citros tolerante ou resistente ao HLB. Dessa forma, o controle da doença é feito com base na redução de inóculo (remoção de plantas sintomáticas) e produção de plantas livres do HLB (em telado) (BOVÉ, 2006; BOVÉ, 2012). Porém, o controle das populações do *D. citri* se tornou peça chave no manejo. Esse inseto, apesar de ocasionar danos quando em altas populações, era considerado praga secundária no Brasil até 2005, quando foram detectadas *Ca. L. americanus* e *Ca. L. asiaticus* (HALBERT & MANJUNATH, 2004; PARRA et al., 2010).

Apesar da preferência por *Murraya paniculata* (L.) Jack, conhecida como falsa murta ou simplesmente murta (HALBERT & MANJUNATH, 2004; BORGONI et al., 2014), *D. citri* pode se hospedar em todas as variedades cítricas (FUNDECITRUS, 2009). Os adultos se alimentam tanto de partes jovens da planta (novas brotações) quanto de folhas menos tenras. No entanto, as fêmeas depositam seus ovos apenas em brotações, onde as ninfas passam a se alimentar quando eclodem. As fêmeas possuem alta taxa de fecundidade, chegando a produzir 800 ovos. As ninfas passam por cinco ínstares até atingirem a fase adulta (FUNDECITRUS, 2009; ALVES et al., 2018).

Experimentalmente, foi demonstrado que *D. citri* responde à compostos orgânicos voláteis (COV's) liberados pelas plantas. Bioensaios de atratividade com uso de sistema de olfatométrica de quatro vias ou em “y” vêm sendo realizados para avaliar a atratividade de *D. citri* a voláteis de espécies e variedades de citros ou afins (PATT & SÉTAMOU, 2010; ONAGBOLA et al., 2011; WU et al., 2015; SIGNORETTI, 2014; FANCELLI et al., 2017). A atratividade pode variar entre plantas infectadas e saudáveis. O psíldeo *D. citri* é inicialmente atraído por plantas infectadas, provavelmente porque plantas infectadas são induzidas a liberar salicilato de metila, um composto que pode estar ligado à atratividade. No entanto, com o passar do tempo, na ausência de ramos novos, o psíldeo muda a escolha para plantas saudáveis (MANN et al., 2012; WU et al., 2015).

Paralelamente aos bioensaios, trabalhos de identificação de voláteis têm sido feitos a fim de relacionar os COV's emitidos por plantas de citros à atratividade à *D. citri* (MANN et al., 2012; ANDRADE et al., 2016; SANTOS, 2016). Em estudos de COV's, o composto D-limoneno, abundantemente presente nos citros, foi atrelado à atratividade ao vetor *D. citri* (MANN et al., 2012). Andrade et al. (2016) observaram que a maioria dos genótipos de *Citrus* sp. e afins menos preferidos apresentavam os COV's fitol, (Z)-ocimeno, (E)-cariofileno, β - elemeno e α - humuleno. Segundo Patt & Sétamou (2010), a atratividade das variedades de citros à *D. citri* parece estar relacionada ao efeito sinérgico de mais de uma classe dos principais COV's liberados pelas plantas.

Coutinho-Abreu et al. (2014a, b), em testes eletrofisiológicos, testaram cinco diferentes concentrações (10^{-2} a 10^{-6}) de β -cariofileno, γ -terpineno, nonanal, 1-hexanol, octanal, E- β -ocimeno e salicilato de metila. Perceberam que as respostas do psíldeo a esses compostos cai drasticamente a partir da dose 10^{-4} . Essa resposta foi dada por picos de resposta dos neurônios de recepção olfatória RP4C e RP6C. Na maior dose, até 150 picos de resposta foram gerados, já a partir de 10^{-4} , esse valor se aproxima de zero. Coutinho-Abreu et al. (2014a) investigaram os grupos de COV's responsáveis pelas respostas. Aldeídos e terpenos são os grupos de voláteis em que o psíldeo mais respondeu. As respostas neuronais do *D. citri* estão relacionadas com a concentração dos voláteis em questão e também à mistura destes, bem como suas proporções (MANN et al., 2012; COUTINHO-ABREU et al., 2014a, b).

O entendimento do comportamento do *D. citri* frente aos COV's dos diferentes genótipos de citros cultivados, especialmente aqueles emitidos pelas variedades de laranja doce, que são as mais plantadas, constitui uma arma importante no controle do psíldeo

e, conseqüentemente, no manejo do HLB (SANCHES et al., 2016). Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi identificar entre seis variedades de citros cultivadas na Bahia as mais ou menos atrativas ao *D. citri*, por meio de bioensaios de olfatometria e do perfil de COV's emitido por estas, a fim de contribuir com o manejo e prevenção do HLB no Estado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção das plantas – variedades copa e porta-enxerto

No presente estudo foram utilizadas três variedades de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cultivadas na Bahia ('Valência', 'Westin' e 'Pera') estabelecidas sobre o porta-enxerto limoeiro 'Cravo', e quatro variedades de porta-enxertos, limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), 'Sunki Tropical' [*C. sunki* (Hayata) Hort. ex Tanaka], híbrido 'HTR 059' (*C. sunki* x (*C. limonia* x *P. trifoliata*)) e 'Flying Dragon' [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]. A murta de cheiro (*Murraya paniculata* L. Jack), foi utilizada como controle absoluto atrativo ao *D. citri* (PATT & SÉTAMOU, 2010).

Foram utilizadas três plantas de cada espécie para realização dos bioensaio de olfatometria e três plantas para extração de COV's. As mudas de citros (Fig. 1A, 1B, 1C) foram produzidas na Fazenda Gavião, em Entre Rios – Bahia e as plantas de porta-enxertos (Fig. 1D, 1E, 1F), de murta e de 'Flying Dragon', na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas – BA; em ambos os casos, foi utilizado substrato a base de fibra de coco. As plantas foram mantidas em telado até atingirem idade de plantio (8 meses) para a realização dos bioensaios e extração de voláteis.



Figura 1. Aspecto das plantas utilizadas no ensaio biológico para o estudo de olfalmometria e detecção de compostos orgânicos voláteis (COVs): A. ‘Westin’; B. ‘Valência’; C. ‘Pera’; D. ‘Sunki Tropical’; E. limoeiro ‘Cravo’; F. ‘HTR 059’. A-C: Variedades copa enxertadas em limoeiro ‘Cravo’; D-F: Variedades porta-enxertos.

Obtenção dos psilídeos *Diaphorina citri*

Ramos contendo ninfas de *D. citri*, em instares finais (quarto e quinto), foram coletadas em plantas de murta de cheiro do campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Fig. 2A). As ninfas foram transferidas para o Insetário da Embrapa Mandioca e Fruticultura, e mantidas em gaiolas de armação em PVC (40 cm e largura x 40 cm de profundidade x 40 cm de altura) revestidas com tela antiáfídica e abertura com zíper em um dos lados, confeccionada em plástico transparente e resistente (Fig. 2B). Conforme os adultos emergiam, eram capturados e separados por sexo, com auxílio de um estereomicroscópio usando aumento de 6x. A distinção entre machos e fêmeas foi feita com base na porção final do abdômen dos psilídeos em vista ventral, que é arredondado nos machos e triangular nas fêmeas (AUBERT, 1987). As fêmeas foram separadas para este estudo e mantidas em gaiolas contendo duas plantas de murta para alimentação (Fig. 2C); os machos foram descartados. A temperatura da sala de criação foi mantida em $26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar $70\% \pm 10\%$ e fotofase de 14h (NAVA et al., 2007).



Figura 2. A) Vista da cerca viva de *M. paniculata* da Embrapa Mandioca e Fruticultura; B) Gaiola de criação do *D. citri* no Insetário do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura; e C) Fêmeas se alimentando em ramos de murta de cheiro após sexagem. Fonte: Barbosa, C. J., 2019.

Bioensaios de olfatometria 4 vias - série I

Bioensaios de olfatometria consistiram em testes para verificar a atratividade das variedades copa e porta-enxerto selecionadas em relação ao psilídeo vetor do HLB, *D. citri*. Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em ambiente climatizado.

Por meio de uma bomba a vácuo livre de óleo, o ar foi bombeado para o sistema de olfatometria, passando inicialmente pela filtragem com carvão ativado, umidificação, e em seguida desumidificação em sílica em gel (Fig. 3A).

Em seguida, o ar passou pelas câmaras de aeração contendo as plantas com fluxo contínuo de $0,5 \text{ L min}^{-1}$. (Fig. 3B), cujos odores foram conduzidos à arena de testes (Fig. 3C). Sacos de poliéster foram usados como câmaras de aeração para isolamento da parte aérea das plantas de cada um dos tratamentos. A parte superior de cada saco possuía duas saídas nas extremidades, uma das extremidades foi conectada ao fluxímetro regulador da entrada de ar, e a outra, ao olfatômetro. As conexões foram feitas por meio de mangueira politetrafluoretileno (Teflon®).



Figura 3. A) Painel de filtros e rotâmetros. B) Câmara confeccionada em saco do tipo poliéster. C) Arena de quatro vias e seus campos demarcados por números. Fonte: FANCELLI et al. (2017).

Utilizou-se um olfatômetro de quatro entradas (PETTERSSON, 1970) com dimensões de $16,5 \text{ cm} \times 16,5 \text{ cm}$ e espessura de 2 cm (Fig. 3C). A parte superior do olfatômetro possui um orifício de 0,8 cm de diâmetro por onde o inseto é introduzido e por onde ocorre a saída do ar. Os odores de cada tratamento foram avaliados em dois braços do olfatômetro, alternadamente em forma de x. Dessa forma, duas entradas para o tratamento e duas entradas para o controle (Fig. 3C, áreas 1 a 4). A área central (onde há mistura de odores) foi considerada área sem resposta (Fig. 3C, área 5).

