

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**COMPORTAMENTO DE *Diaphorina citri* Kuwayama,
1908 (Hemiptera: Liviidae) EM PLANTAS DE CITROS
SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO**

MARIA ÂNGELA CRUZ MACÊDO DOS SANTOS

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
FEVEREIRO DE 2018**

**COMPORTAMENTO DE *Diaphorina citri* Kuwayama,
1908 (Hemiptera: Liviidae) EM PLANTAS DE CITROS
SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO**

MARIA ÂNGELA CRUZ MACÊDO DOS SANTOS

Trabalho de conclusão do Curso Mestrado em Engenharia Agrícola, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agrícola, Área de Concentração: Agricultura Irrigada e Recursos Hídricos

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Antônio Coelho Filho
Embrapa - CNPMF

**CRUZ DAS ALMAS – BA
FEVEREIRO DE 2018**

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

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE
CONCLUSÃO DO CURSO DE MESTRADO**

MARIA ÂNGELA CRUZ MACÊDO DOS SANTOS

Dissertação aprovada em / /2018

Prof. Dr. Mauricio Antônio Coelho Filho
Embrapa - CNPMF
(Orientador)

Pesquisador Dr. Eduardo Chumbinho de Andrade
Embrapa - CNPMF

Prof. Dr. Alisson Jadavi Pereira da Silva
IF Baiano

**CRUZ DAS ALMAS – BA
FEVEREIRO DE 2018**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e sempre agradeço a Deus.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB): pela concessão da bolsa de estudo no Doutorado, Pedido Nº 1277/2016, Termo de Outorga de Bolsa BOL0701/2016 e pela concessão de auxílio financeiro:

- Edital FAPESB/Semiárido 006/2007, Pedido 7520/2007 e Termo de Outorga 030/2007; projeto “Utilização de águas salobras no cultivo de hortaliças em sistema hidropônico como alternativa agrícola condizente ao Semiárido”.

- Edital Infraestrutura 10/2013, Pedido 1913/2013, Convênio CNV 0075/2013, projeto “Estruturação do laboratório de qualidade de água do programa de pós graduação em engenharia agrícola da UFRB”.

Aos meus pais por tudo de imensurável que eles representam

À Francisco José pelo apoio, companheirismo e cuidado

A Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMP) pela infraestrutura cedida para que este projeto possa ter sido desenvolvido.

Agradeço a todos da Embrapa que direto e indiretamente me ajudaram, ao pessoal de campo e a equipe do laboratório de Ecofisiologia vegetal, em especial a Mabel, por todo apoio e amizade ao longo desses dois anos.

Ao professor Tales pelo apoio prestado

À Marilene Fancelli por todas as contribuições, ajuda, incentivo e orientações

À Mauricio Coelho pela orientação e confiança no meu trabalho

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	3
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 Importância da citricultura brasileira e entraves para a produção.....	6
2.2 Huanglongbing (HLB).....	8
2.3 Psílídeo dos citros, <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera, Liviidae).....	10
2.4 Importância do estudo da salinidade.....	11
2.4.1 Abordagem dos efeitos da salinidade, com enfoque nos íons sódio e cloreto.....	12
2.4.2 Abordagem sobre o que é tolerância à salinidade.....	14
2.3.3 Salinidade e citros.....	15
2.5 Medidas de controle de <i>D. citri</i> e associação com estresse em plantas de citros.....	17
3 METODOLOGIA.....	21
3.1 Produção das mudas.....	21
3.2 Obtenção de adultos de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae).....	22
3.3 Experimentos.....	22
3.3.1 Experimento I. Estudo de respostas comportamentais de <i>Diaphorina citri</i> a plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade.....	23
3.3.1.1 Ensaio de livre escolha em casa de vegetação (15 e 20 dias após exposição à salinidade).....	23
3.3.1.2 Ensaio de livre escolha em laboratório (60 dias após exposição à salinidade).....	27
3.3.2 Experimento II. Preferência para oviposição de <i>Diaphorina citri</i> em plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade.....	27
3.3.3 Experimento III. Atratividade de <i>Diaphorina citri</i> a voláteis de plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade.....	29
3.3.4 Respostas fisiológicas das plantas.....	32
3.4 Estatística.....	33
4 RESULTADOS.....	35
4.1 Respostas fisiológicas das plantas.....	35
4.2 Experimento I. Estudo de respostas comportamentais de <i>Diaphorina citri</i> a plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade.....	40
4.2.1 Ensaio de livre escolha em casa de vegetação (15 e 20 dias após exposição à salinidade).....	40
4.2.2 Ensaio de livre escolha em laboratório (60 dias após exposição à salinidade).....	46
4.3 Experimento II. Preferência para oviposição de <i>Diaphorina citri</i> em plantas de citros mantidas a níveis contrastantes de salinidade.....	47

4.4 Experimento III. Atratividade de <i>Diaphorina citri</i> a voláteis de plantas de citros mantidas a níveis contrastantes de salinidade	48
5 DISCUSSÕES	50
5 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS.....	57

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – (a) Bandeja com tubetes plásticos utilizados para semeadura do limoeiro ‘Cravo’ em substrato de casca de pinus. (b) Mudanças do genótipo de citros limoeiro ‘Cravo’ em estágio de desenvolvimento propício para realização do desbaste.21
- Figura 2 – (a) Aspirador portátil utilizado para coleta dos insetos. (b) Frasco de vidro utilizado para armazenamento temporário dos insetos antes da utilização nos experimentos.22
- Figura 3 - (a) Conjunto de plantas na solução de 1,7 dS m⁻¹ para aclimação (b) Monitoramento da condutividade elétrica da solução.25
- Figura 4 - (a) vaso utilizado para colocação das soluções, com tubo de vidro com os insetos, colocado entre plantas dos dois tratamentos. (b) vista geral do experimento.26
- Figura 5 - Adultos de *Diaphorina citri* na face abaxial de folha de planta de limoeiro ‘Cravo’27
- Figura 6 - (a) gaiolas utilizadas para confinamento de insetos em experimento de oviposição de *Diaphorina citri*. (b) Detalhe de planta em gaiola individualizada para experimento em casa de vegetação (c) Detalhe para planta individualizada para experimento em laboratório.28
- Figura 7 – Sistema de olfatometria. (a) Sistema de filtros de passagem do ar. (b) Câmaras de aeração constituída por sacos de poliéster para isolamento das plantas de cada tratamento. (c) olfatômetro de quatro entradas conectadas às plantas e termohigrômetro que fornece medidas de temperatura e umidade relativa. (d) Detalhe do olfatômetro30
- Figura 8 - Ninfa de *Diaphorina citri* no 5^o ínstar em folha de murta.31
- Figura 9 – (a) Fêmeas de psílídeos acondicionadas em broto de murta. (b) Fêmeas de psílídeos sem alimento antes dos bioensaios de olfatometria.31
- Figura 10 - médias (\pm epm) dos tratamentos no tempo, para 10, 15 e 20 dias (a) fotossíntese líquida (A); (b) Transpiração (E); (c) Carbono interno (ci); (d) Eficiência do uso da água (EUA) (e) Condutância estomática (gs); (f) Condutância estomática (gs) por avaliação (g) Potencial osmótico para plantas de 20 dias de tratamento (h) média (\pm epm) da temperatura foliar (°C) para plantas de 20 dias, respectivamente por tratamento e por avaliação (i) média (\pm epm) da temperatura foliar (°C) para plantas de 60 dias, respectivamente por tratamento e por avaliação38
- Figura 11 - (a) Diferença de porte para plantas de mesma idade submetidas 60 dias aos tratamentos (b) queima da brotação apical (c) folhas com bordas amareladas, enrugamento e queima nas bordas e na ponteira.39

- Figura 12- Média (\pm epm) do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri* em plantas de limoeiro 'Cravo' com 15 dias de estresse salino.....40
- Figura 13 - Média (\pm epm) do número de insetos adultos de *Diaphorina citri* em plantas de limoeiro 'Cravo' com 15 dias de estresse salino (a) face abaxial (NA abaxial) da folha, (b) face adaxial (NA adaxial).41
- Figura 14 - Média (\pm epm) do número de insetos adultos de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo' com 15 dias de estresse salino (a) na parte apical (NA apical) (b) na parte média (NA parte média) (c) na parte basal (NA parte basal) [epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)].....42
- Figura 15 - Média (\pm epm) do número de insetos adultos (NA) de *Diaphorina citri* em plantas de limoeiro 'Cravo', com 20 dias de estresse salino (a) entre os tratamentos (b) entre as avaliações.42
- Figura 16 - Média (\pm epm) do número de insetos adultos de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo' com 20 dias de estresse salino. (a) face abaxial (NA abaxial) da folha, para cada tratamento (b) face abaxial (NA abaxial) da folha, entre avaliações (c) face adaxial (NA adaxial).....43
- Figura 17 - Média (\pm epm) do número de insetos adultos de *Diaphorina citri*, para plantas de limoeiro 'Cravo' com 20 dias de estresse salino, (a) na parte apical (NA apical) (b) na parte média (NA média) entre os tratamentos (c) interação entre as avaliações na parte média (NA média) (d) na parte basal (NA parte basal) entre tratamentos (e) na parte basal (NA basal) entre avaliações.....45
- Figura 18 - Média (\pm epm) de machos e fêmeas para cada tratamento.....46
- Figura 19 - Comportamento de insetos adultos de *Diaphorina citri*, (a) variação do número de insetos no tempo (b) barras de desvio padrão de cada medida no tempo (c) média (\pm epm) do número de insetos adultos, para período de 5 à 55 minutos (d) média (\pm epm) do número de insetos adultos, para período de 1 à 42 horas; para plantas de limoeiro 'Cravo' com 60 dias de estresse salino.47
- Figura 20 - Comportamento de oviposição e eclosão de ninfas, respectivamente para ensaio realizado laboratório (a) média (\pm epm) do número de ovos, (b) média (\pm epm) do número de ninfas; e para os realizados em casa de vegetação (c) média (\pm epm) do número de ovos, (d) média (\pm epm) do número de ninfas.48
- Figura 21 - Tempo de residência e número de entradas para os ensaios realizados com fêmeas virgens: (a) média (\pm epm) do tempo de residência (b) média (\pm epm) do número de entradas por tratamento e fêmeas sem "status" de acasalamento: (c) média (\pm epm) do tempo de residência por tratamento, (d) Média (\pm epm) do número de entradas por tratamento.49
- Figura 22 – Número de insetos e porcentagem referentes à: (a) primeira escolha para insetos virgens, (b) primeira escolha para insetos sem "status" de acasalamento.49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar para os períodos nos quais o experimento foi realizado.23

Tabela 2 – Médias (\pm epm) da área foliar média (AFM – m²) das plantas submetidas aos tratamentos, utilizadas para as avaliações de 60 dias. **Erro!**
Indicador não definido.

RESUMO

Comportamento de *diaphorina citri* kuwayama, 1908 (hemiptera: liviidae) em plantas de citros submetidas ao estresse salino

A produção citrícola nacional tem como um de seus principais entraves o surgimento de inúmeras pragas e doenças. Dentre essas doenças, o Huanglongbing (HLB), que possui como vetor o psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), é uma das mais ameaçadoras. Sabendo-se que o psílídeo alimenta-se das brotações e que o fluxo de brotações é regulado pela disponibilidade de água às plantas, a manipulação de fatores abióticos poderá alterar a atratividade da planta ao inseto. Nas plantas os processos fisiológicos envolvidos na resposta ao estresse abiótico podem alterar o comportamento do inseto vetor, e, com esse conhecimento, permitir o manejo da praga. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do estresse salino em plantas de limoeiro 'Cravo' sobre o comportamento de *D. citri*. Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Mandioca e Fruticultura sob condições de telado. Foram avaliados níveis contrastantes de salinidade no comportamento do inseto em estudos com o limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck). Os insetos foram provenientes do campo e quando necessário foram coletadas ninfas levadas ao laboratório até a emergência dos adultos. Três experimentos foram realizados: (a) avaliação da resposta comportamental do inseto a níveis contrastantes de salinidade ($1,7\text{dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}). As plantas foram transplantadas para copos plásticos cujo substrato era constituído de areia lavada e esterilizada, mantidos em bandejas com solução fertilizante controle, e após 5 dias foram submetidas aos tratamentos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 5 repetições; (b) experimento de oviposição do inseto em níveis contrastantes de salinidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 plantas em cada tratamento e experimento (c) avaliação de resposta dos insetos aos voláteis, com seis plantas de cada tratamento e quarenta insetos. Variáveis fisiológicas da planta foram determinadas no decorrer do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelos testes de Tukey ($p \leq 0,05$), teste t ($p \leq 0,05$) ou Wilcoxon ($p \leq 0,05$). Os resultados demonstram que as plantas do tratamento estressado (10 dS m^{-1}) apresentaram - se menos atrativas para os insetos no quesito comportamento de escolha e oviposição, para as respostas aos voláteis não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

Palavras-Chave: HLB, relações hídricas, salinidade, estresse biótico e abiótico.

ABSTRACT

Behavior of *diaphorina citri* kuwayama, 1908 (hemiptera: liviidae) in citrus plants submitted to saline stress

The national citrus production has as one of its main obstacles the appearance of numerous pests and diseases. Among these diseases, Huanglongbing (HLB), which has the *diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) as the vector, is one of the most threatening. Since the psilídeo feeds on the shoots and the flow of shoots is regulated by the availability of water to the plants, the manipulation of abiotic factors can alter the attractiveness of the plant to the insect. The physiological processes involved in the response to abiotic stress can alter the behavior of the insect vector, and, with this knowledge, allow pest management. The objective of this work was to evaluate the effects of abiotic stress (salinity) on the behavior of *D. citri*. The experiments were conducted at Embrapa Mandioca and Fruticultura under weed conditions. Contractile levels of salinity in insect behavior were evaluated in studies with the 'Cravo' lemon tree (*Citrus limonia* Osbeck). The insects came from the field and when necessary were collected nymphs taken to the laboratory until the emergence of adults. Three experiments were carried out: (a) evaluation of the behavioral response of the insect to contrasting levels of salinity (1.7 dS m^{-1} and 10 dS m^{-1}). The plants were transplanted to plastic cups whose substrate was sand washed and sterilized, kept in trays with solution fertilizer control, and after 5 days were submitted to the treatments. The experimental design was randomized blocks with 5 replicates; (b) experiment of oviposition of the insect on contrasting levels of salinity. The experimental design was completely randomized, with 10 plants in each treatment and experiment (c) olfactometry evaluation, with 6 plants of each treatment and 40 insects. Physiological variables of the plant were determined during the experiment. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test ($p \leq 0.05$), t test ($p \leq 0.05$) or Wilxon test ($p \leq 0.05$). The results showed that the nonstressed plants ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$) were more attractive to the insects in terms of feeding, shelter and oviposition; for the responses to volatiles, no differences were observed between treatments.

Key words: HLB, water relations, salinity, biotic and abiotic stres

1 INTRODUÇÃO

Os citros englobam um vasto grupo de plantas do gênero *Citrus*, gêneros afins (*Poncirus* e *Fortunella*) e híbridos da família Rutaceae, aos quais pertencem as laranjas (*Citrus sinensis* L. Osbeck), limões (*Citrus limon* L. Burmann f.), lima (*Citrus limettioides* Tanaka), Lima ácida (*Citrus aurantifolia* Swingle), toranjas (*C. grandis* L. Osbeck), cidras (*Citrus medica* L.), tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco) e pomelos (*Citrus paradisi* Macfadyen) (Matos Júnior et al., 2009).

A importância da cultura dos citros para o Brasil advém do papel social e econômico que a cultura exerce, como produto de exportação, gerando empregos e renda (Coelho et al., 2011).

O Brasil é atualmente o maior produtor de laranja (*C. sinensis*) do mundo, seguido pela China, Índia e Estados Unidos (FAO, 2016), fato que torna a citricultura uma das principais atividades econômicas brasileiras. Das regiões produtoras de laranja no Brasil, destaca-se o estado de São Paulo, maior produtor nacional, responsável por 74% da produção nacional (FAO, 2016).

A citricultura também é importante no Nordeste do Brasil, destacando-se os estados da Bahia e Sergipe, que juntos respondem por 90% da produção na região, e o equivalente a 10% da produção nacional (IBGE, 2016).

Uma das grandes limitações para a produção advém dos diversos problemas fitossanitários, pois a cultura é afetada por uma diversidade de doenças e pragas, que afetam a produção e a qualidade dos frutos (Dechen; Camargo; Nachtigall, 2004).