Os tratamentos foram estabelecidos da seguinte forma:

- 1 – Variedade porta-enxerto ‘Sunki Tropical’ comparada com o controle mais atrativo murta de cheiro;
- 2 – Variedade porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’ comparada com o controle mais atrativo murta de cheiro;
- 3 – Variedade porta-enxerto limoeiro ‘Cravo’ comparada com o controle mais atrativo murta de cheiro;
- 4 – Variedade copa ‘Westin’ comparada com o controle mais atrativo murta de cheiro;

- 5 – Variedade copa ‘Valência’ comparada com o controle mais atrativo murta de cheiro;
- 6 – Variedade copa ‘Pera’ comparada com o controle mais atrativo murta de cheiro;
- 7 – Variedade porta-enxerto ‘Sunki Tropical’ comparada com o controle menos atrativo ‘Flying Dragon’;
- 8 – Variedade porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’ comparada com o controle menos atrativo Flying Dragon;
- 9 – Variedade porta-enxerto limoeiro ‘Cravo’ comparada com o controle menos atrativo ‘Flying Dragon’;
- 10 – Variedade copa ‘Westin’ comparada com o controle menos atrativo ‘Flying Dragon’;
- 11 – Variedade copa ‘Valência’ comparada com o controle menos atrativo ‘Flying Dragon’;
- 12 – Variedade copa ‘Pera’ comparada com o controle menos atrativo ‘Flying Dragon’;
- 13 – Controle murta de cheiro comparado com o controle menos atrativo ‘Flying Dragon’.

Foram utilizadas apenas fêmeas do *D. citri*, tendo em vista que os machos não apresentam respostas aos odores como estas, além disso, apresentam resposta a feromônios liberados pelas fêmeas (WENNINGER, STELINSKI, HALL, 2009). As fêmeas com idade entre quatro e sete dias, permaneceram em jejum de pelo menos uma hora. Para cada tratamento foram feitas 22 repetições, e os psilídeos foram expostos por 10 minutos aos odores em cada repetição. Cada bioensaio foi considerado uma repetição. A cada sete repetições/tratamento, as plantas foram trocadas. Psilídeos que permaneceram imóveis na região sem resposta por mais de dois minutos foram considerados não responsivos e nesses casos, os bioensaios foram interrompidos e novos bioensaio iniciados. As escolhas de *D. citri* foram registradas no Sistema de Aquisição de Dados em Bioensaios de Olfatometria – SOLF, através de um teclado numérico (FANCELLI et al., 2017). A temperatura da sala foi mantida em $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa em $70\% \pm 10\%$. Os testes foram realizados no período das 9h00 às 15h00, período de maior atividade do inseto (SÉTAMOU et al, 2012). A iluminação utilizada foi a branca, emitida por lâmpadas de LED para simular a luz do dia, quando o inseto se alimenta das plantas cítricas. Para eliminar influências ambientais de luminosidade e odor, a arena foi girada em 90° a cada repetição em todos os tratamentos.

Bioensaios de olfatometria 4 vias – série II

Após os bioensaios de olfatometria com todas as variedades (série I), foi necessário a realização de novos testes com as variedades ‘Flying Dragon’, ‘Westin’ e híbrido ‘HTR 059’ para definir seu *status*, se atrativo ou repelente ao psilídeo. Nesse sentido, as combinações estabelecidas foram:

- 1 – Híbrido ‘HTR 059’ x Ar
- 2 – ‘Westin’ x Ar
- 3 – ‘Flying Dragon’ x Ar

Para esses bioensaios, a configuração dos tratamentos foi diferente daquela da série I. Para o ‘Flying Dragon’, testado em relação à repelência, três entradas da arena receberam ar contendo odores da planta e apenas uma com ar puro, no esquema 3 (odor planta) x 1 (ar puro) (VET et al., 1983). O inverso foi feito para o híbrido ‘HTR 059’ e ‘Westin’, onde foi testada a atratividade. Os bioensaios foram realizados conforme descrito na seção anterior, a não ser pelo número de repetições, 24.

Em ambas as séries de bioensaios, as variáveis tempo de residência e número de entradas na arena foram tabuladas em planilhas eletrônicas (Microsoft Excel 2016), que também foram usadas para confecção dos gráficos. Essas mesmas variáveis foram submetidas ao teste Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos tratamentos e quando necessário transformados [$\log(x) + 1$], e submetidos ao teste *t* pareado para avaliar a diferença entre médias ($p \leq 0,05$). Para tanto, utilizou-se o programa estatístico R (R Core Team, 2018). O tempo de permanência do psilídeo na área sem resposta (5) não foi incluído nas análises.

Detecção e identificação de compostos orgânicos voláteis (COV's)

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Ecologia Química do Centro Tecnológico Agropecuário do Estado da Bahia (CETAB).

Procedimento de extração dos COV's

A extração foi realizada utilizando-se a técnica de Micro-Extração em Fase Sólida (SPME) (VALENTE & AUGUSTO, 1999), selecionando-se três plantas de cada variedade, sendo que cada planta foi amostrada três vezes (em triplicata), somando assim, nove amostras por variedade de planta. Padronizou-se a coleta das três folhas mais jovens com lâmina completamente aberta. Para o 'Flying Dragon', que possui folhas trifoliadas e menores que as demais variedades, foram coletadas também folhas logo abaixo da terceira folha mais jovem. A massa fresca estabelecida por replicata foi de 0,2 g, pesada em balança analítica (Fig. 4A). Essa massa foi colocada em frasco de 20 mL (Fig. 4B), macerada com um bastão de vidro e lacrado com septo de silicone faceado com teflon® (Fig. 4C), o qual, em seguida, foi encaixado em um bloco de alumínio sobre uma placa aquecedora ajustada a 62°C (Fig. 4D). Foi estabelecido 11 min para o equilíbrio, tempo em que os COV's se concentram no espaço confinado (*headspace*). Em seguida, com o

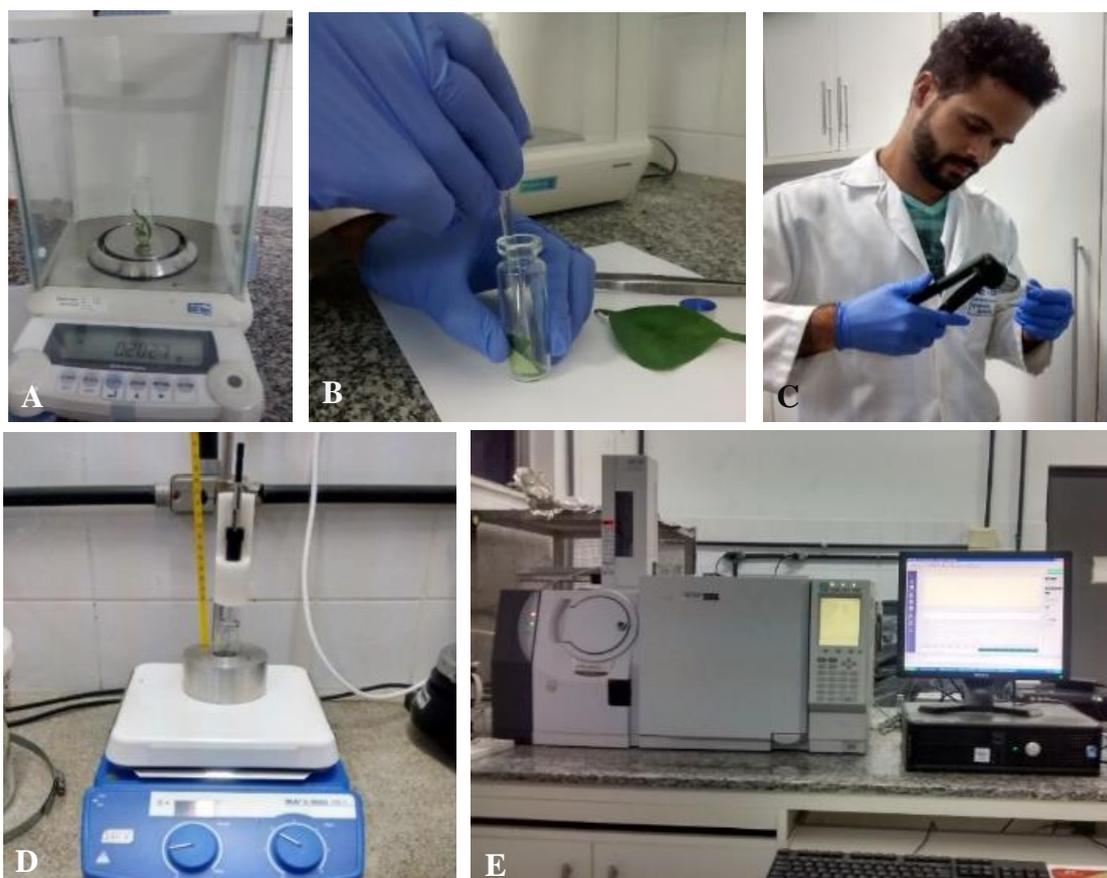


FIGURA 4. Material utilizado na extração e detecção dos COVs. A) Pesagem do material. B) Maceração da folha com bastão de vidro; C) Lacração do *vial headspace* (HS). D) Bloco de alumínio sobre a placa aquecedora. E) Cromatógrafo a gás utilizado na detecção dos COVs (CETAB).

auxílio do amostrador, o lacre foi perfurado e a fibra (DVB/CAR/PDMS, 50/30 μm) exposta por 47 min para adsorção dos voláteis. Posteriormente, a fibra foi retirada do frasco e inserida no injetor do cromatógrafo para dessorção térmica dos analitos a 250 °C durante 3 min (Fig. 4E).

Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas

A análise por GC-MS foi realizada em um instrumento Shimadzu GCMS-QP2010 Plus (Kioto, Japão), com fonte de ionização por impacto de elétrons a 70 eV. A dessorção/injeção dos analitos na coluna foi feita com injetor no modo sem divisão de fluxo (*splitless*). A separação cromatográfica foi realizada numa coluna DB-5 MS (100% dimetilpolisiloxano; 30 m \times 0,25 mm ID \times 0,25 μm , Restek, Bellefonte, EUA), com a seguinte programação de aquecimento do forno: temperatura inicial 35 °C durante 5 min, aumentando de 0,7 °C min^{-1} até 70 °C, permanecendo por 1 min; de 3,0 °C min^{-1} até 90 °C, permanecendo por 1 min; de 1,0 °C min^{-1} até 120 °C, permanecendo por 1 min; e finalmente, aumentando a uma taxa de 15 °C min^{-1} até 280 °C. O gás de arraste hélio foi mantido com fluxo constante de 0,60 mL min^{-1} (14,2 Kpa) e velocidade linear constante de 27,9 cm s^{-1} . A temperatura da linha de transferência e da fonte de ionização foram de 220 °C. Cada corrida durou 105min (LANÇA, 1993).

A identificação dos analitos foi realizada através do cálculo dos índices de Kovats, obtidos pela injeção de uma série homóloga de n-alcanos (C₈ a C₂₂), pela injeção de padrões comerciais e pela comparação dos espectros de massas obtidos nas análises com os espectros da NIST (NIST – 147.198 compostos).

Os valores das áreas relativas dos compostos detectados e identificados nas amostras foram autoescalados e submetidos à análise multivariada de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) no *software* Metaboanalyst, para verificar-se a formação de grupos entre as variedades baseado na semelhança e nos valores relativos das áreas dos COV's (HOTELLING, 1936).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bioensaios de olfatometria 4 vias – série I

Em cada teste de atratividade, foi contabilizado o tempo de permanência (em minutos) e o número de entradas das fêmeas de *D. citri* em cada braço do olfatômetro (Fig. 5 e 6).

Nas comparações entre os tempos de permanência de *D. citri* nos braços contendo os odores da murta de cheiro e os odores dos diferentes tratamentos, o único que apresentou diferença significativa foi o híbrido ‘HTR 059’, com menor tempo do que na murta de cheiro ($t = 2,2004$, $gl = 21$, $p = 0,039$). Não houve diferença significativa em relação ao tempo de permanência na murta de cheiro e demais tratamentos (‘Sunki Tropical’, $t = 0,128$, $gl = 21$, $p = 0,898$; limoeiro ‘Cravo’, $t = 0,524$, $gl = 21$, $p = 0,605$; ‘Westin’, $t = -0,905$, $gl = 21$, $p = 0,375$; ‘Valência’, $t = 0,370$, $gl = 21$, $p = 0,714$; ‘Pera’, $t = -0,108$, $gl = 21$, $p = 0,914$) (Fig. 5).

Em relação ao controle ‘Flying Dragon’, os tratamentos ‘HTR 059’, ‘Westin’ e ‘Pera’ ($t = -1,920$, $gl = 21$, $p = 0,068$; $t = -1,868$, $gl = 21$, $p = 0,075$; $t = -1,973$, $gl = 21$, $p = 0,061$, respectivamente) não mostraram diferença significativa em relação ao tempo gasto pelas fêmeas do *D. citri*. Para todas as outras combinações, o psíldeo dispendeu mais tempo nos tratamentos do que no controle (‘Sunki Tropical’, $t = -2,238$, $gl = 21$, $p = 0,0361$; limoeiro ‘Cravo’, $t = -3,158$, $gl = 21$, $p\text{-value} = 0,004$; ‘Valência’, $t = -2,392$, $gl = 21$, $p = 0,026$) (Fig. 5).

Fancelli et al. (2018) relataram *P. trifoliata* (‘Flying Dragon’) como sendo “não atrativa” ao *D. citri* em detrimento de “atrativa ou repelente”, por outro lado, Andrade et al. (2016) classificaram os genótipos de *P. trifoliata* como “mais ou menos preferidos” pelo psíldeo. Em teste de ovoposição em casa de vegetação, baixa ovoposição e inadequação ao desenvolvimento ninfal foram observadas para genótipo proveniente dos “trifoliados” (BORGONI et al., 2014, GEORGE & LAPOINTE, 2019). Por outro lado, em ensaios de olfatometria, nem todos os genótipos resultantes de cruzamentos com *P. trifoliata* foram os “menos preferidos” (ANDRADE et al., 2016). Westbrook et al. (2011) observaram que genótipos de *Citroncirus* [referência dada aos híbridos intergênicos formados pelo cruzamento de *Citrus* com *Poncirus* (KRUEGER & NAVARRO, 2007)] propagados por sementes aparentemente não herdaram a resistência à colonização por *D.*

citri encontrada em *P. trifoliata*. Portanto, assim como sugerido pelos autores, uma avaliação mais ampla envolvendo seleções de *P. trifoliata* e *Citroncirus* deve ser realizada para averiguar achados contraditórios.

A variedade ‘Valência’ se mostrou atrativa quando comparada com ‘Westin’ e ‘Pera’ (ALVES; DINIZ; PARRA, 2014). Esses mesmos autores mostraram que a variedade ‘Valência’ em contraste com ‘Hamlin’ e ‘Natal’ foi a mais adequada ao desenvolvimento do *D. citri*. Alves (2017), também indicou que a *D. citri* mostrou maior interesse por essa variedade quando comparada com o limoeiro ‘Siciliano’ e a laranja doce ‘Hamlin’. Quando o parâmetro avaliado foi o consumo alimentar, medido por área de “honeydew”, a copa ‘Valência’ mais uma vez se mostrou como mais adequada.

Quando a comparação se aplica aos tratamentos em relação ao controle positivo murta de cheiro, o porta-enxerto significativamente menos atrativo foi o híbrido ‘HTR 059’ ($t = 2,200$, $gl = 21$, $p = 0,039$). Os trifoliados têm sido relatados como menos atrativos ao *D. citri* (RICHARDSON & HALL, 2013; FANCELLI et al., 2018).

Em teste de ovoposição e viabilidade ninfal, o limoeiro ‘Cravo’ se mostrou melhor hospedeiro em relação à murta de cheiro e à mandarina ‘Sunki’ (NAVA et al., 2007), mas em trabalho de interação copa/porta-enxerto, as combinações de ‘Sunki’ com as copas ‘Valência’ e limoeiro ‘Siciliano’ se mostraram melhores hospedeiras ao inseto (ALVES et al., 2018). Isso demonstra que a interação entre a copa e o porta-enxerto também influenciam na relação do psíldeo com a planta, e devem ser consideradas nos estudos de atratividade entre *D. citri* e os citros.