Atualmente, uma das doenças mais devastadoras da cultura dos citros é o *Huanglongbing* (HLB), a qual não possui cura e tem seu agente causal transmitido pelo inseto *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera, Liviidae) (Girardi et al., 2011).

A região Nordeste é considerada área livre para o HLB. Entretanto, devido à presença de *D. citri* no estado e à ocorrência de HLB em pomares cítricos em regiões próximas, como Minas Gerais, além da abundância de plantas de murta (*Murraya paniculata* (L.) Jack) (hospedeiro preferencial do inseto), a introdução da doença na região é um risco iminente.

Além do risco da introdução e disseminação do HLB nos principais estados produtores de citros no Nordeste, as regiões produtoras de citros

passam por longos períodos de déficit hídrico Coelho et al. (2006), devido a uma alta evaporação e um regime de precipitações caracterizado pela alta variabilidade espaço-temporal, resultando em déficit no balanço hídrico para quase todos os meses do ano (Martins et al., 2012).

Para contornar essa problemática, propõe-se o uso dos reservatórios de água subterrâneos, todavia 70% da região Nordeste está localizada sobre o conjunto estrutural do escudo cristalino, apresentando águas com concentrações salinas elevadas (Suassuna, 1994).

Dessa forma, evidencia-se a importância dos estudos que avaliem como os genótipos de citros ajustam-se à salinidade. Espera-se que tais respostas subsidiem a otimização da produção, com o mínimo uso da água doce e possível uso sustentável de águas salinas.

Existem vários trabalhos na literatura que demonstram a expressividade e tolerância de genótipos de citros utilizados como porta-enxertos na citricultura nacional, quando submetidos à irrigação com uso de águas salinas, dentre esses, Fernandes (2011) e Brito (2008).

Por outro lado, a exposição à salinidade pode alterar as respostas de defesa das plantas submetidas a estresses de natureza biótica, essas respostas são extremamente complexas, envolvendo mudanças em nível celular, fisiológico e expressão genética (Atkinson; Urwin, 2012).

A aplicação de estresses bióticos e abióticos simultâneos geram respostas específicas nas plantas, diferentes das respostas a imposição dos estresses individuais

Entretanto, para citros, são poucos são os estudos sobre interação entre fatores bióticos e abióticos, e inexistentes os estudos que relacionam salinidade com a infestação por insetos-praga da cultura.

O estudo da interação entre a salinidade e *D. citri* pode proporcionar conhecimento aplicável ao desenvolvimento de nova estratégia de manejo do inseto vetor do HLB, principalmente na região Nordeste, onde o uso de águas salinas é inerente à realidade dos produtores.

Desse modo, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos do estresse salino em plantas de limoeiro 'Cravo' sobre o comportamento de *D. citri*.

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar a resposta fisiológica de limoeiro 'Cravo' a níveis contrastantes de salinidade;
- Estudar o comportamento de *D. citri* ao genótipo de citros limoeiro 'Cravo' quando submetido ao estresse salino;
- Estudar a preferência para oviposição de *D. citri* ao genótipo de citros limoeiro 'Cravo' quando submetido ao estresse salino;
- Estudar a atratividade de *D. citri* aos voláteis das plantas de limoeiro 'Cravo' quando submetido ao estresse salino.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da citricultura brasileira e entraves para a produção

As plantas cítricas, cultivadas em várias regiões do mundo, são de origem asiática e pertencem à família Rutaceae (Rezende, 2002). No período da colonização, os portugueses trouxeram mudas advindas da França e introduziram no Brasil as primeiras plantas dessa família, cuja área de cultivo se expandiu rapidamente pelo território brasileiro mediante sua elevada adaptabilidade climática. Contudo, apesar de ser submetida a condições tão variáveis, a sua produção é mais favorecida pelas condições de clima do Sudeste e Nordeste brasileiro (Neves; Jank, 2006; Zulian; Dörr; Almeida, 2013).

O Brasil é o maior produtor de laranja do mundo, detendo 23,6% da produção mundial (FAO, 2016). A produção nacional de laranja atingiu um aumento de 6,9% entre os anos de 2016 e 2017, nos quais a produção foi de respectivamente, 15.917.673 e 17.018.254 de toneladas (IBGE, 2017).

O setor citrícola brasileiro é o maior exportador mundial de suco de laranja (Bernardo, 2016). A previsão de produção de suco concentrado de laranja, para a safra de 2017/2018, é de aumento de 55% em relação à safra de laranja do ano anterior (2016/2017), devido ao maior volume de laranjas esperado para processamento (USDA, 2017).

Conforme Jesus Júnior et al. (2008), as condições do clima têm importância fundamental para o desenvolvimento da cultura dos citros, e segundo USDA (2016), a projeção do aumento na laranja produzida no Brasil para a safra 2017/2018 está relacionada às condições climáticas favoráveis observadas no país.

As alterações climáticas em uma dada região podem comprometer a área de plantio, levando à inaptidão de áreas e à exploração de novas áreas para a cultura, como também, podem favorecer a ocorrência de pragas e concorrer para o aumento da suscetibilidade de plantas cítricas aos agentes bióticos de estresse (Jesus Júnior et al., 2008).

Deste modo, além das mudanças climáticas, as doenças são outro agravante para a produção. Dentre elas, uma das mais ameaçadoras é o Huanglongbing (HLB), responsável por reduzir drasticamente a produção de citros (Salomão e Ferreira, 2016).

No Brasil, o HLB é considerado atualmente a doença mais destrutiva dos citros, estando presente no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro. Nestes estados, 16,73% das laranjeiras cultivadas em 2017 estão infectados, números que demonstram a estabilização da doença nos dois últimos anos (17,89% em 2015 e 16,92% em 2016), porém um indicador considerado alto e preocupante para a produção (Fundecitrus, 2017a).

O HLB possui como agentes causais as bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Candidatus Liberibacter americanus* e *Candidatus Liberibacter africanus*, as quais podem ser transmitidas por material propagativo infectado e por meio de insetos vetores. Duas espécies de vetor são conhecidas, *Trioza eritreae* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae), que transmite a forma africana, e *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), que transmite as formas asiática e americana da doença (Halbert e Manjunath, 2004).

Apesar de não existirem variedades comerciais de copa e porta-enxerto resistentes ao HLB, alguns autores já demonstraram que algumas variedades de citros apresentam respostas diferenciadas à doença.

Segundo Albrecht e Bowman (2012), ao estudarem oito porta-enxertos submetidos à infecção por HLB, o limoeiro 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Ten. et Pasq) e dois híbridos de *Poncirus trifoliata* (US-802 e US-812) apresentaram-se como moderadamente tolerantes a infecção por HLB, já o porta-enxerto 'Carrizo', e os híbridos de *P. trifoliata* (US-897 e US-942) mostraram-se como tolerantes, e 'Cleópatra' (*Citrus reshni* hort. ex Tanaka) como suscetível.

Entretanto, no Brasil, o limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), desde a década de 1960, é o porta-enxerto mais utilizado pelos produtores de citros (Pompeu Junior et al. 2005), seguido por 'Cleópatra', 'Sunki' (*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka), 'Trifoliata' (*P. trifoliata*), 'Trifoliata Flying Dragon' (*P. trifoliata*), limão Volkameriano (*Citrus volkameriana* V. Ten. & Pasq.), e limoeiro 'Rugoso' (*Citrus jambhiri* Lush) (Bastos et al., 2014).

A citricultura paulista só voltou a diversificar seus porta-enxertos a partir de 1999 com o surgimento da morte súbita dos citros (Gimenes-Fernandes e Bassanezi, 2001). Entre 2011 e 2014, os porta-enxertos mais utilizados na citricultura paulista eram o limoeiro 'Cravo' (44%) e o citrumeleiro 'Swingle' (45%), combinados principalmente com as variedades copa Pera Rio (31%),

Valência (30%), Hamlin (11%) e Natal (7%) (Brito, 2017). Considerando que as características agrônômicas e de resistência a pragas tanto das árvores como das frutas cítricas são influenciadas pelo uso de porta-enxertos (Schäfer; Bastianel; Dornelles, 2001), *a não diversificação de porta-enxertos constitui um risco à citricultura diante dos cenários de mudanças climáticas e sob a ameaça de agentes bióticos (Soares Filho, 2017).*

Outra característica importante na escolha do porta-enxerto diz respeito a sua resistência ao déficit hídrico, característica de extrema importância, principalmente em condições de distribuição irregular de chuvas, como é o caso da citricultura paulista (Schäfer; Bastianel; Dornelles, 2001).

Para o Nordeste, é importante salientar também a questão da presença de sais na grande maioria das águas utilizadas para irrigação (poços, rios e açudes) (Fernandes et al., 2011).

Conforme Gnadlinger (2006), mais de 60% das águas do semiárido nordestino pertencem à formação do embasamento cristalino, com baixa produtividade de água pelo lençol freático e águas quase sempre salinas. Assim o uso de tais águas pode ser viabilizado pela utilização de porta-enxertos tolerantes ao estresse salino.

2.2 Huanglongbing (HLB)

O Huanglongbing ou HLB, também conhecido como *greening*, foi relatado pela primeira vez no Sul da China em 1919 como a doença do ramo amarelo (*yellow shoot disease*) (Reinking, 1919; Lin, 1956).

Atualmente é uma das doenças mais ameaçadoras dos citros em nível mundial (Baia, 2015). Com exceção da Europa e Austrália, o HLB se faz presente em todos os principais países produtores de citros. Contudo, todos os polos estão sob ameaça, visto que os agentes causais e os vetores do HLB estão se disseminando amplamente pelo mundo (Rodrigues, 2017).

No Brasil, foi identificado pela primeira vez em 2004 (Girardi, 2011), causando prejuízos diretos aos citricultores, pela destruição dos pomares, devido à necessidade de erradicação das plantas sintomáticas para o HLB, e prejuízos indiretos decorrentes do risco causado aos milhares de empregos ligados ao setor citrícola brasileiro (Bassanezi et al., 2010), uma vez que menos

plantas nos pomares significa menos mão de obra para os setores ligados à produção de citros.

Em 2017, 13 anos após a introdução do HLB no Brasil, foram registrados 16,73% de plantas sintomáticas de laranjeira no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste de Minas Gerais, correspondendo a aproximadamente 32 milhões de plantas (Fundecitrus, 2017c).

São conhecidas três espécies de bactérias causadoras do HLB: *Candidatus Liberibacter africanus*, *Candidatus Liberibacter americanus* e *Candidatus Liberibacter asiaticus*, destas apenas as duas últimas são encontradas no Brasil (Coletta Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005; Yamamoto et al., 2006). O complexo de bactérias *Candidatus Liberibacter* spp. são gram-negativas e seu desenvolvimento ocorre nos vasos do floema das plantas hospedeiras (Garnier et al., 1984).

Na planta, os sintomas aparecem de forma setorizada em ramos ou galhos como reação da planta à infecção pela bactéria. As folhas da área afetada apresentam um mosqueado irregular entre os lados separados pela nervura central, podendo ocorrer clorose internerval. A desfolha das partes afetadas e morte do ponteiro ocorrem com a evolução da doença (Feichtenberger et. al., 2005).

Os ramos sintomáticos possuem frutos de tamanho reduzido, assimétricos, com maturação irregular, com a região estilar mantendo-se verde, contrariamente aos frutos de ramos sadios. A assimetria dos frutos é determinada por meio de cortes perpendiculares ao eixo dos frutos, o que também permite a observação das sementes que, em frutos afetados, são escurecidas ou abortadas, a região do sistema vascular das plantas doentes apresenta coloração alaranjada (Da Graça, 1991; Bové, 2006).

Os frutos dos ramos afetados, que permanecem na planta, caracterizam-se por possuir baixa qualidade, com redução de caracteres físico-químicos como: peso, tamanho, brix, sólidos solúveis e aumento da acidez no fruto (Bassanezi; Montesino; Stuchi, 2009).

As plantas apresentam sintomas secundários como clorose, altura reduzida e deficiência nutricional, principalmente carência de manganês, magnésio, ferro e zinco (Bové, 2006).

Como não existe variedade cítrica resistente ou tolerante ao HLB, as principais formas de manejo, para diminuir a incidência e reduzir as perdas decorrentes da doença, são o plantio de mudas isentas do patógeno (sadias), eliminação do inóculo (erradicação de plantas sintomáticas) e por meio de inspeções e controle do inseto vetor (Belasque Junior et al., 2010).

O alto número de plantas erradicadas, que culmina no aumento do custo de produção, e a significativa redução da qualidade das frutas, são os principais impactos do HLB (Bové, 2006).

2.3 Psílídeo dos citros, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera, Liviidae)

O psílídeo dos citros, *Diaphorina citri*, foi relatado no Brasil na década de 1940 (Costa Lima, 1942) e era considerado uma praga secundária dos citros, uma vez que não causava prejuízos consideráveis, até ocorrer a primeira detecção do HLB em 2004.

A rápida dispersão de *D. citri* nos pomares brasileiros aumenta ainda mais a preocupação com a ocorrência desse inseto no país (Fernandes, 2004). O inseto desenvolve-se em plantas do gênero *Murraya* (Rutaceae), destacando-se a murta, *M. paniculata* (L.) Jack, como hospedeiro preferencial, além das espécies e variedades cítricas (Ikeda e Ashihara, 2008).

O psílídeo *D. citri* possui três estágios de desenvolvimento: ovo, ninfa com cinco instares e adulto (Aubert, 1987). Os ovos são depositados em brotações novas e medem cerca de 0,3 mm de comprimento, têm formato alongado e piriforme, caracterizando-se como afilados na extremidade distal e vultosos na base, sua coloração muda de uma cor pálida, assim que ovipositados, passando pelo amarelo e tornando-se alaranjados próximo da eclosão da ninfa (Halbert e Manjunath, 2004).

Do primeiro ao quinto instar, as ninfas têm seu tamanho variando entre 0,25 a 1,25 mm; são achatadas, pouco convexas, possuem pernas curtas e movimentam-se restritamente, possuem manchas abdominais e longos filamentos na placa apical do oitavo segmento abdominal, com coloração amarelo-alaranjada, sendo que os bosquejos das asas são ressaltados a partir da terceira fase ninfal (Gallo et al., 2002; Halbert e Manjunath, 2004; Mead e Fasulo, 2014).

O psílídeo, na fase adulta, possui asas transparentes com bordas escuras, medindo cerca de 2 mm de comprimento, são ativos e possuem o terceiro par de pernas do tipo saltatório, o que os auxilia no deslocamento entre ramos ou entre plantas, em busca de sítios de alimentação ou oviposição (Gallo et al., 2002). O aparelho bucal é do tipo sugador labial tetraqueta, composto por dois estiletes maxilares e dois estiletes mandibulares. Para alimentação, preferem a parte abaxial das folhas (Bonani, 2009).

O ciclo de vida de *D. citri* é influenciado pela temperatura, sendo a faixa entre 25 e 28°C a mais apropriada para o seu desenvolvimento (Catling, 1970). Nesta faixa, o período de incubação dos ovos é em torno de 4 dias, tendo a fase de ninfas duração de 13 dias, e, portanto, aproximadamente 17 dias para completar o ciclo. Deve-se considerar, no entanto, que ocorrem diferenças dependendo da planta hospedeira (Liu e Tsai, 2000).

Sabe-se também que o aumento da temperatura de uma faixa de 15°C até 32,5°C modifica o período de incubação dos ovos, o tempo de desenvolvimento das ninfas e a emergência do adulto (Nakata, 2006). Em estudo realizado sobre influência da temperatura na biologia do inseto, demonstrou-se que o acréscimo de temperatura acarretou aumento na média de ovos produzidos por fêmeas de 171 para 748 ovos com viabilidade de 84,5% a 96,2%, à temperatura de 15 °C a 28 °C, respectivamente (Liu e Tsai, 2000).

2.4 Importância do estudo da salinidade

A importância do estudo da salinidade dá-se pelo fato de que os níveis de sais afetam a água e os solos, e conseqüentemente, o rendimento das plantas cultivadas em tais condições. Para regiões áridas e semiáridas, são muito antigos os problemas decorrentes da acumulação de sódio trocável e sais solúveis nos solos irrigados, e sua origem condiz com a própria origem da irrigação (Cordeiro, 2001).

Nos solos e nas águas, os principais sais presentes são: cloreto de sódio (NaCl), o sulfato de magnésio (MgSO₄), o sulfato de sódio (Na₂SO₄), o cloreto de magnésio (MgCl₂) e o carbonato de sódio (Na₂CO₃) (Kovda, 1973). Na região Nordeste, geologicamente localizada no embasamento do cristalino, predominam as águas cloretadas (Cruz e Melo, 1974).

De acordo com Freire et al. (2003), o excesso de sais na água de irrigação, no solo e até mesmo na solução nutritiva, tem efeitos prejudiciais em todo o ciclo de vida da planta (germinativo, vegetativo e reprodutivo), acarretados pela presença de íons potencialmente tóxicos e pelos efeitos sobre o potencial osmótico.

Muitas vezes os recursos hídricos disponíveis para irrigação não são isentos de sais, assim as águas de irrigação transportam os sais, que são depositados nos solos, e se acumulam à medida que a água é consumida pelas culturas ou se evapora, reduzindo a disponibilidade de água para as plantas e afetando o rendimento das culturas (Bernardo, 2006).

Quando não existe a possibilidade de reduzir a salinidade nos solos, torna-se conveniente conhecer a capacidade de adaptação das plantas a tais efeitos advindos deste, discernindo-se desta maneira a importância da obtenção de genótipos tolerantes e economicamente viáveis, para que, assim, sejam atingidos patamares significativos de produção sob tais condições (Tester e Davenport, 2003).

No Nordeste brasileiro, devido à importância da fruticultura, é imprescindível atentar para o manejo adequado da salinidade nos solos, principalmente quando existem altas concentrações de sais na fonte hídrica. Nesse aspecto, é fundamental o desenvolvimento de pesquisas que viabilizem a utilização de águas salinas, de maneira que seja mantida a sustentabilidade (Brito et al., 2008).

Existem poucos trabalhos que relacionam o efeito da salinidade no estresse causado por fatores bióticos, pois os trabalhos sobre efeito da salinidade são desenvolvidos em ambientes controlados, em ambiente livre de pragas, com intuito de evitar potenciais complicações que possam advir da interação entre esses fatores (Syvertsen e Levy, 2005).

2.4.1 Abordagem dos efeitos da salinidade, com enfoque nos íons sódio e cloreto

Os íons de sódio e cloreto são os principais que, ao se acumularem, afetam os processos bioquímicos, fisiológicos e de crescimento das plantas (Khadri et al., 2006). Além disso, causam desbalanço nutricional advindo da redução da absorção de cátions e ânions pelo sistema radicular (Kumar et al.,

2008). Ou seja, a presença de um íon pode afetar a absorção de outro íon, por exemplo, altas concentrações no solo de Na^+ e Cl^- reduzem a absorção de K^+ e Ca^+ (Larcher, 2000).

A inibição do crescimento das plantas nas condições de salinidade e sodicidade demonstra-se através de uma explícita desuniformidade, verificada pela presença de plantas desnudas, outras definhadas, e no geral, por uma grande variação no crescimento, que se reflete em baixa produção por unidade de área (Cordeiro, 2001).

Segundo Dias e Blanco (2010), o excesso de sais causa o aumento da pressão osmótica (PO), podendo chegar a tais níveis que a planta não terá força de sucção suficiente que supere a PO, e desta maneira, mesmo o solo estando aparentemente úmido, a planta não terá capacidade de absorver água, fenômeno denominado de seca fisiológica.

Dependendo do nível de salinidade, pode ocorrer a plasmólise da célula, fenômeno devido à alta concentração da solução a tal ponto que a célula vegetal perde água para o meio. Deste modo, a água passa do meio menos concentrado (neste caso a célula vegetal) para o meio mais concentrado (solução) (Dias e Blanco, 2010).

Conforme Tester e Davenport (2003), os órgãos da planta mais vulneráveis ao Na^+ e Cl^- são as folhas, pelo simples fato de acumularem maiores concentrações desses íons quando a água é transpirada, uma vez que ambos são transportados pela corrente transpiratória no xilema.

O cloreto se acumula pela transpiração nas folhas, após ser absorvido pelas raízes, por ter como característica o fácil deslocamento com a água do solo, ou seja, não é absorvido nem retido pelas partículas do solo. Os primeiros sintomas são: queimadura do ápice das folhas que, em estágios avançados, atinge as bordas, promovendo sua queda prematura (Dias e Blanco, 2010).

A toxicidade causada pelo sódio é de diagnóstico mais difícil, os sintomas típicos surgem em forma de queimaduras ou necrose ao longo das bordas. Após vários dias ou semanas é que o sódio alcança níveis tóxicos nas folhas, apresentando-se nas bordas das mais velhas espalhando-se da área internervural para o centro das folhas à medida que o problema se intensifica (Dias e Blanco, 2010).

Conforme Munns (1993), o crescimento da planta é afetado pela presença externa dos sais, o qual é regulado por sinalizadores emitidos pelo sistema radicular, principalmente o ABA, e quando os sais se acumulam no interior da planta, causando a redução de crescimento. A queda no crescimento foliar também é rápida e severa, segundo Cosgrove (1993), em uma planta tratada com NaCl, as células das folhas diminuem sua taxa de expansão por três consequências possíveis: a menor absorção de água e osmólitos, queda do turgor da célula e enrijecimento da parede.

Atribui-se também o menor crescimento das plantas em consequência da salinidade, à diminuição na absorção de nutrientes, sendo o K e o Ca os mais (Rengel, 1992). O maior efluxo de K das raízes ou a maior competição pelos sítios de absorção entre Na e K, podem explicar a menor concentração de K em tecidos de plantas sob estresse salino (George, Horst, Neumann, 2012).

2.4.2 Abordagem sobre o que é tolerância à salinidade

Define-se como tolerância à salinidade a capacidade das plantas em se desenvolverem e completarem seu ciclo de vida sobre um substrato que contém elevada concentração de sais solúveis (Flowers; Troke; Yeo, 1977; Greenway e Munns, 1980).

O limiar de tolerância depende do tempo de exposição, da concentração do sal em solução, como também do estágio de desenvolvimento das plantas (Ayers e Westcot, 1991) e o mecanismo de tolerância à salinidade é regulado por genes específicos envolvendo uma série de reações bioquímicas (Dias e Blanco, 2010).

Esteves e Suzuki (2008) atestaram que a exclusão seletiva de íons, a acumulação, a compartimentalização de íons em nível celular e estrutural (transporte para as folhas), o controle da entrada dos sais pelas raízes, as modificações nas vias fotossintéticas e na estrutura da membrana, a síntese de osmólitos e a indução de hormônios e enzimas antioxidantes, são algumas das estratégias bioquímicas que as plantas utilizam para tolerar a salinidade.

Para Taiz e Zaiger (2009) por sua sensibilidade em detectar os estresses ambientais as folhas tem a capacidade de realizar um ajustamento osmótico, nesse processo a folha diminui o seu potencial hídrico, contudo sem perder a turgidez celular, ocorrendo nas células, um aumento da concentração de solutos.

Assim a possibilidade de realizar tal ajuste denota a capacidade de tolerar determinado estresse por algumas espécies de plantas.

Um dos processos mais importantes para demonstrar como as plantas toleram a salinidade é o balanço iônico. Para isso, as plantas mobilizam seus próprios compostos orgânicos ou absorvem do meio externo, e acumulam tais solutos de maneira que tornam o potencial osmótico mais negativo (Yamaguchi e Blumwald, 2005).

Segundo Taiz e Zeiger (2013), as plantas também respondem à salinidade com modificações anatômicas e morfológicas, sendo os exemplos mais conhecidos a redução da área foliar e do crescimento, advindos principalmente da diminuição da pressão de turgor, a qual está ligada aos processos de alongamento e divisão celular.

2.3.3 Salinidade e citros

De maneira geral, a salinidade reduz o crescimento de plantas cítricas, que sofrem diferentes distúrbios fisiológicos em resposta a esse estresse abiótico: redução da assimilação líquida de CO₂, da condutância estomática e do potencial da água nas folhas (Kirkpatrick e Bitters, 1969; Walker; Torokfalvy; Downton 1982; Behboudian; Torokfalvy; Walker 1986; Lloyd; Kriedemann; Syvertsen 1987; Lloyd e Kriedemann 1990).

No entanto, há diferenças de respostas à salinidade devido às interações copa/porta-enxerto de citros, as quais podem conferir maior tolerância à planta (Bastos et al., 2014). Nesse sentido, a utilização de águas de baixa qualidade e de solos salinos pode ser viabilizada empregando-se esse conhecimento. No Nordeste brasileiro, por exemplo, onde a citricultura tem importância fundamental na geração de emprego e renda, é predominante o uso do porta-enxerto limoeiro 'Cravo', sem considerar as condições de clima e solo bem como do uso das cultivares-copa (Singh; Saini; Behl, 2003; Fernandes, 2011).

No tocante à resposta ao estresse salino, já é sabido que a capacidade de absorção de íons tóxicos, Cl⁻, Na⁺ e B⁺, difere entre os porta-enxertos, como também a aptidão para translocá-los até a copa (Bañuls, Legaz, Primo-Millo, 1990; Bañuls e Primo Milo, 1992). Salienta-se ainda que o maior acúmulo de íons no vacúolo em contraposição à exclusão de íons tóxicos, está comumente associada a tolerância da cultura à salinidade (Al-Yassin, 2005).

O porta-enxerto limoeiro 'Cravo' apresenta, dentre as características responsáveis pela sua disseminação entre os viveiristas brasileiros, a compatibilidade com todas as variedades copas, o bom desempenho em solos arenosos, a facilidade na obtenção de sementes, a elevada precocidade de produção, e a tolerância à seca e ao estresse salino (Pompeu Junior, 2005). Contudo, o fato de ter se tornado o principal porta-enxerto desde a década de 1960, colaborou para o aumento da vulnerabilidade da citricultura no Brasil a novas doenças (Bastos et al., 2014).

Ao avaliar a sensibilidade de genótipos de citros (variedades: limoeiro 'Cravo Santa Cruz'; tangerineira 'Sunki Tropical' (*C. sunki*); híbridos: citrange [*C. sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 'Troyer'; limoeiro 'Volkameriano' (*C. volkameriana*); HTR (híbrido trifoliado) - 051; e HTR-069) à salinidade, Brito et al. (2014) utilizaram plantas semeadas em substrato comercial, e as submeteu a irrigações com salinidade de CE: 0,41 (testemunha); 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 dS m⁻¹ dos 60 dias após a semeadura até 150 dias. Os autores anteriormente mencionados concluíram que a CE 2,0 dS m⁻¹ pode ser usada para formação de porta-enxertos, sendo menos sensíveis ao estresse salino o limoeiro 'Volkameriano' e o HTR – 069; já o limoeiro 'Cravo' e a tangerina 'Sunki' Tropical apresentaram menor redução em altura e crescimento com o aumento da salinidade até 4,0 dS m⁻¹.

Cruz et al. (2003), ao estudarem parâmetros fisiológicos do limoeiro 'Cravo', quando submetido à quatro concentrações de salinidade (0, 20, 40 e 80 mM de NaCl) durante 42 dias, constataram que o aumento da salinidade ocasionou a diminuição da condutância estomática, temperatura foliar e transpiração das plantas.

Figueiredo et al. (2014) avaliaram dois níveis de salinidade em água de irrigação: 0,3 e 4,0 dS m⁻¹ em três variedades de citros: limoeiro 'Rugoso da Flórida' (LRF); limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (LCRSC) e limoeiro 'Volkameriano' (LVK), semeados em substrato e submetidos aos tratamentos 120 dias após a semeadura, realizando avaliações fisiológicas 30 dias após a submissão aos tratamentos. Em seus resultados, demonstraram que o LVK se mostrou mais tolerante ao estresse salino, o LRF não demonstrou comprometimento em suas atividades fisiológicas, já o limoeiro 'Cravo' apresentou redução da concentração

interna de CO₂ e da condutância estomática, e se sobressaiu em relação aos demais com maiores taxas de assimilação de CO₂ e de transpiração.

2.5 Medidas de controle de *D. citri* e associação com estresse em plantas de citros

Para o controle do HLB, o principal manejo é a redução da população de insetos infectivos, tanto pela diminuição da chance de transmissão e aquisição pelos adultos, como a redução da aquisição pelas ninfas (Belasque Júnior et. al., 2010).

Uma das maneiras de detecção dos insetos na área com pomares, consiste no monitoramento populacional, realizado por meio de inspeção de ovos, ninfas, e adultos nas brotações, ou por meio de armadilhas adesivas amarelas distribuídas na copa da planta (Paiva, 2009).

As inspeções devem ser realizadas nas bordas dos pomares, pois estes são os lugares de maior predominância de *D. citri* (Belasque Júnior et al., 2010). Conforme Miranda, Noronha Junior, Marques (2011), as armadilhas são mais eficientes do que as observações visuais, entretanto elas restringem a captura apenas para a área do campo visual do inseto. Assim, de acordo com Belasque Júnior et al. (2010), as armadilhas também não devem ser usadas dentro dos pomares, mas nas suas bordas, principalmente naqueles que mantêm um monitoramento constante, servindo como base para determinação de movimentação (migração) e dos locais de ocorrência da praga no pomar.

Uma das medidas principais para o controle do inseto é o uso de produtos químicos, contudo, segundo Bassanezi et al. (2013), mesmo sob aplicação intensa de inseticidas sistêmicos e de contato, ocorre continuamente o aparecimento de plantas infectadas, ainda que em menor proporção. Deduz-se, portanto, que as infecções primárias não são evitadas, apesar do controle do inseto vetor, mas, são advindas de psílídeos adultos infectivos, que migram de outros pomares e/ou de hospedeiros não submetidos ao controle do inseto (Bassanezi et al. (2013).

De acordo com Belasque Júnior et al. (2010), apesar do controle químico ter papel fundamental no controle de infecções secundárias, nenhum tratamento químico tem a capacidade de proteger a planta contra infecção por vários meses seguidos. Outro método de controle consiste no manejo integrado de pragas

(MIP), que consiste na integração entre os vários métodos de controle, a saber: químico, biológico, cultural, mecânico, físico, genético e legislativo (Waquil, 2002).

Dentre as estratégias de manejo, o controle biológico demonstrou ter potencial para ser utilizado na cultura dos citros, tomando como exemplo os resultados positivos obtidos no controle de outras pragas (Parra et al., 2008).

Os parasitoides são os principais meios de controle biológico de *D. citri* dentre eles, existem duas espécies principais que são exploradas: o ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) e o endoparasitoide *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam e Agarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Miranda, Noronha Júnior e Marques, 2011). No Brasil, os primeiros estudos realizados com o parasitoide *T. radiata*, em diversas localidades de São Paulo, demonstraram resultados promissores com altas taxas de parasitismo, evidenciando que a mortalidade de ninfas de *D. citri* parasitados com *T. radiata* mostrou variação entre 27,5% a 80% entre o período de setembro de 2004 a agosto de 2005 (Gómez-Torres et. al., 2006).

Segundo Parra et al. (2010), além do controle químico e biológico, o controle comportamental destaca-se como estratégia promissora dentro do MIP. Diante disso, Noronha Júnior (2010) afirma que uma das estratégias para o manejo do psilideo seria a modificação comportamental promovida pelos voláteis das plantas.

Em sua pesquisa, Noronha Júnior (2010), ao avaliar respostas dos psilideos a voláteis de plantas de laranja (*C. sinensis*) infectadas com HLB e sadias, e também respostas a voláteis de goiabeira *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), observou que os psilídeos preferiram os voláteis das plantas infectadas com HLB em detrimento das plantas sadias. Já no tocante aos voláteis de goiabeira, demonstrou-se que os insetos tanto tiveram dificuldade de localizar plantas de citros (*C. sinensis*) como também foram repelidos.

Entretanto, para a cultura dos citros, existem poucos trabalhos na literatura que associem o estresse biótico com o abiótico para o manejo de doenças e vetores, os quais causam prejuízos à cultura.

Estresse vegetal entende-se como as mudanças fisiológicas potencialmente prejudiciais nas plantas devido a condições ambientais desfavoráveis (Boyer, 1982). Conforme Bowler e Fluhr (2000), a exposição ao

estresse abiótico, em alguns casos, aumenta a resistência aos agentes patogênicos, o que indica que existe uma interferência entre a sinalização de estresse biótico e abiótico.