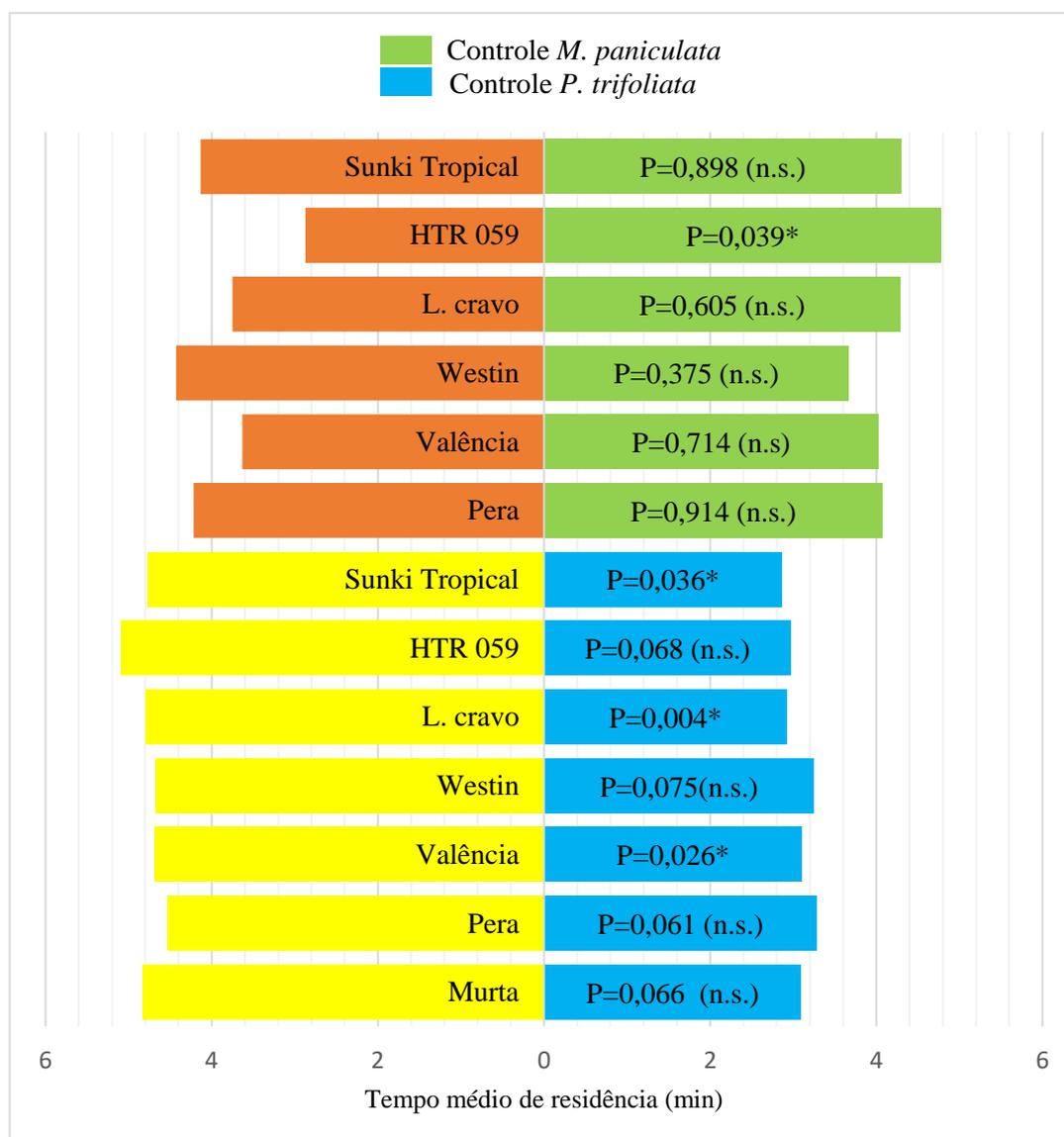


Figura 5. Tempo de residência, em minutos, das fêmeas de *D. citri* em resposta aos odores emitidos por variedades de copas e de porta-enxerto de citros em arena de 4 vias de cada tratamento. Laranja e amarelo: tempo de permanência nos tratamentos ‘Sunki’, híbrido ‘HTR 059’, limoeiro ‘Cravo’, ‘Westin’, ‘Valência’ e ‘Pera’; Verde: tempo de permanência no controle *M. paniculata*; Azul: tempo de permanência no controle *P. trifoliata*. * $P \leq 0,05$, n.s. não significativo pelo teste *t*.

Em relação ao número de entradas nos braços do olfatômetro, não houve diferença significativa em nenhum dos tratamentos em relação a murta de cheiro (Fig. 6). No entanto, quando os tratamentos foram comparados ao controle negativo ‘Flying Dragon’, houve significativamente mais entradas nos braços contendo odores dos tratamentos limoeiro ‘Cravo’ ($t = -2,451$, $gl = 21$, $p = 0,023$), ‘Westin’ ($t = -2,1585$, $gl = 21$, $p = 0,042$) e ‘Valência’ ($t = -1,9485$, $gl = 21$, $p = 0,064$). Para os tratamentos ‘Sunki Tropical’ ($t = -$

0,42829, gl = 21, p = 0,6728), ‘HTR 059’ (t = -1,5408, gl = 21, p = 0,1383) e ‘Pera’ (t = -0,99553, gl = 21, p = 0,3308) não houve diferença.

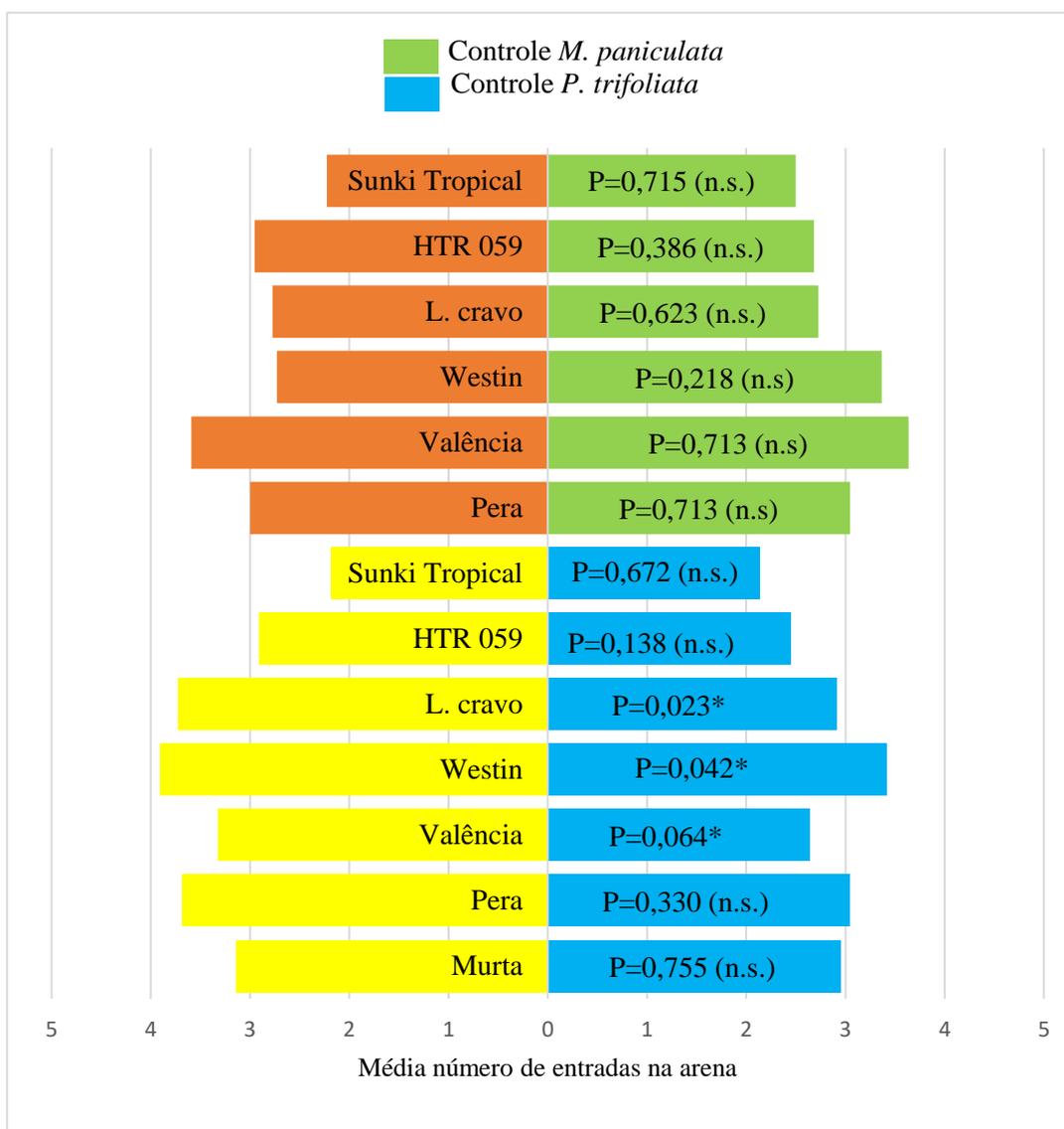


Figura 6. Número de entradas das fêmeas de *D. citri* em cada tratamento em resposta aos compostos emitidos por variedades de copas e de porta-enxerto de citros em arena de 4 vias. Laranja e amarelo: número de entradas nos tratamentos ‘Sunki’, híbrido ‘HTR 059’, limoeiro ‘Cravo’, ‘Westin’, ‘Valência’ e ‘Pera’; Verde: número de entradas no controle *M. paniculata*; Azul: número de entradas no controle *P. trifoliata*. * $P \leq 0,05$ e n.s. não significativo pelo teste t.

No presente trabalho, em comparações com o controle menos atrativo, o porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’ se mostrou menos atrativo para o inseto, já entre copas, as

variedades ‘Pera’ e ‘Westin’ foram as menos atrativas. A variedade ‘Valência’, por sua vez, foi a mais atrativa, assim como os porta-enxertos ‘Sunki Tropical’ e o limoeiro ‘Cravo’

Bioensaios de olfatométrica 4 vias – série II

A variedade mais atrativa (‘Westin’) e as variedades menos atrativas (híbrido ‘HTR 059’ e ‘Flying Dragon’) ao psilídeo também foram submetidas ao teste de atratividade em relação ao ar puro, a fim de confirmar os padrões detectados anteriormente. Os resultados mostram que em relação ao híbrido ‘HTR 059’, o inseto permaneceu significativamente mais tempo no braço ar ($t = -3,0995$, $gl = 23$, $p = 0,0050$), apesar de terem sido oferecidos 3 braços com odores deste tratamento, o que reforça a pouca atratividade desse porta-enxerto (Fig. 7).

As variedades ‘Westin’ e ‘Flying Dragon’ apresentaram comportamento inesperado, o primeiro como repelente e o segundo como atrativo ($t = -4,3892$, $gl = 23$, $p = 0,00021$ e $t = 3,1252$, $gl = 23$, $p = 0,0047$, respectivamente) (Fig. 7), diferente dos resultados observados nos bioensaios da série I. Dessa forma, mais estudos devem ser feitos, inclusive da interferência temporal na produção dos compostos liberados pelas variedades, posto que o estudo de voláteis foi feito apenas em consonância com os bioensaios da série I.

Além disso, sabe-se que independentemente da variedade em estudo, a composição do odor emitido e sua discriminação pelo inseto podem se alterar de acordo com as propriedades da mistura de COV’s. Dessa forma, compostos que são repelentes isoladamente podem apresentar efeito contrário quando combinados, ou mesmo permanecer com o mesmo padrão de atratividade (WEBSTER et al., 2010; SIGNORETTI, 2014). Isso pode explicar porque, em determinadas situações, variedades relatadas como repelentes, como o ‘Flying Dragon’, apresentaram comportamentos distintos do esperado.