A tolerância a combinações de estresse biótico e abiótico já foi alcançada para algumas culturas a exemplo do milho, no qual os programas de melhoramento conseguiram produzir plantas que são tolerantes à seca e têm resistência adicional à erva parasita *Striga hermonthica* (Banziger et. al., 2006; Badu-Apraku e Yallou, 2009).

Na literatura existem evidências que sugerem que as plantas respondem a uma combinação específica de estresses de maneira não aditiva, produzindo efeitos que não poderiam ter sido previstos a partir do estudo do estresse individualmente (Mittler, 2006; Rizhsky et al. 2004). Mittler e Blumwald (2010), em revisão de literatura mostraram como os efeitos de estresse abiótico (seca, salinidade, frio, alta intensidade luminosa) com interação simultânea com estresse biótico (patógenos ou herbívoros), observaram que podem ocorrer interações positivas e/ou negativas. Deste modo, um estresse abiótico poderia conferir resistência ao estresse de natureza biótica (interação positiva) ou plantas submetidas a estresse abiótico poderiam tornar-se suscetíveis ao ataque de pragas e patógenos (interação negativa).

De acordo com Syvertsen e Garcia-Sanchez (2014), em revisão sobre os múltiplos estresses bióticos e abióticos que os citros são acometidos, as respostas agrônômicas e fisiológicas podem depender da intensidade ou duração do estresse. Os autores também discutiram como os estresses combinados e moderados (salinidade, seca, temperatura, concentração de CO₂, alta umidade), podem gerar benefícios potenciais para a cultura dos citros a curto e longo prazo.

Syvertsen e Garcia-Sanchez (2014) relataram como ocorrem as interações dos estresses abióticos como salinidade e seca, por exemplo, com patógenos como nematoides e patógenos doenças radiculares, contudo, não abrangem o manejo pela interação com psíldeos. Apesar disso, os mesmos autores esclarecem que, para a sobrevivência da cultura de citros, é importante compreender as interações entre HLB e outros estresses ambientais.

Em sua pesquisa, Tomaseto (2016) demonstrou como os fatores ambientais (fotoperíodo e temperatura), e os efeitos das condições da planta

(estresse hídrico, adubações), poderiam influenciar no padrão de voo de *D. citri*, em seedlings de laranjeira doce (*C. sinensis*). Em seus resultados, observou-se que os insetos que se desenvolveram em temperatura constante de 27 °C mostraram maior tendência de decolagem das plantas em comparação com aqueles que se desenvolveram em temperatura baixa (18 °C). Já nas plantas submetidas ao estresse hídrico, os insetos foram menos tendenciosos ao voo quando comparados com aqueles confinados em plantas com capacidade de campo de 70 e 100%. Assim, o autor concluiu que os fatores ambientais e inerentes à planta podem servir como subsídio para modular o comportamento de voo de *D. citri*, fornecendo conhecimento para ser aplicado na ampliação de estratégias para controle de *D. citri* e compreensão da epidemiologia do HLB nos citros.

3 METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura sob condições de telado e laboratório. Os insetos utilizados no experimento foram procedentes de plantas de murta [*Murraya paniculata* L. (Jack)] localizadas na Embrapa Mandioca e Fruticultura. As mudas de limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) foram produzidas com sementes oriundas do Banco Ativo de Germoplasma de Citros da mesma instituição.

3.1 Produção das mudas

As mudas de limoeiro 'Cravo' utilizadas no experimento foram constantemente produzidas para atendimento da demanda. Os procedimentos para produção envolveram seleção de frutos em campo, retirada das sementes, seguida de lavagem das sementes, uso de cal para retirada da mucilagem, secagem por 24 horas à sombra, seleção das sementes viáveis, e semeadura.

A semeadura foi realizada em tubetes de PVC cônicos (2,5 cm de diâmetro e 11 cm de altura) preenchidos com substrato de casca de pinus, colocando-se duas sementes por tubete. Os tubetes foram arranjados em bandejas plásticas (Figura 1a). Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em telado com proteção de tela antiafídica até o desenvolvimento das plantas (Figura 1b). Após a emergência e crescimento das plantas, procedeu-se o desbaste removendo a planta menos vigorosa, deixando apenas uma planta por tubete. Quando as mudas apresentavam em torno de 10 cm, eram selecionadas e transferidas para casa de vegetação onde foram submetidas aos tratamentos avaliados.



Figura 1 – (a) Bandeja com tubetes plásticos utilizados para semeadura do limoeiro 'Cravo' em substrato de casca de pinus. **(b)** Mudanças do genótipo de citros limoeiro 'Cravo' em estágio de desenvolvimento propício para realização do desbaste.

3.2 Obtenção de adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)

Os insetos utilizados em todos os experimentos foram provenientes do campo. Quando necessária a determinação da idade e “status” de acasalamento dos insetos, ninfas foram coletadas em plantas de murta em campo e levadas ao laboratório até a emergência dos adultos, conforme metodologia proposta por Lima et al. (2017). Em todos os experimentos, os insetos adultos foram coletados com ajuda de um aspirador portátil (Figura 2a). Antes da infestação, os adultos de *D. citri* foram armazenados temporariamente em recipiente de vidro (Figura 2b).

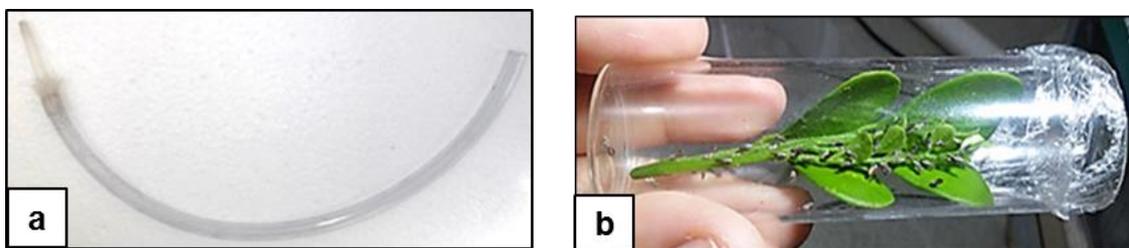


Figura 2 – (a) Aspirador portátil utilizado para coleta dos insetos. **(b)** Frasco de vidro utilizado para armazenamento temporário dos insetos antes da utilização nos experimentos.

3.3 Experimentos

Três experimentos foram realizados no trabalho: I. Estudo de respostas comportamentais de *D. citri* a plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade; II. Preferência para oviposição de *D. citri* em plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade; e III. Atratividade de *D. citri* a voláteis de plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade.

Os níveis de salinidade utilizados no presente estudo, foram definidos em ensaio preliminar de avaliação da atratividade de adultos de *D. citri* em resposta a seis níveis de salinidade: 1,2; 1,7; 2,2; 2,7; 3,2 e 3,7 dS m⁻¹.

Com base na variável fisiológica condutância estomática, o tratamento 1,7 dS m⁻¹, demonstrou que as plantas apresentaram melhor resposta fisiológica e morfológica, em comparação ao tratamento adotado como controle 1,2 dS m⁻¹.

3.3.1 Experimento I. Estudo de respostas comportamentais de *Diaphorina citri* a plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade

As plantas foram submetidas a três tempos de exposição a salinidade: 15, 20 e 60 dias, em três períodos diferentes do ano de 2017 (meses de maio, junho e setembro).

Nos períodos de 15 dias e 20 dias, os ensaios foram realizados em casa de vegetação. O ensaio com plantas expostas por 60 dias à salinidade, foi realizado em laboratório, com fotofase de 10 horas. Para cada período experimental, foi medida a temperatura média e umidade relativa do ar (Tabela 1).

Em cada repetição, para os três períodos, as plantas de cada tratamento, foram selecionadas de acordo com altura, número de brotações e de folhas.

Tabela 1 - Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar para os períodos nos quais o experimento foi realizado.

Período (dias) /localização	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
Maio /casa de vegetação	27,57	82,60
Junho /casa de vegetação	26,27	91,27
Setembro/ laboratório	25 ± 2	70 ± 10

3.3.1.1 Ensaios de livre escolha em casa de vegetação (15 e 20 dias após exposição à salinidade)

As mudas selecionadas previamente (item 3.1), foram transplantadas para copos plásticos (300 ml), perfurados em sua base e preenchidos com areia lavada e esterilizada. Os copos, foram arranjados no interior de bandejas, contendo solução fertilizante indicada para uso em cultivos hidropônicos, à concentração de 1,7 dS m⁻¹.

Para a aeração nesse sistema, cada bandeja possuía uma mangueira com pedra porosa na extremidade que estava mergulhada dentro de água, a outra extremidade ficava acoplada em um compressor de ar para aquário (Marca: Resun. Moldeo: AC-500 110v). Cujo acionamento era realizado por timer digital pré-programado.

A concentração de 1,7 dS m⁻¹ foi obtida diluindo-se o fertilizante em água deionizada, com base na recomendação do fabricante [1g para 1 L, condutividade elétrica da solução (CE_{sol}) ≈ 1 dS m⁻¹], porém como essa diluição fornece um valor de condutividade elétrica da solução inferior ao adotado no

experimento, foi realizado os ajustes de g/L para obtenção da condutividade elétrica da solução inicial para o experimento de $1,7 \text{ dS m}^{-1}$.

As plantas ficaram na solução nutritiva a $1,7 \text{ dS m}^{-1}$ para aclimação durante um período de cinco dias (Figura 3a). Transcorrido esse período, foram submetidas aos níveis de salinidade (tratamentos): $1,7 \text{ dS m}^{-1}$ (controle) e 10 dS m^{-1} (nível de estresse).

Em todas as avaliações (15, 20 e 60 dias), foi realizada a poda apical no primeiro dia imposição dos tratamentos ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}), para que todas as plantas apresentassem brotações no momento de liberação do inseto. Tal período foi estipulado por meio de testes e observações realizadas ao longo de um ano experimental.

O nível de estresse (10 dS m^{-1}) foi obtido adicionando-se solução nutritiva cloreto de sódio 1M à solução controle ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$). Foi adicionado um valor médio de 400 ml da solução salina de cloreto de sódio para 1 litro da solução controle.

O pH da solução foi ajustado e mantido entre 5,5 e 6,5 conforme indicação do fabricante do fertilizante, e a CE_{sol} foi mantida nos níveis estipulados para cada tratamento ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}) (Figura 3b). Tanto a CE_{sol} como o pH foram monitorados constantemente (duas vezes por semana), para manutenção dos valores estipulados durante todo o período de condução do experimento.

O monitoramento do pH e da CE_{sol} foi realizado com pHmetro (Acehe, portátil, modelo ZC164301) e condutímetro (Hanna, portátil, modelo HI993310) (Figura 3b), respectivamente. Para isso, os sensores do equipamento são mergulhados na solução, e a leitura é realizada quando os valores se estabilizam.

Quando os valores de pH estão abaixo do valor estipulado, realiza-se a correção com hidróxido de sódio a 5%; quando estão acima do valor, a correção é feita com ácido clorídrico a 5%. Como o período experimental foi curto, a absorção de água pelas raízes da planta foi superior à extração de nutrientes, conseqüentemente, ocorreu a elevação da condutividade elétrica da solução (dS m^{-1}), fazendo-se necessário somente a reposição com água deionizada para manter a condutividade nos valores pré-estabelecidos.

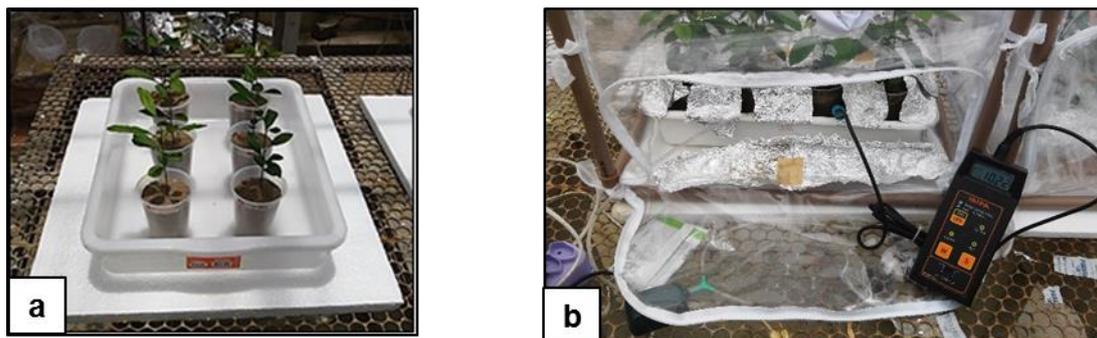


Figura 3 - (a) Conjunto de plantas na solução de 1,7 dS m⁻¹ para aclimação **(b)** Monitoramento da condutividade elétrica da solução.

Para instalação do experimento, os copos com as mudas de citros foram transferidas para recipientes plásticos, contendo 500 mL das respectivas soluções (1,7 e 10 dS m⁻¹) (Figura 4 a). Dois vasos, contendo cada um dos tratamentos avaliados, foram dispostos aleatoriamente dentro de gaiola plástica com parte superior em voal (dimensões aproximadas de 45 cm de comprimento 42 cm de largura e 42 cm de altura) (Figura 4 b). O vaso continha escala métrica, para acompanhamento do consumo hídrico de cada planta ao longo do período experimental, o que possibilitou a reposição de água. Cada vaso era aerado individualmente.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial (2 x 5), sendo dois níveis de salinidade e cinco tempos de avaliação, com cinco repetições (5 gaiolas).

Em cada gaiola, foram liberados 30 adultos de *Diaphorina citri* sem identificação de sexo (Figura 4 b). Os insetos, mantidos no interior de um tubo de vidro (Figura 2 b), foram colocados no centro da gaiola, a igual distância entre plantas com os dois tratamentos (Figura 4a). A liberação dos insetos não foi forçada.

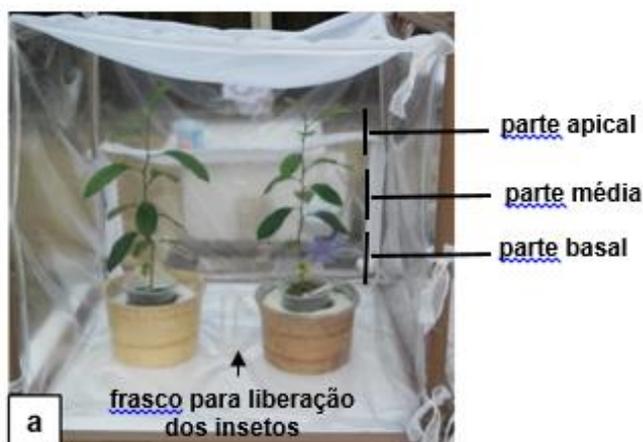


Figura 4 - (a) vaso utilizado para colocação das soluções, com tubo de vidro com os insetos, colocado entre plantas dos dois tratamentos. **(b)** vista geral do experimento.

Os insetos foram liberados no período da tarde (entre 15 h e 16 h). A variável observada foi o número de adultos por planta.

Foram feitas contagens de insetos na face adaxial e abaxial de cada folha por planta, por tratamento (Figura 5), sendo a primeira realizada uma hora após a liberação dos adultos. As contagens seguintes foram feitas 18 h, 24 h, 42 h e 48 h após a liberação, ocasião em que os adultos foram removidos das gaiolas.

Para contagem do número de insetos de acordo com sua distribuição na planta, dividiu-se a planta em três terços (basal, mediano e apical) (Figura 4 a).

Os adultos recuperados após a última avaliação foram levados ao laboratório para realização da sexagem. Para essa análise, foram considerados os resultados de ambas as avaliações (15 e 20 dias), em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial (2 x 2), sendo dois tratamentos e 2 níveis para sexo, com 10 repetições.



Figura 5 - Adultos de *Diaphorina citri* na face abaxial de folha de planta de limoeiro 'Cravo'

3.3.1.2 Ensaio de livre escolha em laboratório (60 dias após exposição à salinidade)

O ensaio foi realizado no laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em plantas com 60 dias de exposição aos tratamentos. Foram seguidas as mesmas abordagens metodológicas, explicitadas no item 3.3.1.1. com relação à obtenção e padronização das soluções e número de repetições.

Visando caracterizar o comportamento de seleção hospedeira no inseto, realizaram-se avaliações com intervalo de 5 min até completar 55 min, após a liberação dos insetos. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial (2 x 11) sendo dois tratamentos e 11 tempos de avaliação, com cinco repetições.

Após a última avaliação, as contagens foram realizadas 1 h, 18 h, 24 h e 42 h após a liberação. O delineamento experimental foi de bloco ao acaso em esquema fatorial (2 x 4), sendo dois níveis de salinidade e quatro avaliações, com cinco repetições.

3.3.2 Experimento II. Preferência para oviposição de *Diaphorina citri* em plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade

Esse experimento foi dividido em dois testes, o primeiro foi conduzido em casa de vegetação, em condições de temperatura e umidade relativa média de 26,81 °C e UR de 86,05%, e o segundo em laboratório, em câmara de condições controladas (Fitotec) com temperatura (dia: 26°C; noite: 21°C), umidade relativa (dia: 70%; noite: 80%) e fotoperíodo de 12 horas.

Para a realização do teste em casa de vegetação, foram utilizadas plantas com 20 dias de exposição aos níveis de salinidade ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}). Cinco dias previamente ao teste, as plantas foram podadas para assegurar a presença de brotos apicais. As plantas foram individualizadas em gaiolas plásticas com parte superior em tecido voal (Figura 6 a, 6 b).

Para o teste realizado em laboratório foram utilizadas plantas de 60 dias de exposição aos tratamentos ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}), que também foram podadas com 5 dias de antecedência. A individualização das plantas foi realizada com gaiolas de nylon e parte superior em tecido voal (Figura 6 c).

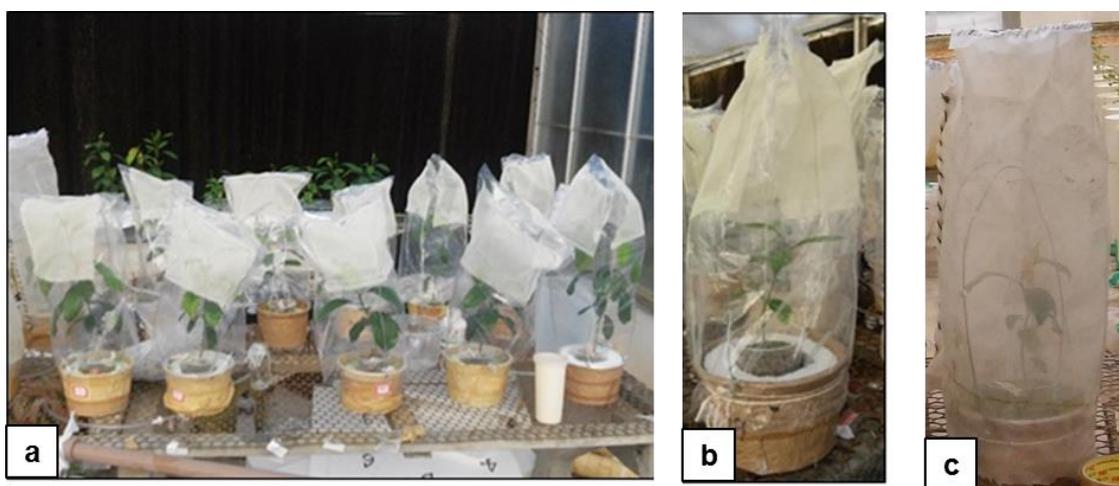


Figura 6 - (a) gaiolas utilizadas para confinamento de insetos em experimento de oviposição de *Diaphorina citri*. **(b)** Detalhe de planta em gaiola individualizada para experimento em casa de vegetação **(c)** Detalhe para planta individualizada para experimento em laboratório

Para ambos os testes foram realizadas as seguintes abordagens metodologias:

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}) e 5 repetições.

Em cada gaiola, foram liberados cinco casais de *D. citri* provenientes do campo através de um orifício localizado na parte superior da gaiola. Após a introdução dos insetos, o orifício foi vedado. Os insetos foram removidos 24 horas após a liberação, e em seguida foi contabilizado o número de ovos nas brotações de cada planta.

Os ovos foram observados diariamente quanto à eclosão e desenvolvimento ninfal. As variáveis avaliadas foram número de ovos e de ninfas.

3.3.3 Experimento III. Atratividade de *Diaphorina citri* a voláteis de plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade

Os bioensaios de olfatométrica foram realizados para observar o comportamento do inseto perante os voláteis da planta, na ausência de contato visual com a mesma. Os bioensaios foram realizados no laboratório de Ecofisiologia Vegetal, à temperatura de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e no período de 9:00 às 12:00h e das 14:30 às 15:30, quando os insetos apresentam maior atividade (Sétamou et al., 2012). Foram utilizadas plantas expostas durante 60 dias aos tratamentos ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$ e 10 dS m^{-1}). A planta de cada tratamento ficou confinada em uma câmara de aeração individual e vedada (Figura 7 b).

Por meio de um compressor, o ar foi bombeado para o sistema de olfatométrica, passando inicialmente pela filtragem com carvão ativado, umidificação e em seguida desumidificação em sílica em gel (Figura 7 a).

Em seguida, o ar passou pelas câmaras de aeração contendo as plantas dos dois tratamentos (Figura 7 b), cujos odores foram conduzidos à arena de testes com insetos, o olfatômetro (Figura 7 c). 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 mangueiras politetrafluoretileno (Teflon®).

O fluxo de entrada do ar foi mantido a uma taxa de $0,25 \text{ L min}^{-1}$. Utilizou-se o olfatômetro de quatro entradas (Pettersson, 1970), avaliando-se os voláteis de cada um dos tratamentos em dois braços do olfatômetro, alternadamente (Figura 7 d, áreas 1 a 4). A área central (onde há mistura de odores) foi considerada área sem resposta (Figura 8 d, área 5).

O olfatômetro é de uma peça quadrada ($16,5 \text{ cm} \times 16,5 \text{ cm}$) de acrílico, com espessura de 2 cm, escavada em formato de X no centro (adaptado de Vet et al., 1983). A peça de acrílico foi mantida entre duas placas de vidro, sendo o conjunto preso por meio de quatro cliques (prendedores de papel) ($5 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$).

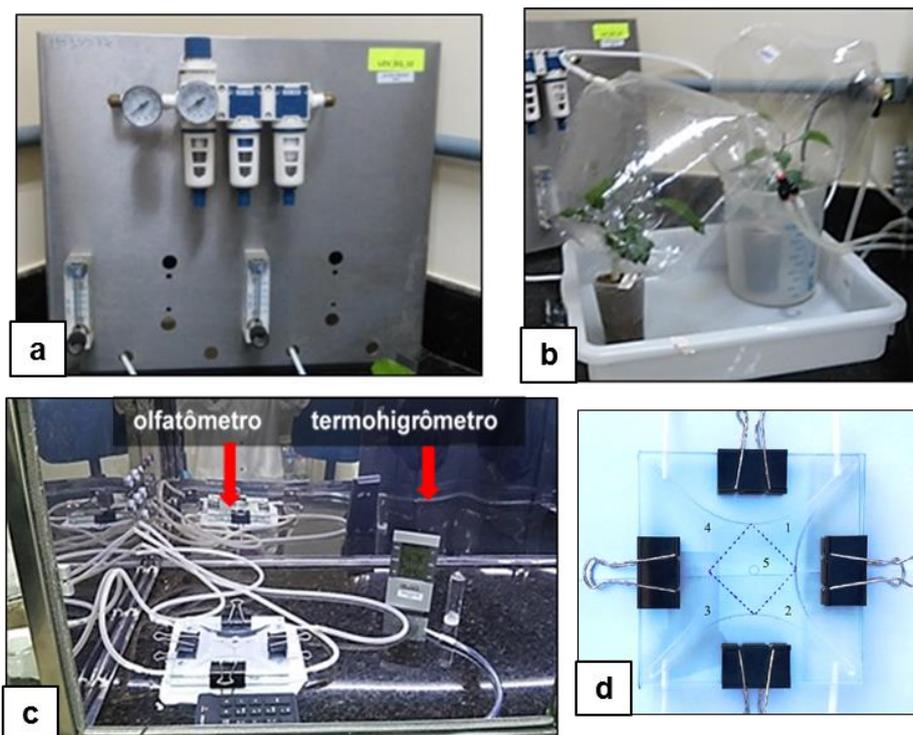


Figura 7 – Sistema de olfatometria. **(a)** Sistema de filtros de passagem do ar. **(b)** Câmaras de aeração constituída por sacos de poliéster para isolamento das plantas de cada tratamento. **(c)** olfatômetro de quatro entradas conectadas às plantas e termohigrômetro que fornece medidas de temperatura e umidade relativa. **(d)** Detalhe do olfatômetro

Nesse experimento, foram utilizadas seis plantas de cada tratamento, sendo cada planta substituída a cada três repetições. A vidraria foi lavada com detergente neutro e água, antes de cada repetição, e posteriormente, com acetona e depois seca em estufa a 160 °C por cinco horas. O olfatômetro foi lavado com detergente neutro, e seco ao ar.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 repetições para fêmeas sem “status” de acasalamento e idade determinados e 20 para fêmeas virgens com idade conhecida.

Para o ensaio com as fêmeas virgens, foram coletados, em campo, ramos de murta com ninfas entre o 4^o e 5^o ínstar (Figura 9), os quais foram colocados em frascos com água e acondicionados em gaiolas teladas (47 cm x 47 cm x 47 cm). As ninfas foram observadas diariamente até emergência dos adultos (Lima et al., 2017), os quais foram removidos e sexados (conforme García et al., 2016). As fêmeas foram mantidas em frascos de vidro (8,5 cm de comprimento x 2,5 cm de diâmetro) com ramos de murta até realização do experimento (Figura 9 a), e os machos descartados.

As fêmeas foram utilizadas no período de 4 a 7 dias pós-emergência, o que coincide com o alcance da maturidade sexual, quando as respostas aos voláteis são mais consistentes (Weninger e Hall, 2007). Os ramos de murta foram substituídos por novos quando se observava o início do processo de murcha.



Figura 8 - Ninfa de *Diaphorina citri* no 5º ínstar em folha de murta.

Adultos sem idade e “status” de acasalamento determinado, foram coletados com auxílio de aspirador portátil (Figura 2 a). Os insetos, também passaram pelos mesmos procedimentos que as fêmeas virgens (sexagem e seleção de fêmeas). As fêmeas também foram acondicionadas em tubo de vidro com alimento (ramo de murta) (Figura 9 a).



Figura 9 – (a) Fêmeas de psilídeos acondicionadas em broto de murta. (b) Fêmeas de psilídeos sem alimento antes dos bioensaios de olfatometria.

Independentemente da origem, as fêmeas foram mantidas sem alimento por cerca de 1 hora antes da realização do ensaio (Figura 9 b). Nos bioensaios, o inseto foi inserido no olfatômetro através de um orifício (0,7 mm de diâmetro) localizado na sua parte superior no centro da área de não-resposta. A cada repetição, um novo inseto foi utilizado.

A cada três repetições, a base do olfatômetro foi trocada para evitar efeito de semioquímicos do inseto no bioensaio. A cada repetição, o olfatômetro foi girado em sentido horário, para assim manter a casualização das escolhas e reduzir o erro devido ao acaso.

Cada bioensaio teve duração de 10 minutos, sendo os dados coletados por meio do software SOLF (Fancelli et al., 2017). As variáveis analisadas foram o tempo de residência (min), número de entradas e primeira escolha do inseto.

3.3.4 Respostas fisiológicas das plantas

Essas análises foram realizadas para quantificar se as plantas submetidas ao estresse salino estavam respondendo fisiologicamente ao tratamento para definição do momento adequado à avaliação do efeito do tratamento e intensidade do estresse sobre o inseto.

Nos períodos de 10 dias, 15 dias e 60 dias após as plantas serem submetidas à salinidade, e antes da liberação dos insetos, foi realizada a avaliação das respostas fisiológicas das plantas com uso do analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA) (ACD, modelo LCPro, Hoddesdon, UK). As variáveis avaliadas foram: condutância estomática (g_s) ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentração interna de carbono (C_i) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), transpiração E ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), fotossíntese líquida (A) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), e eficiência do uso da água (EUA), relacionando a fotossíntese líquida e a transpiração (A/E). A avaliação foi realizada no período da manhã entre 9 e 10 horas.

O procedimento consistiu em realizar as medidas a partir da primeira folha expandida, e duas folhas por planta. O delineamento estatístico foi em blocos ao acaso em esquema fatorial de 2 x 3 (tratamento x períodos de avaliação).

Foi avaliado o potencial osmótico de folhas de plantas após 20 dias de imposição do estresse salino, com uso de osmômetro (VAPRO™, modelo 5520). Para a análise, foi coletada a primeira folha expandida das plantas avaliadas, totalizando 5 folhas (repetições) para cada tratamento. As folhas foram, acondicionadas individualmente em papel alumínio, e mantidas em laboratório a temperatura de -20°C . No momento da análise, foram maceradas e o extrato obtido foi analisado.

A temperatura foliar foi avaliada aos 20 e 60 dias separadamente, no período da manhã e da tarde, com base em termômetro ao infravermelho (Extech instruments, modelo RH 101).

O delineamento foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 2 (tratamento x hora de medida). Três folhas de cada planta foram avaliadas, a partir da primeira folha totalmente expandida

Adicionalmente, foi realizada uma avaliação visual das plantas, expostas aos 60 dias de imposição dos tratamentos, para identificar se elas expressaram sintomas visuais referentes ao estresse salino.

Para as plantas de 60 dias, também foi quantificada a área foliar (AF).

3.4 Estatística

Para todas as variáveis analisadas os dados foram tabulados em planilhas eletrônicas (Microsoft Excel 2013), que também foram usadas para confecção dos gráficos.

Posteriormente no programa estatístico R os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk ($p \leq 0,05$) e teste de homogeneidade das variâncias Teste F ($p \leq 0,05$).

Quando atendidos os pressupostos necessário para a realização da ANAVA aplicou-se o teste F, avaliando-se a significância dos tratamentos (1,7 e 10 dS m⁻¹), tempo de avaliação e sua interação. Sendo o teste significativo, realizou-se o teste de Tukey ($p < 0,05$) para a comparação das médias.

O teste F ($p \leq 0,05$) e o teste de Tukey ($p < 0,05$) foram realizados para as seguintes variáveis aos 15, 20 e 60 dias: número de adultos encontrados por planta, número total de adultos na face abaxial das folhas, número total de adultos na face adaxial das folhas, número total de adultos na parte apical da planta, número total de adultos na parte média da planta e número total de adultos na parte basal das folhas.

Para o período de 20 dias do experimento I na avaliação de atratividade (5 a 55 min) foi realizado os ajustes de modelos polinomiais de regressão, para o fator tempo, e para avaliação de atratividade (5 a 55 horas) os ajustes de modelos polinomiais de regressão foram para o fator tratamento.

A variável machos e fêmeas, foi avaliada quanto a normalidade dos resíduos (Shapiro Wilk ($p \leq 0,05$); quanto a homogeneidade das variâncias pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Não foi possível para os dados de olfatometria e oviposição o atendimento do pressuposto da normalidade (Shapiro Wilk ($p \leq 0,05$) para a realização da ANAVA, dessa forma foi realizado testes não paramétricos. Para os ensaios de olfatometria foi realizado o teste F ($P \leq 0,05$) para comparação das variâncias e as médias foram avaliadas pelo teste t – pareado ($p < 0,05$), já ara os dados do ensaio de oviposição as médias foram comparadas pelo teste de wilcoxon ($p < 0.05$).

Para as variáveis fisiológicas fotossíntese (A), carbono interno (ci), condutância estomática (gs), temperatura foliar ($^{\circ}\text{C}$), foi realizado o teste de normalidade (Shapiro Wilk ($p \leq 0,05$) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), já o potencial osmótico foi avaliado pelo teste t para variáveis independentes. As análises foram realizadas no programa estatístico R 3.4.1 (Ihaka e Gentleman 1996).

4 RESULTADOS

4.1 Respostas fisiológicas das plantas

A condutividade elétrica da solução (CE_{sol} - $dS\ m^{-1}$) e o tempo de avaliação (10, 15 e 60 dias) afetaram a troca gasosa das plantas.

Com relação à fotossíntese líquida (A - $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$), ocorreu interação entre os fatores (tratamento x tempo de avaliação) ($F = 5,017$, $gl = 59$, $p = 0,0103$) e efeito significativo dos tratamentos ($F = 21,9184$, $gl = 59$, $p < 0,0001$) e tempo de avaliação ($F = 27,4067$, $gl = 59$, $p < 0,0001$) (Figura 10 a). Não houve diferença estatística para as plantas submetidas por 10 dias aos tratamentos ($F = 0,0543$, $gl = 59$, $p = 0,8168$). Ocorreram diferenças aos 15 dias ($F = 10,7177$, $gl = 59$, $p = 0,0019$) e 60 dias ($F = 21,1806$, $gl = 59$, $p < 0,0001$) de imposição dos tratamentos. Os valores de fotossíntese líquida para as plantas não estressadas, submetidas a baixo nível de CE_{sol} (controle), foram maiores em relação às plantas submetidas à CE_{sol} de $10\ dS\ m^{-1}$, aos 15 e 60 dias de imposição dos tratamentos, não diferindo entre os tratamentos aos 10 dias (Figura 10 a).