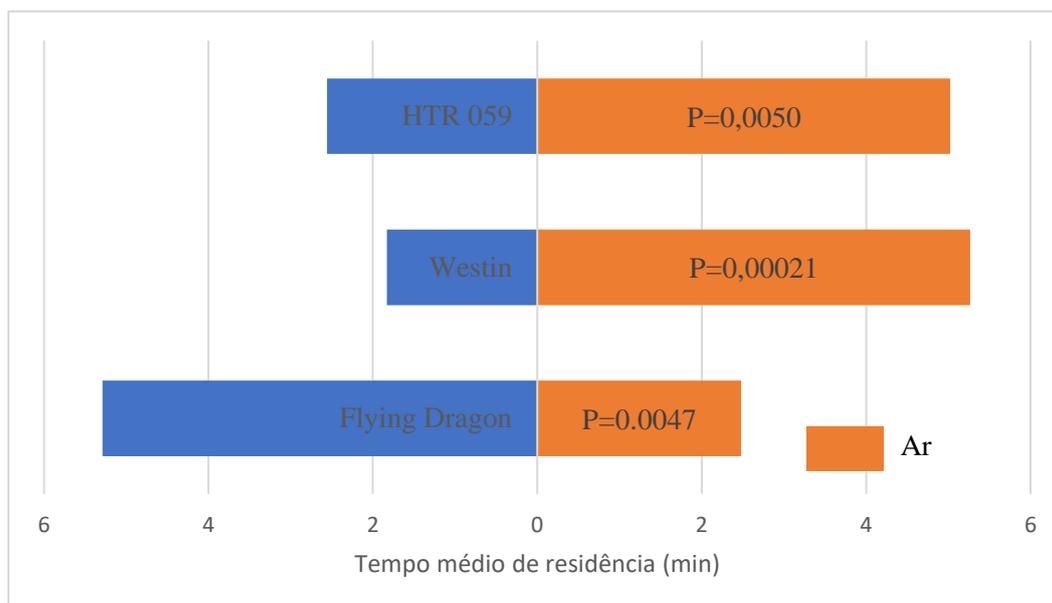


Figura 7. Tempo de residência, em minutos, de fêmeas de *D. citri* aos compostos emitidos pelo híbrido ‘HTR 059’, ‘Westin’ e ‘Flying Dragon’, quando o controle ‘ar puro’ foi usado. * $P \leq 0,05$ teste *t*. Azul: tempo de permanência nos tratamentos híbrido ‘HTR 059’ e ‘Westin’, e no controle *P. trifoliata*; Laranja: tempo de permanência no controle ‘ar puro’.

Detecção e Identificação dos compostos voláteis de citros sob Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas

Foram identificados 43 compostos orgânicos voláteis (COV's) nas variedades incluídas neste estudo (Tab. 1), sendo 21 na murta, 27 no ‘Flying Dragon’, 41 no híbrido ‘HTR 059’, 42 no ‘L. Cravo’ e ‘Sunki Tropical’ e 40 nas copas. A maior parte desses compostos, detectados pela técnica HS-SPME/GC-MS, pertence à classe dos hidrocarbonetos monoterpênicos (32,56%), seguidos da classe dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (30,23%). Essas duas classes de voláteis estão envolvidas principalmente na defesa da planta contra pragas e doenças (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010; ALQUÉZAR et al., 2017). Outros compostos como monoterpênicos oxigenados (9,31%), álcoois (9,31%), aldeídos (6,97%) e outros (11,62%) estão entre os COV's identificados.

Os compostos majoritários na murta de cheiro foram β -cariofileno e elixeno que juntos somam 67,86%. Gemacreno D, γ -elemeno e β -cariofileno foram os mais abundantes no ‘Flying Dragon’ (74,25%). No híbrido ‘HTR 059’, os compostos β -pineno, β -cariofileno e γ -elemeno somam 61,35% de abundância. β -pineno, D-limoneno e β -cariofileno somam 60,22% como os principais compostos no limoeiro ‘Cravo’. β -pineno,

D-limoneno, β -cariofileno e γ -elemeno representam 64,37% dos compostos encontrados no porta-enxerto 'Sunki Tropical'. Os principais compostos encontrados nas variedades copa foram semelhantes, porém para a variedade 'Westin', β -pineno, 3-careno, β -citral, decanol e β -cariofileno perfazem 56,96% do perfil de voláteis; para 'Pera', β -pineno, 3-careno, linalol e β -cariofileno, somam 48,93%; e por fim, na 'Valência' os compostos mais representativos foram β -pineno, 3-careno, linalol, decanol e β -cariofileno somando 57,52% de abundância.

Tabela 1. Composição relativa (%) dos COV's identificados nos controles e nas variedades copa e porta-enxertos.

No.	Composto	KI ^b _{EXP}	KI ^c _{LIT}	Murta	'Flying Dragon'	'HTR 059'	'Cravo'	'S. Tropical'	'Westin'	'Pera'	'Valência'
1	Hexanal ^a	803	803	0,16	0,15	0,10	0,06	0,02	0,11	0,12	0,07
2	2-hexanal	855	855	1,77	1,74	1,23	1,15	0,64	1,36	1,67	1,01
3	4-Hexen-1-ol	859	866	0,66	0,87	0,73	0,28	0,35	0,61	1,00	0,91
4	2-hexen-1-ol	872	872	0,11	0,12	0,07	0,12	0,05	0,04	0,07	0,04
5	Hexanol	874	874	0,02	0,34	0,18	0,06	0,02	0,04	0,08	0,05
6	2,4-hexadienal	911	910	0,02	0,08	0,14	0,05	0,02	0,13	0,14	0,09
7	α -tujeno	927	923	-	-	0,21	0,24	1,90	1,24	1,73	1,76
8	α -pineno ^a	931	931	-	-	1,12	1,14	2,00	0,97	1,15	1,15
9	Canfeno	945	945	-	-	0,11	0,09	0,15	0,02	0,02	0,03
10	β -pineno	975	975	-	-	10,57	9,89	26,36	12,84	16,84	18,28
11	β -mirceno ^a	994	994	0,01	5,11	0,83	1,51	3,30	3,46	3,62	3,59
12	α -felandreno ^a	1002	1002	-	0,02	0,17	0,11	0,62	1,34	1,25	1,33
13	3-careno	1006	1006	-	-	0,06	0,25	0,09	8,77	7,61	7,33
14	D-limoneno ^a	1029	1031	-	0,05	4,73	33,28	12,11	4,97	4,61	4,30
15	β -ocimeno ^a	1044	1044	-	0,07	1,03	0,80	0,73	0,59	0,50	0,70
16	Trans- β -ocimeno	1059	1058	-	-	0,52	0,20	1,62	0,98	1,53	1,65
17	α -terpinoleno	1085	1084	-	-	0,08	0,12	0,64	3,86	3,38	3,61
18	Linalol ^a	1099	1099	-	-	0,51	1,33	4,10	5,59	15,04	16,08
19	Citronelal	1165	1165	-	-	0,16	-	0,02	1,93	1,32	0,89
20	4-terpineol	1179	1179	-	-	0,01	0,08	0,37	0,30	0,32	0,43
21	α -terpineol	1190	1190	0,06	-	0,20	1,08	1,19	1,85	1,39	2,26
22	Decanal ^a	1205	1205	-	0,39	0,60	0,58	0,21	0,02	0,07	0,01
23	Acetato de octila	1216	1216	-	0,06	0,03	0,02	0,01	-	0,01	0,03

24	Citronelol	1231	1231	-	-	0,21	1,49	0,35	1,31	0,86	1,83
25	β -cital	1242	1242	-	-	-	4,35	0,93	10,24	4,02	4,96
26	Decanol	1275	1274	-	0,07	0,14	6,79	1,50	17,10	6,94	8,40
27	Tridecano	1301	1300	-	0,08	0,54	0,32	0,05	-	-	-
28	Geranato de metila	1325	1323	-	-	-	0,01	-	0,82	0,89	0,38
29	α -cubebeno	1344	1343	1,97	0,48	0,49	0,24	0,50	0,07	0,06	0,07
30	acetato de citronelol	1357	1357	-	-	0,43	0,75	0,15	0,01	-	-
31	Copaeno	1368	1368	1,86	0,41	1,06	1,39	1,12	0,58	0,33	0,42
32	β -elemeno	1379	1375	0,05	1,02	0,98	0,02	0,64	2,11	2,44	1,37
33	cis- α -bergamoteno	1404	1404	3,25	0,17	0,18	0,53	0,12	0,33	0,55	0,52
34	β -cariofileno ^a	1412	1412	38,65	21,08	22,08	17,05	15,77	8,01	9,44	7,44
35	γ -elemeno	1436	1435	0,58	16,08	15,16	4,16	10,13	-	-	-
36	α -cariofileno	1450	1450	7,66	3,89	4,41	2,48	3,78	3,34	3,94	2,43
37	β -farneseno	1466	1458	-	-	4,86	0,65	0,14	2,07	3,46	4,19
38	Germacreno D	1482	1482	5,97	37,08	13,54	0,15	0,44	1,05	1,52	0,74
39	β -ionona ^a	1489	1489	0,85	0,79	0,57	0,10	0,28	0,23	0,24	0,11
40	Elixeno	1495	1492	29,21	5,13	7,73	2,05	4,68	0,51	0,53	0,54
41	α -muuroleno	1497	1497	0,47	0,94	1,23	0,31	0,73	0,52	0,61	0,34
42	α -farnese	1515	1514	0,31	1,92	0,84	3,78	0,80	0,13	0,12	0,11
43	δ -cadineno	1528	1528	6,35	1,87	2,18	0,94	1,39	0,57	0,58	0,59

^aIdentificação confirmada por comparação com os espectros de massas e tempos de retenção de padrões analíticos. KI_{EXP}^b = índice de retenção relativo a n-alcenos (C8 a C40) obtido em coluna capilar Rxi-1 MS. KI_{LIT}^c = índice de retenção publicado na literatura.