Foi verificado efeito significativo da interação (tratamento e tempo de avaliação) em relação à transpiração da folha (E - $mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) ($F = 3,227$, $gl = 59$, $p = 0,0481$). Além disso, também foram significativos os efeitos dos fatores: tratamento ($F = 24,538$, $gl = 59$, $p < 0,0001$) e tempo de avaliação ($F = 115,358$, $gl = 59$, $p < 0,0001$). O resultado de E foi semelhante a A , uma vez que os tratamentos afetaram a transpiração da planta aos 15 dias ($F = 8,2481$, $gl = 59$, $p = 0,0060$) e 60 dias ($F = 21,6262$, $gl = 59$, $p < 0,0001$), mas não apresentaram efeito aos 10 dias ($F = 1,1182$, $gl = 59$, $p < 0,2954$) após a imposição dos tratamentos (Figura 10 b). As plantas do tratamento controle apresentaram as maiores médias de E , aos 15 e 60 dias, não diferindo aos 10 dias (Figura 10).

Quanto à concentração interna de carbono (ci - $mol\ m^{-2}\ s^{-1}$), verificou-se interação significativa entre tratamento ($F = 8,261$, $gl = 59$, $p = 0,0007$) e tempo de avaliação ($F = 239,880$, $gl = 59$, $p < 0,0001$) mas não efeito do tratamento ($F = 0,662$, $gl = 59$, $p = 0,4196$) (Figura 10c).

O carbono interno (ci) foi ligeiramente superior para o tratamento controle aos 15 dias, alterando o comportamento aos 60 dias, indicando o efeito cumulativo do estresse nas plantas que cresceram em níveis mais altos de condutividade elétrica da solução (Figura 10 c).

Semelhante a A e E, não houve diferenças em ci quando as plantas foram submetidas a 10 dias de tratamento ($F = 1,5951$, $gl = 59$, $p = 0,2125$), mas as diferenças entre os tratamentos foram registradas aos 15 dias ($F = 8,2036$, $gl = 59$, $p = 0,0061$) e 60 dias ($F = 7,3854$, $gl = 59$, $p = 0,009$).

Para a eficiência do uso da água (EUA), ocorreu interação entre os tratamentos e os tempos de avaliação estudados ($F = 4,774$, $gl = 59$, $p = 0,0127$). Não ocorreu efeito dos tratamentos ($F = 0,669$, $gl = 59$, $p = 0,4172$), mas houve efeito do tempo de avaliação ($F = 92,993$, $gl = 59$, $p < 0,0001$) (Figura 10 d). Plantas submetidas aos tratamentos por 10 dias ($F = 0,2052$, $gl = 59$, $p = 0,6525$) e 60 dias ($F = 2,8999$, $gl = 59$, $p = 0,0948$), não apresentaram diferença na EUA. A maior média para EUA ocorreu para plantas submetidas à maior CEsol, considerando o tempo de exposição por 15 dias aos tratamentos ($F = 2,8999$, $gl = 59$, $p = 0,0103$). Com relação ao tempo de avaliação, as plantas de 15 dias apresentaram maiores médias de eficiência do uso da água (Figura 10 d).

No que diz respeito à condutância estomática das folhas ($gs - mol\ m^{-2}\ s^{-1}$), não houve interação entre os tratamentos e as avaliações ($F = 2,935$, $gl = 59$, $p = 0,0623$), mas constatou-se efeito do tratamento ($F = 8,881$, $gl = 59$, $p < 0,0001$), onde, as plantas controle apresentaram as maiores médias de gs (Figura 10 e). Houve efeito do tempo de avaliação ($F = 53,399$, $gl = 59$, $p < 0,0001$), e as diferenças de gs foram observadas aos 15 dias de exposição aos tratamentos, não diferindo entre 10 e 60 dias (Figura 10 f). A forte regulação estomática das trocas gasosas foi uma resposta clara das plantas para lidar com o estresse imposto, corroborando A e E.

O potencial osmótico da folha foi afetado pela salinidade ($t = -6,1571$, $gl = 7.5793$, $p = 0,0003$) (Figura 10 g). O potencial osmótico foi menor para o tratamento sob estresse, devido ao ajustamento osmótico.

Não ocorreu interação entre os fatores para a temperatura foliar ($^{\circ}C$) medida nas plantas de 20 dias ($F = 1,2268$, $gl = 119$, $p = 0,2703$), ocorrendo diferença entre horário de medida (manhã e tarde) ($F = 11,0415$, $gl = 119$, $p = 0,0012$) e tratamento ($F = 12,3024$, $gl = 119$, $p = 0,0006$). Quanto ao efeito do tratamento, as menores médias foram registradas para as plantas sob estresse salino (Figura 10 h). Os maiores valores de temperatura foliar foram observados no período da tarde (Figura 10 i).

Em relação à temperatura foliar (°C) para plantas expostas aos tratamentos por 60 dias, houve efeito do horário de medida ($F = 51,335$, $gl = 143$, $p < 0,0001$) e da salinidade ($F = 15,529$, $gl = 143$, $p = 0,00013$). Também não ocorreu efeito de interação entre os fatores ($F = 0,406$, $gl = 143$, $p = 0,7486$). As maiores médias foram observadas para as plantas sob estresse salino (Figura j). Inversamente ao que foi observado para as plantas de 20 dias, os maiores valores de temperatura foliar, foram obtidos no período da manhã (Figura 10 I).

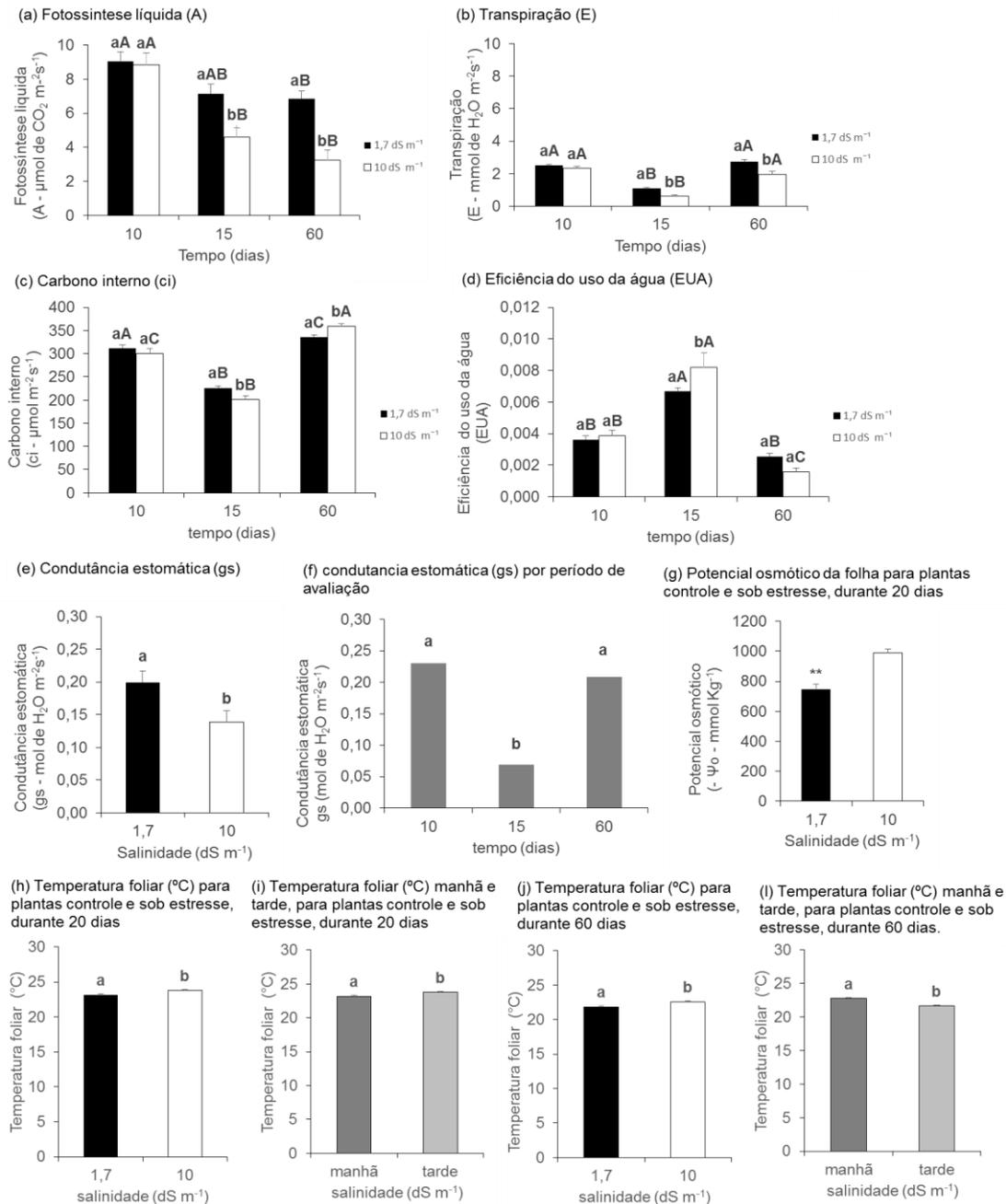


Figura 10 - Médias (\pm epm) de **(a)** fotossíntese líquida (A); **(b)** Transpiração (E); **(c)** Carbono interno (ci); **(d)** Eficiência do uso da água (EUA); média (\pm epm) **(e)** Condutância estomática (gs); **(f)** Condutância estomática (gs) por avaliação, de plantas de limoeiro 'Cravo' sob tratamento controle (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) por 10, 15 e 20 dias. Médias (\pm epm) de **(g)** Potencial osmótico da folha para plantas controle e sob estresse, durante 20 dias; **(h)** Temperatura foliar (°C) para plantas controle e sob estresse, durante 20 dias **(i)** Temperatura foliar (°C) manhã e tarde, para plantas controle e sob estresse, durante 20 dias **(j)** Temperatura foliar (°C) para plantas controle e sob estresse, durante 60 dias **(l)** Temperatura foliar (°C) manhã e tarde, para plantas controle e sob estresse, durante 60 dias.

[epm = erro padrão da média; para as médias seguidas de mesma letra, acima da barra, minúscula não diferem entre tratamentos e maiúsculas não diferem entre avaliações, pelo teste de Tukey ($p < 0.05$); Asterisco (**) significa diferença estatística significativa ($p < 0.05$, teste t)].

Visualmente as plantas começaram a apresentar os sintomas referentes à salinidade (plantas submetidas ao tratamento de 10 dS m^{-1}) apenas com 60 dias de tratamento. Os sintomas apresentaram-se como queima da brotação apical, queima nas bordas das folhas velhas, as quais também se tornaram amareladas e enrugadas. As plantas do tratamento sob estresse (10 dS m^{-1}) possuíam altura menor do que aquelas do tratamento controle ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$) (Figura 11).

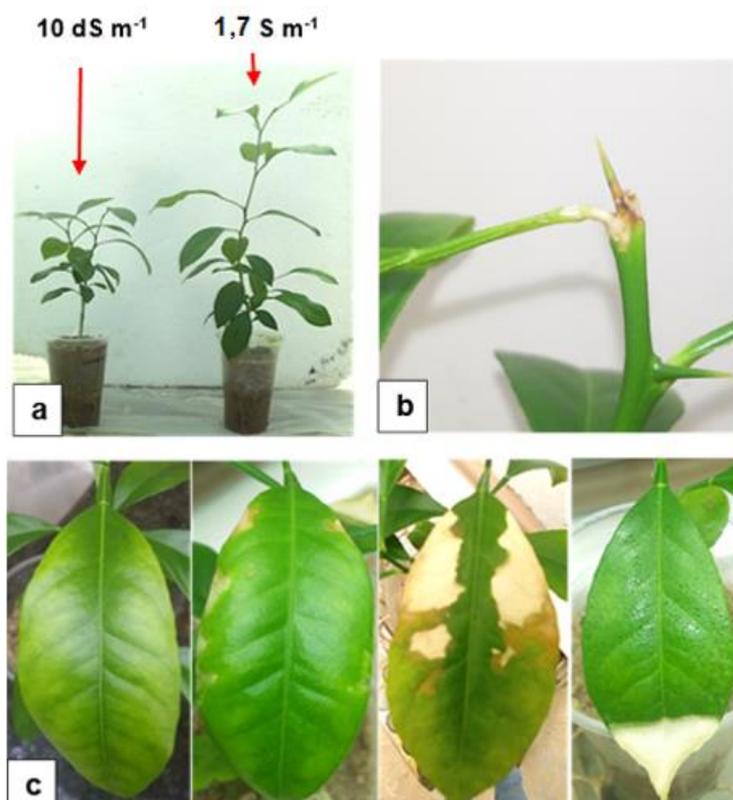


Figura 11 - (a) Diferença de porte para plantas de mesma idade submetidas 60 dias aos tratamentos **(b)** queima da brotação apical **(c)** folhas com bordas amareladas, enrugamento e queima nas bordas e na ponteira.

As plantas expostas aos dois tratamentos durante 60 dias, apesar das diferenças quanto à altura (Figura 11 a), apresentavam áreas foliares médias (m^2) próximas (Tabela 2). Uma possível explicação para a proximidade dos valores de área foliar é o fato das plantas do tratamento estressado (10 dS m^{-1}) apresentarem uma maior emissão de ramos laterais, enquanto as plantas do tratamento controle mantiveram um crescimento vertical.

Tabela 2 – Médias (\pm epm) da área foliar média (AFM – m²) das plantas submetidas aos tratamentos, utilizadas para as avaliações de 60 dias.

Tratamentos	AFM (m ²)	(\pm epm)
1,7 dS m ⁻¹	0,020	0,0036
10 dS m ⁻¹	0,017	0,0027

4.2 Experimento I. Estudo de respostas comportamentais de *Diaphorina citri* a plantas de citros submetidas a níveis contrastantes de salinidade

4.2.1 Ensaio de livre escolha em casa de vegetação (15 e 20 dias após exposição à salinidade)

Nas plantas expostas à salinidade por 15 dias, não houve efeito da interação entre tratamento e tempo de avaliação (1, 18, 24, 42 e 48 horas) ($F = 1,4885$, $gl = 49$, $p = 0,2261$) sobre o número de adultos de *D. citri*. Também não foi constatada diferença entre as avaliações realizadas ($F = 0,6201$, $gl = 49$, $p = 0,6511$), contudo, o inseto mudou o comportamento em função dos tratamentos, demonstrando não-preferência pelas plantas do tratamento estressado ($F = 10,6571$, $gl = 49$, $p = 0,0024$) (Figura 12).

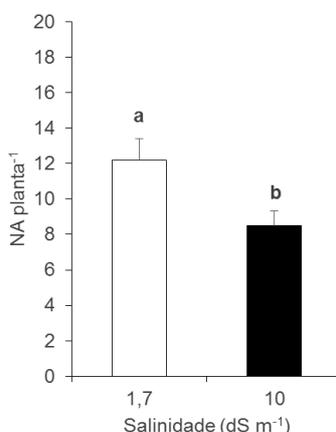


Figura 12- Média (\pm epm) do total do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro ‘Cravo’, sem estresse (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) para 15 dias.

[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)]

Na avaliação do número de insetos na face abaxial, verificou-se que não ocorreu interação entre os fatores avaliados ($F = 1,4937$, $g = 49$, $p = 0,2246$), e nenhum efeito do tempo de avaliação ($F = 1,5491$, $gl = 49$, $p = 0,2089$), mas efeito significativo dos tratamentos no comportamento do inseto ($F = 10,2125$ gl

= 49, $p = 0,0029$). *Diaphorina citri* demonstrou menor atratividade pelas plantas do tratamento estressado (Figura 13 a).

Em relação à superfície adaxial, o comportamento do inseto não foi afetado pelo tempo de avaliação ($F = 0,92591$ gl = 49, $p = 0,4597$) e estresse salino ($F = 1,28789$, g = 49, $p = 0,2639$), nem pela interação tratamento x tempo de avaliação ($F = 0,35436$, gl = 49, $p = 0,8392$) (Figura 13 b).