A análise multivariada realizada a partir da matriz dos compostos identificados nas variedades testadas agrupou as variedades de acordo com a similaridade dos compostos presentes em cada uma. Foram detectados oito grupos de amostras pela análise de agrupamento hierárquico (HCA), como mostrado no dendrograma da Fig. 8.

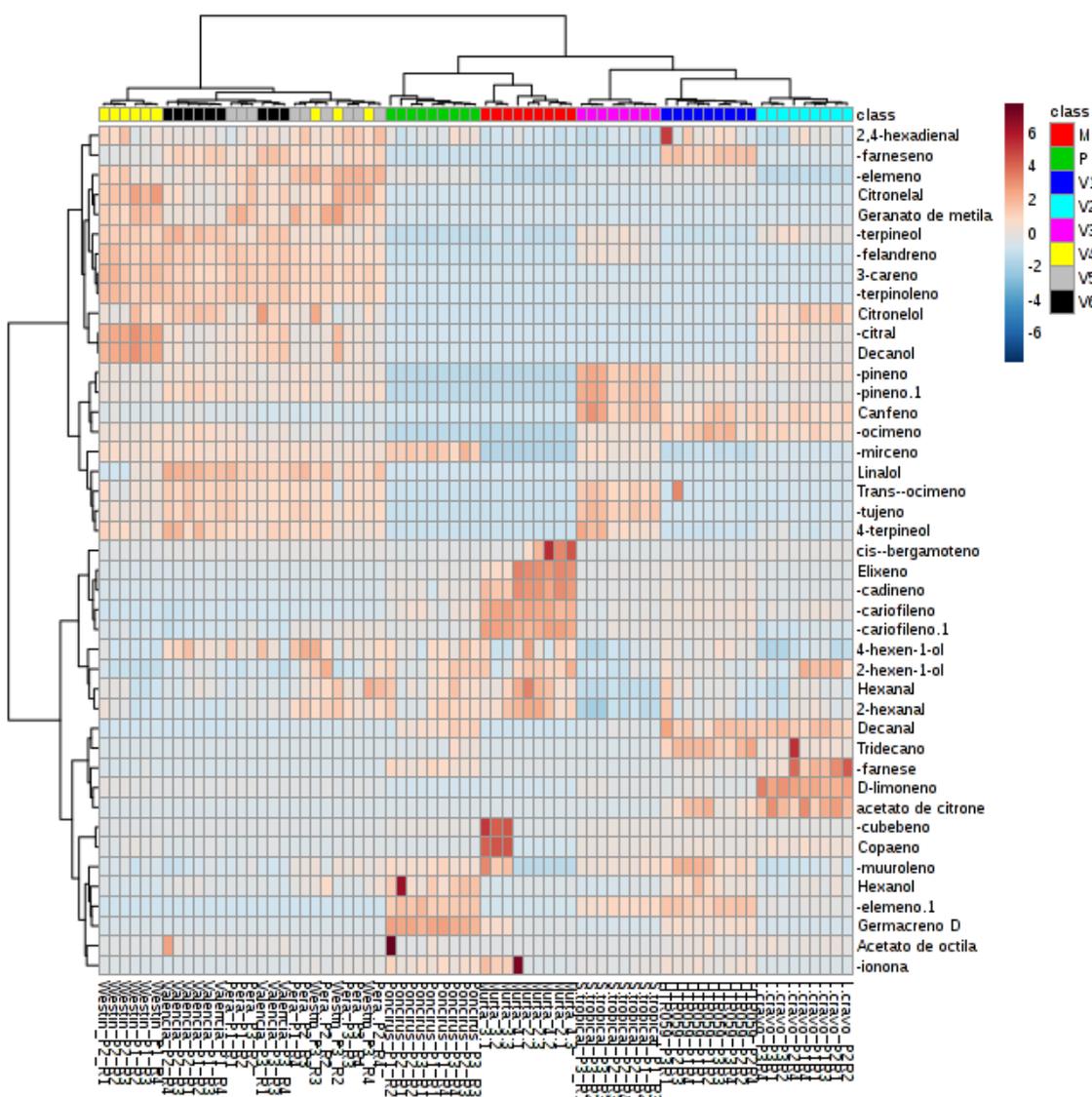


Figura 8. Dendrogramas associado ao mapa de calor com dos compostos voláteis identificados nas variedades de citros e afins utilizadas neste estudo. M, *M. paniculata* de cheiro; P, *P. trifoliata* ('Flying Dragon'); V1, híbrido 'HTR 059'; V2, limoeiro 'Cravo'; V3, 'Sunki Tropical'; V4, 'Westin'; V5, 'Pera'; V6, 'Valência'. Acima: dendrograma das amostras utilizadas; na lateral à esquerda: dendrograma dos compostos detectados. A cor das células é referente às abundâncias, 6 representa alta abundância e -6 baixa abundância.

As amostras das variedades porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’, limoeiro ‘Cravo’ e ‘Sunki Tropical’ formaram um grupo, sendo este mais próximo do agrupamento formado pela murta de cheiro e ‘Flying Dragon’ do que em relação ao agrupamento formado pelas variedades de copa (‘Westin’, ‘Pera’ e ‘Valência’). Observa-se que no agrupamento das variedades copa existe uma grande variabilidade no perfil das amostras analisadas, o que fez com que houvesse uma mistura de amostras de variedades diferentes formando pequenos grupos dentro desse agrupamento. Essa variação deve estar relacionada à idade das folhas selecionadas, ainda que para todas plantas amostradas tenha-se selecionado as três folhas mais jovens com lâmina foliar totalmente aberta. Essa variação já foi observada para a murta de cheiro (PATT & SÉTAMOU, 2010).

Interessante notar que a murta de cheiro e ‘Flying Dragon’ possuíram uma maior semelhança no perfil de compostos entre si do que com as variedades estudadas, além disso, apresentaram número baixo de voláteis (20 e 27, respectivamente). A proximidade deste grupo com o grupo dos porta enxertos pode ser explicada pelo ‘Flying Dragon’ ter sido utilizado na geração do híbrido ‘HTR 059’. O híbrido ‘HTR 059’ foi gerado a partir do cruzamento do híbrido de *C. limonia* Osbeck x *P. trifoliata* com *C. sunki* Hort. ex. Tanaka (CARVALHO et al., 2016).

No mapa de calor, é evidenciada a influência de cada composto no agrupamento de amostras. O agrupamento formado pelas variedades de porta-enxerto limoeiro ‘Cravo’, ‘Sunki Tropical’ e o híbrido ‘HTR 059’ apresenta uma concentração elevada de compostos como canfeno, β -ocimeno, decanal, tridecano, D-limoneno, acetato de citronelol. O composto D-limoneno foi apontado por Mann et al. (2012) como atrativo para *D. citri* apenas em uma das doses testadas, já o β -ocimeno se comportou como atrativo em todas as doses testadas.

O porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’, diferente dos demais, ainda apresentou o COV farneseno, encontrado em grande quantidade na planta não hospedeira *Anacardium occidentale* L. e apontado por Fancelli et al. (2018) como possível repelente à *D. citri*. Nos bioensaios de olfatometria, o híbrido ‘HTR 059’ se mostrou como o menos atrativo em relação à murta de cheiro e a tab. 1 mostra que o padrão de COV’s produzidos por essa variedade é similar àquele produzido pelo ‘Flying Dragon’, variedade majoritariamente indicada como menos atrativa (RICHARDSON & HALL, 2013; FANCELLI et al., 2018). Este fato deve-se, como comentado anteriormente, à presença desta variedade na origem do híbrido ‘HTR 059’ (CARVALHO et al., 2016). Além de ter se mostrado menos atrativo ao psilídeo em relação à murta de cheiro, como constatado

no presente estudo, o porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’ já foi apontado como bom substituto ao limoeiro ‘Cravo’, um dos porta-enxertos mais utilizados na Bahia (CARVALHO et al., 2016). Esse porta-enxerto, quando testado com a copa ‘Pera’, apresentou reduzida perda de água por evapotranspiração e grande eficiência no uso da água para assimilação de CO₂ (CARVALHO et al., 2016).

O agrupamento formado pela murta de cheiro e o “Flying Dragon” possuiu maior expressão dos compostos cis-bergamoteno, elixeno, α -cariofileno, β -cariofileno, 4-hexen-1-ol, 2-hexen-1-ol, hexanal e β -ionona. A qualidade e a quantidade dos COV’s presentes na murta de cheiro têm variado de acordo com a literatura, mas em geral a maioria dos trabalhos sempre aponta tanto o α -cariofileno quanto β -cariofileno como um dos principais COV’s encontrados (Patt & Sétamou, 2010). Esses compostos possuem condição de atratividade/repelência ao *D. citri* controversa, geralmente influenciada pela concentração utilizada, como apontado por Silva et al. (2016). Corroborando com esse argumento, Patt & Sétamou (2010) apontam que o efeito dos COV’s pode estar relacionado a uma mistura de compostos de pelo menos duas classes predominantes.

Por fim, no agrupamento formado pelas variedades de copa ‘Westin’, ‘Pera’ e ‘Valência’, foi observada maior concentração dos compostos γ -elemeno, citronelal, geranato de metila, α -pineno, felandreno, 3-careno, terpinoleno e linalol. Compostos semelhantes já haviam sido relatados por Beloti et al. (2017) para a copa ‘Valência’. O composto α -pineno foi um dos mais abundante, mas os compostos 3-careno e linalol também foram encontrados em quantidade expressiva. Robbins et al. (2012) também encontraram esses compostos na variedade ‘Valência’. Patt & Sétamou (2010) atribuíram ao linalol a atratividade das plantas cítricas ao *D. citri*. Dessa forma, em conjunto com os outros compostos encontrados nas variedades de *C. sinensis*, linalol pode ser o principal fator atrativo ao psilídeo.

A análise de componentes principais (PCA) também foi empregada para identificar os principais grupos formados a partir das concentrações dos compostos identificados nas variedades cítricas do estudo. Na PCA, apresentada na Fig. 9, são observados agrupamentos semelhantes aos observados no dendograma gerado na análise de HCA.

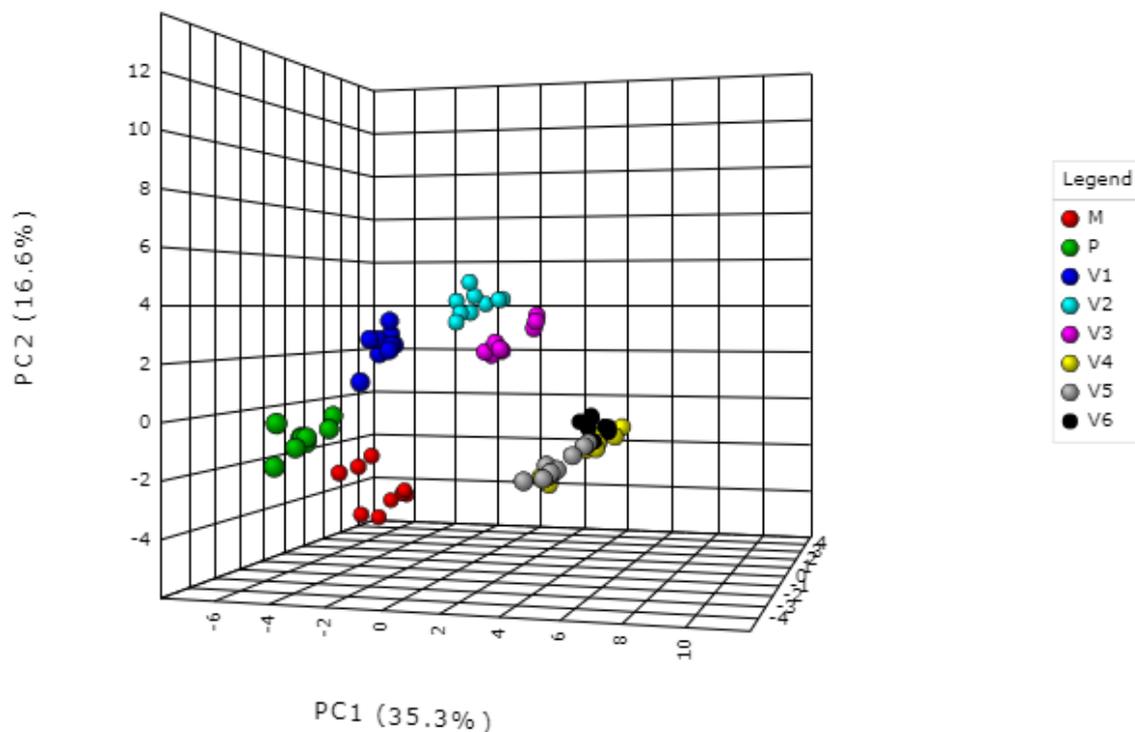


Figura 9. Gráfico de escores de PCA 3D para as amostras das variedades de citros e afins envolvidas no estudo. M, *M. paniculata*; P, *P. trifoliata* ('Flying Dragon'); V1, híbrido 'HTR 059'; V2, limoeiro 'Cravo'; V3, 'Sunki Tropical'; V4, 'Westin'; V5, 'Pera'; V6, 'Valência'.

Killiny et al. (2017) utilizaram não só a HCA, mas também a PCA para averiguar a influência das concentrações de cada composto no agrupamento das amostras da variedade cítrica 'Sugar Belle', relativamente tolerante ao HLB, e seus parentais [(mandarina 'Clementina' (*Citrus reticulata*) x tangelo 'Minneola', toranja 'Duncan' (*C. paradisi*) x 'Dancy' tangerine (*C. reticulata*)] a fim de identificar compostos envolvido na tolerância.

Assim como observado por Killiny et al. (2017), na PCA os híbridos tendem a se agrupar próximo aos parentais devido a similaridade entre os compostos liberados, e os grupos formados pelas amostras de 'Flying Dragon' e do híbrido 'HTR 059' apresentaram maior semelhança entre si no perfil de COV's. Ambos estão mais próximos dos grupos das amostras de limoeiro 'Cravo' e 'Sunki Tropical', apresentando estes grupos um perfil de compostos bem distintos das outras amostras das demais variedades analisadas. As amostras de murta de cheiro, se separaram constituindo um grupo à parte mais próximo de 'Flying Dragon'. Já as copas de *Citrus sinensis*, que apresentaram o mesmo número de compostos identificados (40), também se agruparam de forma difusa, com amostras

da variedade ‘Pera’ misturadas às amostras das variedades ‘Westin’ e ‘Valência’, assim como observado no dendograma gerado na análise de HCA.

CONCLUSÕES

Os ensaios de olfatosmetria mostraram que:

1. A variedade ‘HTR 059’ foi a menos atrativa ao *D. citri* quando comparada com a murta de cheiro;
2. As variedades ‘Sunki Tropical’, limoeiro ‘Cravo’ e ‘Valência’ foram as mais atrativas ao *D. Citri* quando comparada com o *Poncirus trifoliata* (Flying Dragon);
3. As variedades ‘HTR 059’, ‘Westin’ e ‘Pera’ se mostraram menos atrativas em relação as demais variedades nas comparações com *Poncirus trifoliata* (Flying Dragon);
4. Mais estudos com as variedades Flying Dragon (*P. trifoliata*) e ‘Westin’ devem ser realizados para esclarecer os padrões de atratividade, já que foram encontradas discrepâncias nos bioensaios da série II;

Os estudos de detecção de COV’S nas espécies estudadas mostraram que:

1. Foram identificados 43 COV’s sendo maior parte destes pertencentes a classe dos hidrocarbonetos monoterpênicos e a classe dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos;
2. Nas copas ‘Valência’ e ‘Pera’ os COV’s prevalentes foram β -pineno e linalol e na ‘Westin’, β -pineno e decanol;
3. No porta-enxerto ‘HTR 059’ os compostos prevalentes foram β -cariofileno e γ -elemeno, no limoeiro ‘Cravo’, β -cariofileno e D-limoneno e β -cariofileno e β -pineno no ‘Sunki Tropical’;
4. Os compostos encontrados em maior abundância relativa no híbrido ‘HTR 059’ β -cariofileno e γ -elemeno estão possivelmente relacionados à menor atratividade desse híbrido ao *D. citri*;

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa Mandioca e Fruticultura e ao Centro Tecnológico Agropecuário da Bahia pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, pelo apoio financeiro projeto T.O. RED0040/2014; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa de mestrado de L.C.O.

REFERÊNCIAS

- ADAB, Agência de Defesa Agropecuária da Bahia. **Agricultores e técnicos da Bahia e Sergipe trocam experiências em seminário da Citricultura**. 2017. Disponível em: <<http://www.adab.ba.gov.br/2017/03/1404/Agricultores-e-tecnicos-da-Bahia-e-Sergipe-trocam-experiencias-em-seminario-da-Citricultura.html>>. Acesso em: 12 de agosto de 2018.
- ALQUÉZAR, B. et al. β -caryophyllene emitted from a transgenic *Arabidopsis* or chemical dispenser repels *Diaphorina citri*, vector of *Candidatus* Liberibacters. **Scientific Reports**, v. 7, n. 5639, p. 1-9, 2017.
- ALVES, G. R. et al. Does the scion or rootstock of Citrus sp. affect the feeding and biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 77-84, 2018.
- ALVES, G. R. **Efeitos de variedades cítricas sobre o vetor das bactérias associadas ao Huanglongbing (HLB) *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)**. 82 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo. 2017.
- ALVES, G. R.; DINIZ, A.J.F.; PARRA, J.R.P. Biology of the huanglongbing vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on different host plants. **Horticultural Entomology**, v. 107, n. 2, p. 691-696, 2014.
- ANDRADE, M. S. et al. Essential Oil Variation from Twenty Two Genotypes of Citrus in Brazil — Chemometric Approach and Repellency Against *Diaphorina citri* Kuwayama. **Molecules**, v. 21, p. 1-10, 2016.
- AUBERT, B. *Trioza erytrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, v. 42, n. 3 p.149-162, 1987.
- BELOTI, V. H. et al. Curry leaf smells better than citrus to females of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v.11, n. 5, p. 709-716, 2017
- BORGONI, P.C. et al. Resistance of citrus and related genera to *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, p. 465-469, 2014.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 1, p.7-37, 2006.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing and the future of citrus in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, n. 3, p. 465-467, 2012.
- CARVALHO, L. M. et al. Porta-enxertos promissores, alternativos ao limoeiro 'Cravo', nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 2, p.132-141, 2016.
- COLETTA-FILHO, H. D. et al. First report of the causal agent of huanglongbing (“*Candidatus* Liberibacter asiaticus”). **Plant Disease**, v. 88, n.12, p. 1382, 2004.