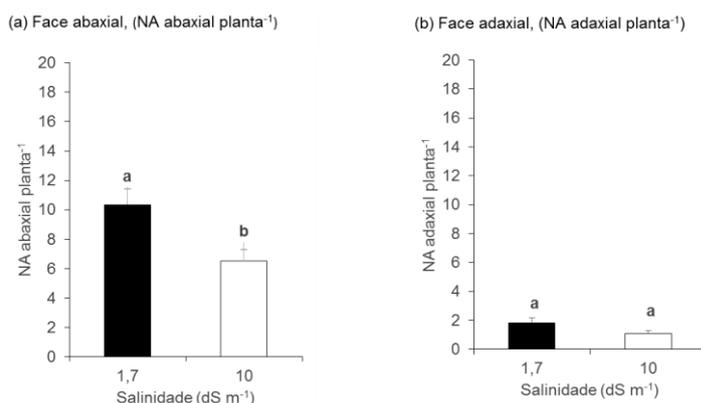


Figura 13 - Média (\pm epm) do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) para 15 dias. **(a)** face abaxial (NA abaxial planta⁻¹), **(b)** face abaxial (NA adaxial planta⁻¹)

[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)]

Considerando a preferência e a distribuição dos insetos em diferentes extratos da planta, não foi verificada interação entre tratamento e tempo de avaliação para a parte apical ($F = 0,7309$, g = 49, $p = 0,5768$), média ($F = 2,63014$, gl = 49, $p = 0,0502$) e basal ($F = 0,3608$, gl = 49, $p = 0,8348$).

O comportamento do inseto também não foi alterado pelo efeito das avaliações, na preferência por qualquer parte da planta: apical ($F = 0,7830$, gl = 49, $p = 0,5437$), média ($F = 0,53109$, gl = 49, $p = 0,7136$) e basal ($F = 1,0270$, gl = 49, $p = 0,4066$). Entretanto, houve efeito dos tratamentos na distribuição de insetos na parte apical ($F = 8,4384$, gl = 49, $p = 0,0062$) e parte basal ($F = 5,0100$, gl = 49, $p = 0,0315$), e comportamento indiferente na parte média ($F = 2,28240$, gl = 49, $p = 0,1396$). As plantas estressadas atraíram menos insetos tanto na posição apical da planta como na basal (Figura 14).

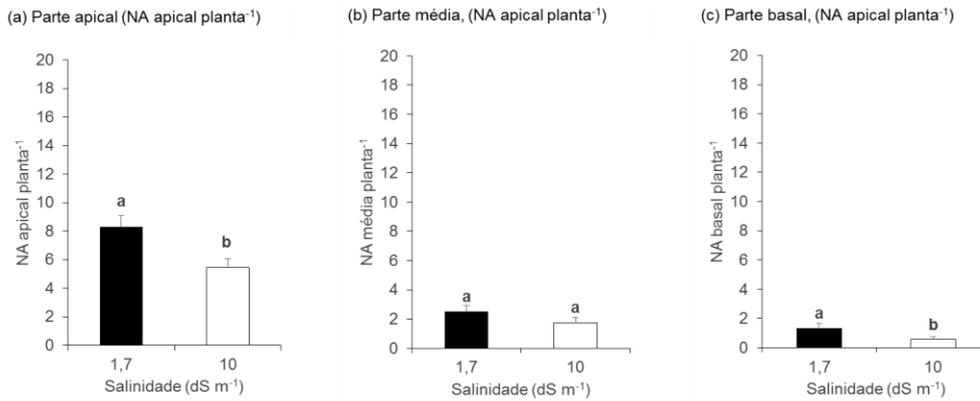


Figura 14 - Média (\pm epm) do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) para 15 dias. **(a)** Parte apical (NA apical planta⁻¹); **(b)** Parte média, (NA apical planta⁻¹); **(c)** Parte basal, (NA apical planta⁻¹)

[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)]

Para plantas aos 20 dias após a imposição da salinidade, não houve interação entre tratamento e tempo de avaliação (1, 18, 24, 42 e 48 horas) sobre o número de insetos atraídos ($F = 0,423$, $gl = 49$, $p = 0,7910$). No entanto, houve efeito do tempo de avaliação ($F = 5,610$, $gl = 49$, $p = 0,0013$) e do tratamento sobre o número de adultos de *D. citri* nas plantas ($F = 91,046$, $gl = 49$, $p < 0,0001$). A menor atratividade de insetos foi observada para as plantas do tratamento estressado (Figura 15 a). Considerando o tempo de avaliação, a atratividade foi menor para a primeira avaliação em comparação com as demais (Figura 15 b).

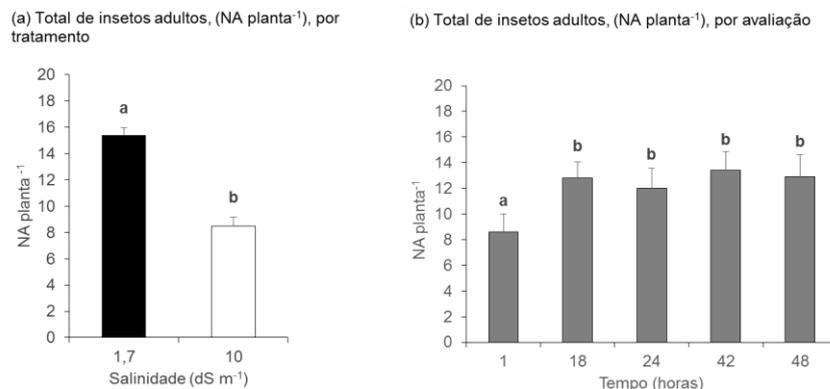


Figura 15 - Média (\pm epm) do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) para 20 dias **(a)** Total de insetos adultos, (NA planta⁻¹), por tratamento **(b)** Total de insetos adultos, (NA planta⁻¹), por avaliação

[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)]

Verificou-se, para a face abaxial da folha, que não houve efeito significativo da interação entre tratamento e tempo de avaliação sobre o número de insetos ($F = 0,746$, $gl = 49$, $p = 0,5671$). Já as análises dos fatores isolados demonstraram que as médias dos tratamentos apresentaram diferença significativa ($F = 90,195$ $gl = 49$, $p < 0,0001$) (Figura 16 a) assim como houve diferença significativa para o número de insetos nos tempos de avaliação estudados ($F = 8.749$, $gl = 49$, $p < 0,0001$) (Figura 16 b).

Quanto ao número de insetos adultos na face adaxial da folha, não foi constatado efeito significativo da interação entre o tratamento e o tempo de avaliação sobre o número de insetos ($F = 0,8586$, $gl = 49$, $p = 0,4979$). Similarmente, não houve diferença significativa quanto ao número de insetos entre avaliações ($F = 1,6548$, $gl = 49$, $p = 0,18189$), assim como entre os tratamentos ($F = 3,5126$, $gl = 49$, $p = 0,0690$) (Figura 16 c).

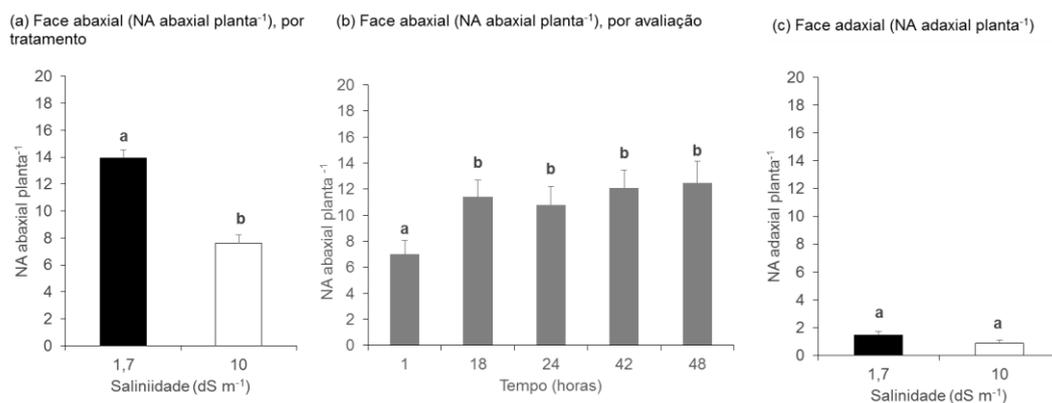


Figura 16 - Média (\pm epm) do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) para 20 dias. **(a)** Face abaxial (NA abaxial planta⁻¹), por tratamento **(b)** Face abaxial (NA abaxial planta⁻¹), por avaliação; **(c)** Face adaxial (NA adaxial planta⁻¹)

[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)]

Considerando o número de insetos adultos na parte apical da planta, não ocorreu efeito significativo da interação entre os tratamentos e os tempos de avaliação ($F = 0,843$, $gl = 49$, $p = 0,50713$). Já os tratamentos diferiram significativamente ($F = 33,251$, $gl = 49$, $p < 0,0001$), enquanto que, para o número de insetos por tempo de avaliação, não houve efeito significativo ($F = 0,724$, $gl = 49$, $p = 0,58130$) (Figura 17 a).

Na parte média da planta, ocorreu efeito significativo da interação entre os tratamentos e os tempos de avaliação sobre o número de insetos ($F = 3,7577$, $gl = 49$, $p = 0,011801$). Também foi constatada diferença significativa entre os tratamentos ($F = 16,2907$, $gl = 49$, $p = 0,000271$) e entre os tempos de avaliação ($F = 4,5683$, $gl = 49$, $p = 0,0044$) (Figura 17 b). As diferenças entre os tratamentos foram registradas nas avaliações realizadas 1 hora ($F = 4,4053$, $gl = 49$, $p = 0,042$) e 42 horas ($F = 19,4273$, $gl = 49$, $p < 0,0001$) após a liberação dos insetos. No geral ocorreu menor atratividade para as plantas estressadas. Ao longo do tempo de avaliação a atratividade não mudou, mas se intensificou para as plantas controle.

Com relação ao número de insetos na parte basal da planta, não ocorreu interação significativa entre os fatores analisados ($F = 0,7060$, $gl = 49$, $p = 0,59306$). Foi constatada diferença significativa para os tempos de avaliação ($F = 4,2278$, $gl = 49$, $p = 0,00659$), como também para os tratamentos ($F = 12,4026$, $gl = 49$, $p = 0,00118$) (Figura 17 d). A menor atratividade ocorreu para as plantas sob estresse salino, e esse comportamento do *D. citri*, manteve-se por todo o tempo de avaliação (Figura 17 e).

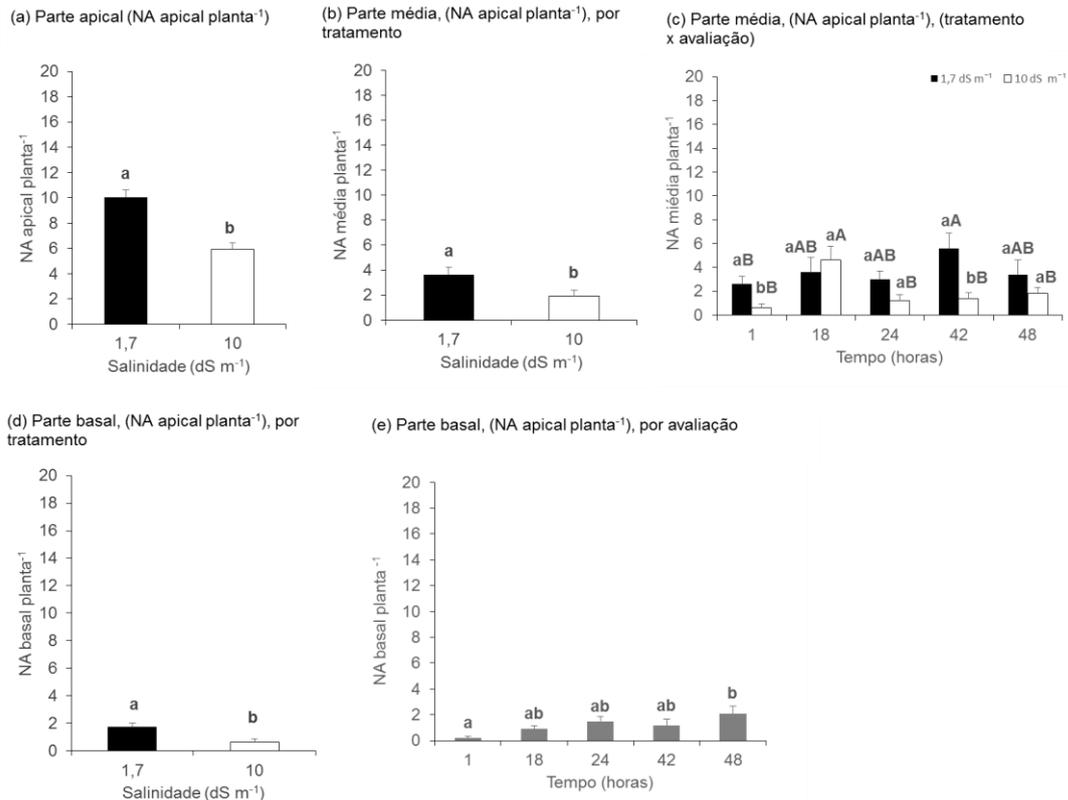


Figura 17 - Média (\pm epm) do número de adultos (NA) de *Diaphorina citri*, em plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) para 15 dias. **(a)** Parte apical (NA apical planta⁻¹); **(b)** Parte média, (NA apical planta⁻¹), por tratamento; **(c)** Parte média, (NA apical planta⁻¹), (tratamento x avaliação); **(d)** Parte basal, (NA apical planta⁻¹), por tratamento; **(e)** Parte basal, (NA apical planta⁻¹), por avaliação

[epm = erro padrão da média; para as médias seguidas de mesma letra, minúsculas não diferem entre tratamentos e maiúsculas não diferem entre avaliações, pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)]

Quanto ao sexo dos adultos de *D. citri* recuperados em plantas expostas por 15 e 20 dias às duas concentrações salinas, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($F = 1,5978$, $gl = 19$, $p = 0,2379$) para a atratividade dos machos, o que demonstra que os machos são atraídos pela planta independentemente delas estarem estressadas ou não.

Por outro lado, houve efeito significativo dos tratamentos ($F = 7,4035$, $gl = 19$, $p = 0,0236$) sobre a atratividade para as fêmeas, as quais foram menos atraídas pelo tratamento sob estresse (Figura 18).

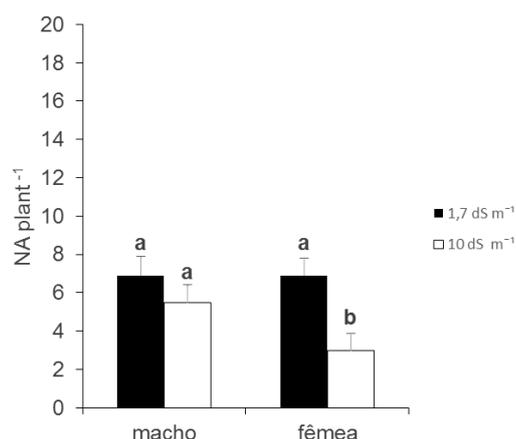


Figura 18 - Média (\pm epm) de machos e fêmeas de *Diaphorina citri* para plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse ($1,7 \text{ dS m}^{-1}$) e sob estresse salino (10 dS m^{-1}) por 15 e 20 dias.