- COUTINHO-ABREU I. V. et al. Odor Coding in a Disease-Transmitting Herbivorous Insect, the Asian Citrus Psyllid. **Chemical Senses**, v. 39, n. 6, p. 539-549, 2014a.
- COUTINHO-ABREU I. V. et al. Odorants for Surveillance and Control of the Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*). **PloS One**, v. 9, n. 10, p. 1-7. 2014b.
- FANCELLI, M. et al. SOLF – System for data acquisition in olfactometry bioassays. **Citrus Research & Technology**, v. 38, n. 1, p. 95-98, 2017.
- FANCELLI, M. et al. Attractiveness of host plant volatile extracts to the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, is reduced by terpenoids from the non-host cashew. **Journal of Chemical Ecology**, v. 44, n. 4, p. 397-405, 2018.
- FRANCO, A.S.M. O suco de laranja brasileiro no mercado global. **Análise Conjuntural**, v.38, n.11, p. 11-12, 2016
- FUNDECITRUS, FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA. **Manual técnico: Greening**. 12p., 2009.
- GEORGE, J.; LAPOINTE, S. L. Host-plant resistance associated with *Poncirus trifoliata* influence oviposition, development and adult emergence of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Pest Management Science**, v. 75, n. 1, p. 279-285, 2019.
- 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, n. 3, p. 330-356, 2004.
- HOTELLING, H. Simplified calculation of principal components. **Psychometrika**, Williamsburg, v.1, p.27-35, 1936.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Área plantada ou destinada à colheita, área colhida, quantidade colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras temporárias e permanentes**. 2019. Disponível em: <<http://www.IBGE.gov.br/sidra>>. Acesso em 20 de janeiro de 2019.
- KEREMANE, M. L. et al. Report of *Candidatus Liberibacter caribbeanus*, a new citrus- and psyllid-associated *Liberibacter* from Colombia, South America. **The American Phytopathological Society**, 2015. Disponível em: <http://www.apsnet.org/meetings/Documents/2015_meeting_abstracts/aps2015abO253.htm>. Acesso em: 19 de agosto de 2018.
- KILLINY, N. et al. Metabolically speaking: Possible reasons behind the tolerance of ‘Sugar Belle’ mandarin hybrid to huanglongbing. **Plant Physiology and Biochemistry** v. 116, p. 36-47, 2017.
- KRUEGER, R.R.; L. NAVARRO. Citrus germplasm resources, p. 45–140. In: Khan, I.A. (ed.) Citrus genetics, breeding and biotechnology. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK, 2007.
- LANÇA, S. F. M. **Cromatografia em fase Gasosa**. São Carlos: Acta, 235 p. 1993.
- LIMA, A. P. M. **Análise exploratória da competitividade da cadeia produtiva dos citros no município de Cruz das Almas-BA: uma avaliação de cluster**. 80f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, Bahia. 2017.

- LOPES, S.A.; FRARE, G.F. Graft transmission and cultivar reaction of citrus to 'Candidatus Liberibacter americanus'. **Plant Disease**, v. 92, n. 1, p. 21-24, 2008.
- LOPES, S.A. et al. Liberibacters associated with citrus huanglongbing in Brazil: 'Candidatus Liberibacter asiaticus' is heat tolerant, 'Ca. L. americanus' is heat sensitive. **Phytopathology**, v. 99, n. 3, p. 301-306, 2009a.
- LOPES, S. A. et al. Graft transmission efficiencies and multiplication of 'Candidatus Liberibacter americanus' and 'Ca. liberibacter asiaticus' in citrus plants. **Phytopathology**, v. 99, n. 3, p. 301-306, 2009b.
- MANN, R. S. et al. Induced release of a plant-defense volatile 'deceptively' attracts insect vectors to plants infected with a bacterial pathogen. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 3, p. 1-13, 2012.
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. CGAC - Coordenação Geral de Apoio às Câmaras Setoriais e Temáticas Ata de reunião - **Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Citricultura**, 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais/tematicas/documentos/camaras-setoriais/citricultura/anos-anteriores/ata-da-reuniao-48>>. Acesso em: 11 de agosto de 2018.
- MARSARO-JÚNIOR, A.L. et al. Primeiro registro de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) para o estado de Roraima, Brasil. **Revista de Agricultura**. v.89, n.3, p. 183-186, 2014.
- NAROUËI-KHANDAN, H. A. et al. Global climate suitability of citrus huanglongbing and its vector, the Asian citrus psyllid, using two correlative species distribution modeling approaches, with emphasis on the USA. **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, n. 3, p. 655-670, 2016.
- NASCIMENTO, A. S.; SILVA, S. X.; LARANJEIRA, F. F. Densidade populacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), vetor do huanglongbing (Ex-Greening), em quatro regiões endêmicas no Brasil. **Conbraf – Congresso Brasileiro de Fitossanidade**, Águas de Lindóia – São Paulo, 2015.
- NAVA, D. E. et al. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9-10, p. 709-715, 2007.
- NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G. **Anuário da Citricultura**. São Paulo: CITRUSBR. 1º ed., 2017. 60 p.
- NEVES, M. F. et al. **O retrato da citricultura brasileira**. Markestrat: Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégia. FEA, Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade de Ribeirão Preto/SP, 2011. 138p.
- ONAGBOLA, E. O. et al. Guava leaf volatiles and dimethyl disulphide inhibit response of *Diaphorina citri* Kuwayama to host plant volatiles. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, n. 6, p. 404-414, 2011.
- 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.

PATT, J. M.; SÉTAMOU, M. Responses of the Asian citrus psyllid to volatiles emitted by the flushing shoots of its rutaceous host plants. **Environmental Entomology**, v. 39, n. 2, p. 615-624, 2010.

PETTERSSON, J. An aphid sex attractant. 1. Biological studies. **Entomologica Scandinavica**, v.1, p.63-73, 1970.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. Disponível em <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: julho/2018.

RICHARDSON, M. L.; HALL, D. G. Resistance of Poncirus and Citrus × Poncirus germplasm to the Asian citrus psyllid. **Crop Science**, v.53, p. 183, 2013.

ROBBINS, P. S. et al. Volatile profiles of young leaves of Rutaceae spp. Varying in susceptibility to the asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 95, n. 3, p. 774-776, 2012.

SANCHES, M. M. et al. Survey for phytoplasmas and “*Candidatus Liberibacter sp.*” from HLB-like symptomatic citrus plants in Brazil. **Citrus Research & Technology**, v. 37, n. 1, p. 88-93, 2016.

SANTOS, A. C. A. **Identificação de compostos orgânicos voláteis em plantas da família Rutaceae**. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, Bahia, 2016.

SÉTAMOU, M. et al. Diurnal Patterns of Flight Activity and Effects of Light on Host Finding Behavior of the Asian Citrus Psyllid. **Journal of Insect Behavior**, v. 25, n. 3, p. 264-276, 2012.

SIGNORETTI, A. G. C. **Identificação de voláteis de plantas de citros com potencial para uso no manejo integrado de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidea)**. 76 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo. 2014.

SILVA, J. A.A. et al. Repellency of selected *Psidium guajava* cultivars to the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Crop Protection**, v. 84, p. 14-20, 2016.

TEIXEIRA, D. C. et al. First Report of a huanglongbing-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil and association of a new *Liberibacter* Species, “*Candidatus Liberibacter americanus*”, with the Disease. **Plant Disease**, v. 89, n 1, p. 107, 2005a.

TEIXEIRA, D. C. et al. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the ‘*Candidatus*’ *Liberibacter* species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, p. 173-179, 2005b.

TEIXEIRA, D. C. et al. ‘*Candidatus Liberibacter americanus*’, associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1857-1862, 2005c.

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

VALENTE, A. L. P.; E AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 523-530, 1990.

VET, L. E. M. et al. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, v. 8, p. 97-106, 1983.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância. **Embrapa Clima Temperado**, doc. 316, p. 1-16, 2010.

WEBSTER, B. et al. Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. **Plant Signaling & Behavior**, v. 79, p. 451-457, 2010.

WENNINGER, E. J.; STELINSKI, L. L.; HALL, D. G. Roles of olfactory cues, visual cues, and mating status in orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to four different host plants. **Environmental Entomology**, n. 38, n.1, p. 225-234, 2009.

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.

WU, F. et al. Movement of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) adults between huanglongbing-infected and healthy citrus. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 410-416, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, a variedade de porta-enxerto híbrido ‘HTR 059’ pareceu menos atrativa para o inseto, já entre copas as variedades ‘Pera’ e ‘Westin’ foram as menos atrativas. Com a iminência da introdução do HLB na Bahia, essas variedades parecem ser as mais adequadas no âmbito de elaboração de um conjunto de ações de prevenção à introdução e disseminação da doença, tendo em vista as condições da citricultura local e como essa é praticada no estado.

A copa ‘Valência’ e o porta-enxertos ‘Sunki Tropical’ e limoeiro ‘Cravo’, por sua vez, foram atrativos e, por este motivo, são os menos indicados para cultivo quando se considera a prevenção do HLB na Bahia.

Outros estudos como de ovoposição, desenvolvimento ninfal e testes de livre escolha, devem ser realizados para confirmar os padrões aqui observados. Da mesma forma, bioensaios de olfatométrica contemplando o estudo do efeito isolado e combinado dos principais compostos identificados sobre o *D. citri* devem ser realizados.