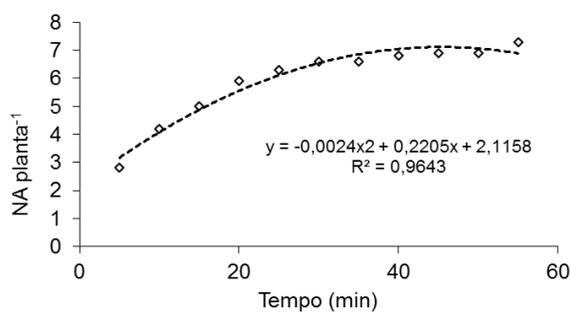
[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)]

4.2.2 Ensaio de livre escolha em laboratório (60 dias após exposição à salinidade)

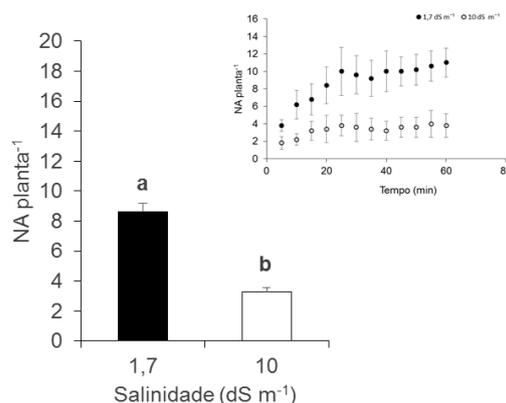
Para as avaliações realizadas no intervalo de 5 a 55 minutos, não ocorreu efeito significativo da interação entre os fatores (tratamento e tempo) ($F = 0,797$, $gl = 109$, $p = 0,6316$). Entretanto, registrou-se diferença para os efeitos simples, tanto para tratamento ($F = 105,531$, $gl = 109$, $p < 0,0001$), como para o tempo de avaliação ($F = 2,562$, $gl = 109$, $p = 0,0094$). As plantas sob estresse salino, apresentaram menor atratividade para *D. citri*. Esse resultado mostra como o *D. citri* se comporta, ao longo da primeira hora de contato com os tratamentos, apesar de não explicar sozinho a real escolha do inseto, por ser um período curto de tempo, ele mostra no entanto, que a tendência de escolha de *D. citri* é de não atratividade para as plantas sob estresse (Figura 19 a, 19 b).

As avaliações realizadas para o período subsequente até o final do experimento (1 hora a 42 horas após a liberação dos insetos) evidenciam que não ocorreu efeito significativo da interação ($F = 0,735$, $gl = 39$, $p = 0,5402$) para os fatores (tratamento e tempo de avaliação) assim como para o efeito simples do tempo de avaliação ($F = 0,857$, $gl = 39$, $p = 0,4750$). Observou-se efeito significativo do tratamento ($F = 33,236$, $gl = 39$, $p < 0,0001$), sendo que os insetos apresentaram comportamento anteriormente relatado de não-preferência pelas plantas estressadas (Figura 19 c).

(a) Regressão para o número de insetos (NA planta⁻¹) no tempo (5 à 55 minutos)



(b) Número de insetos adultos, (NA planta⁻¹) (5 à 55 minutos) e desvio padrão dos tratamentos no tempo



(c) Total de insetos adultos (NA planta⁻¹)

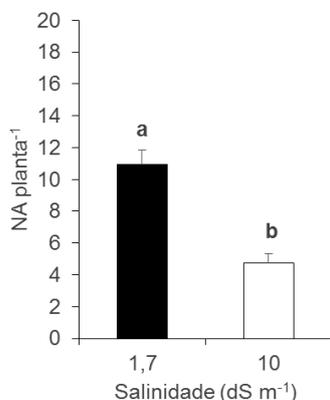


Figura 19 - Média (\pm epm) número de insetos adultos (NA) de *Diaphorina citri*, para plantas de limoeiro 'Cravo', sem estresse salino (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) **(a)** Regressão para o número de insetos (NA planta⁻¹) no tempo (5 à 55 minutos); **(b)** Número de insetos adultos, (NA planta⁻¹) (5 à 55 minutos) e desvio padrão dos tratamentos no tempo **(c)** Total de insetos adultos (NA planta⁻¹)

[epm = erro padrão da média; médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)]

4.3 Experimento II. Preferência para oviposição de *Diaphorina citri* em plantas de citros mantidas a níveis contrastantes de salinidade

Para o ensaio realizado em casa de vegetação verificou-se efeito significativo dos tratamentos sobre o número de ovos ($F = 55$, $gl = 9$, $p = 0,001953$) e de ninfas ($F = 55$, $gl = 9$, $p = 0,0059$) (Figura 20 a, c).

Também foram obtidos efeitos dos tratamentos sobre o número de ovos ($F = 136$, $gl = 9$, $p = 0,0005$) e sobre o número de ninfas ($F = 120$, $gl = 9$, $p = 0,0008$) para o ensaio realizado em laboratório (Figura 20 b, d).

As menores médias para o número de ovos e de ninfas foram obtidas para as plantas do tratamento estressado, tanto para o teste em casa de vegetação, como para o teste em laboratório.

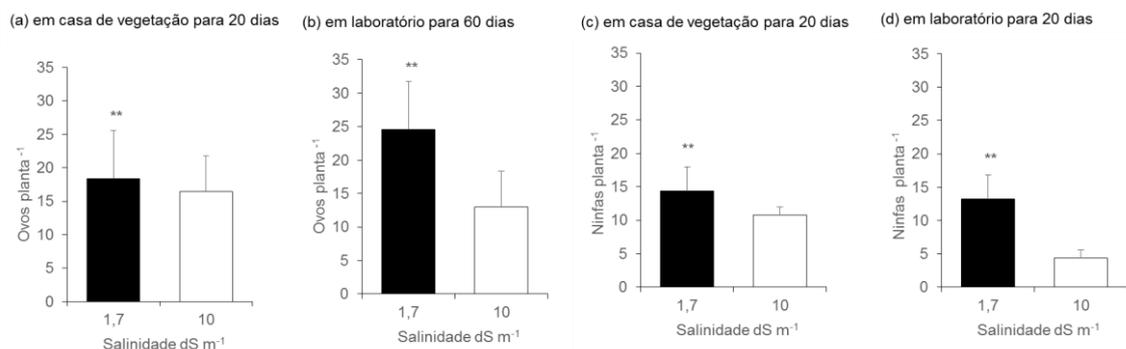


Figura 20 - Média (\pm epm) do número de ovos, para plantas de limoeiro ‘Cravo’, sem estresse salino (1,7 dS m⁻¹) e sob estresse salino (10 dS m⁻¹) **(a)** em casa de vegetação para 20 dias **(b)** em laboratório para 60 dias; Médias (\pm epm) do número de ninfas de *Diaphorina citri* por planta **(c)** em casa de vegetação para 20 dias, **(d)** em laboratório para 20 dias [epm = erro padrão da média; Asterisco (**) significa diferença estatística significativa ($p < 0.05$, teste de Wilcoxon)].

4.4 Experimento III. Atratividade de *Diaphorina citri* a voláteis de plantas de citros mantidas a níveis contrastantes de salinidade

No ensaio com insetos virgens, não houve diferença significativa ($t = 0,64904$, $gl = 19$, $p = 0,738$) para o tempo de residência e também para o número de entradas por tratamento ($t = -0,20346$, $gl = 19$, $p = 0,4205$) (Figura 21 a, 21 b)

Resultado similar foi encontrado no ensaio com insetos sem “status” de acasalamento, visto que as médias dos tratamentos para o tempo de residência ($t = 0,91344$, $gl = 19$, $p = 0,8138$) e para número de entradas por tratamento ($t = -1,0966$, $gl = 19$, $p = 0,1433$) não diferiram estatisticamente (Figura 21 c, 21 d).

Desta forma, os resultados evidenciam que insetos virgens e insetos sem “status” de acasalamento, entraram e permaneceram o mesmo período de tempo, em braços contendo os voláteis de ambos os tratamentos.

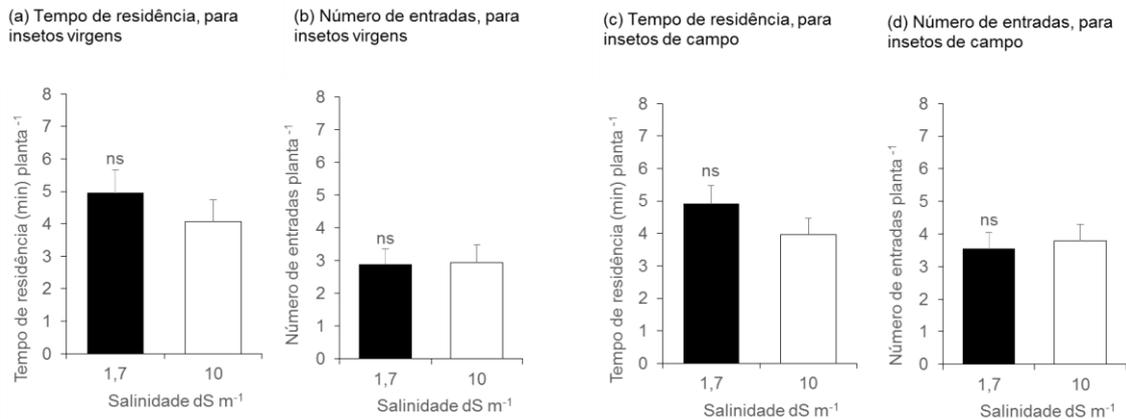


Figura 21 - Média (\pm epm) do tempo de residência e número de entradas de fêmeas de *Diaphorina citri* em resposta a substâncias voláteis de plantas de limão 'Cravo' sem estresse (1.7 dSm⁻¹) e plantas expostas a estresse salino (10 dSm⁻¹) por 60 dias **(a)** Tempo de residência **(b)** e número de entradas, para insetos virgens, 4-7 dias de idade após emergência; **(c)** tempo de residência **(d)** número de entradas para insetos de "campo" (sem idade e *status* de acasalamento determinado).

[epm = erro padrão da média; Asterisco (**) significa diferença estatística significativa ($p < 0.05$, teste t)].

O comportamento de primeira escolha mostrou que 40% dos insetos virgens preferiram as plantas do tratamento estressado, e 60% dos insetos o tratamento controle. Insetos sem "status" de acasalamento, apresentaram maior preferência para o tratamento controle (55%) e menor para o tratamento estressado (45%) (Figura 22).

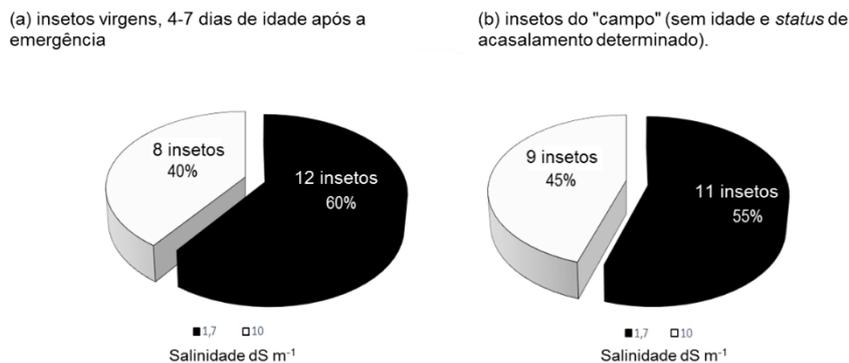


Figura 22 – Números e respectivas percentagens de acordo com a primeira escolha das fêmeas *Diaphorina citri* em resposta a voláteis de plantas de limão 'Cravo' sem estresse (1,7 dSm⁻¹) e plantas expostas a estresse salino (10 dSm⁻¹) por 60 dias. **(a)** insetos virgens, 4-7 dias de idade após a emergência; **(b)** insetos do "campo" (sem idade e *status* de acasalamento determinado).

5 DISCUSSÕES

As plantas cítricas submetidas ao tratamento de salinidade já apresentaram diferentes respostas fisiológicas 15 dias após a imposição do estresse salino (Figura 10), o que permitiu a condução dos experimentos, uma vez que as plantas mantidas a 10 dS m⁻¹ responderam como plantas estressadas.

Na literatura existem muitos estudos científicos envolvendo salinidade e citros (Syvertsen e Kriedemann, 1987; Bañuls et al., 1997; Levy et al., 1999; Allario et al., 2008; Brumós et al., 2009; Syvertsen e Melgar, 2010; Syvestsen e Garcia-Sanchez, 2014). A influência da salinidade nas trocas gasosas (Figura 10) corroborou esses estudos. A redução da condutância estomática seguida de baixa difusão de CO₂ e fotossíntese líquida tem sido citada como efeitos primários da salinidade (Hussain et al., 2012), afetando negativamente o crescimento da planta.

A toxicidade dos íons (Cl⁻ e/ou Na⁺) acumulados nos tecidos vegetais está bastante associado ao estresse salino em citros, mais do que o estresse osmótico (Bañuls e Primo-Millo, 1992; Melgar et al., 2008). Para Perez-Perez et al. (2007), o auto acúmulo de folha Cl⁻ e Na⁺ reduz o potencial osmótico foliar, permitindo que as folhas de citros reduzam o potencial de água na folha, sem alterar o seu potencial de turgor e desta forma evitando a desidratação das folhas.

As plantas expostas ao estresse salino por 60 dias apresentaram maior carbono interno (ci) (Figura 10 c). Machado et. al. (2005) sugerem que o aumento da concentração interna de carbono é cocomitante a ocorrência de baixo potencial hídrico foliar. Esse resultado pode indicar uma limitação não estomática devido, dentre outras causas, a danos em aparelhos fotossintéticos que afetam a eficiência de carboxilação (Everard et al., 1994).

Plantas com 15 dias de exposição ao estresse salino apresentaram maior eficiência do uso da água (EUA), e aos 60 dias houve redução de EUA (Figura 10 d). Para Taiz e Zager (2009), um menor consumo de água influi em menor absorção de íons tóxicos, pela capacidade de exclusão desses íons, pelo sistema radicular. A diminuição da EUA indica que as atividades fisiológicas

podem ter sofrido danos decorrentes do estresse salino (Silva et al., 2014). Tais resultados corroboram com Cruz et al. (2003), os quais verificaram que plantas de limoeiro 'Cravo' sob estresse salino diminuem a água transpirada, por tenderem a fechar seus estômatos, contribuindo assim para reduzir a absorção e transporte de Na^+ e Cl^- no interior da planta.

A temperatura foliar foi maior para as plantas que estavam sob estresse salino devido possivelmente ao maior controle estomático nessas plantas (Figura 10). Esses resultados estão de acordo com Cruz et al. (2003) que constataram ao avaliarem quatro concentrações de NaCl (0, 20, 40 e 80 mM), durante 42 dias, em plantas de limoeiro 'Cravo'.

No tratamento sob estresse, a maior temperatura foliar e o menor valor de gs (Figura 10) resultam do decréscimo demonstram que, ao ocorrer o fechamento estomático e decréscimo de E, ocorre aumento na temperatura foliar, como resultado do decréscimo da troca de calor latente pela superfície da folha (Tanner, 1960).

As respostas fisiológicas apresentadas pelas plantas de limoeiro 'Cravo' asseguraram o controle das condições de estresse às quais os insetos foram expostos, garantindo que as alterações fisiológicas pudessem afetar o comportamento de *D. citri*. Corroborando com Eichele-Nelson et. al.; (2017), ao estudarem como a salinidade do solo afeta o ácaro de teia (*Tetranychus urticae* Koch) ao se alimentarem de plantas de milho (*Zea mays* L.) e de soja (*Glycine max* L.), que constataram um efeito como a salinidade pode influenciar diretamente as culturas e indiretamente os herbívoros, neste caso, a salinidade demonstrou um efeito positivo para os ácaros.

As respostas comportamentais de *D. citri* mostram que, nitidamente, ocorreu não-preferência pelas plantas do tratamento estressado (Figura 12, 15 e 19). Essa menor atratividade do inseto pelas plantas sob estresse salino demonstra que a salinidade influenciou o comportamento de seleção hospedeira de *D. citri*. Resultados semelhantes foram observados por Aucejo-Romero; Gómez-Cadenas e Jacas-Miret (2004) ao investigarem o efeito da salinidade em plantas de tangerinas e sua influência no crescimento populacional de *T. urticae*, observaram que as altas concentrações de sal diminuiram a população de *T. urticae*.

Considerando o período de avaliações no experimento 1, é razoável afirmar que um período de 24 h seria suficiente para determinar a preferência do hospedeiro em relação às plantas estressadas e não estressadas. As respostas só se tornaram mais intensas ao longo do tempo, mas não mudaram.

Como a maioria dos adultos de *D. citri* estavam pousados nas folhas em um ângulo de cerca de 40° (Tsai e Liu, 2000), assumiu-se que eles estavam se alimentando do substrato (Ammar et al., 2013). Portanto, uma não preferência para alimentação e/ou abrigo pode estar associada às plantas estressadas, que denota a ocorrência de um mecanismo de antixenose.

As respostas de machos e fêmeas foram diferentes entre tratamentos. As fêmeas apresentam melhor resposta aos estímulos, sendo menos atraídas pelas plantas sob estresse salino (Figura 18). Deste modo, a escolha das fêmeas está associada às plantas que possuem as melhores condições como hospedeiras, enquanto os machos são indiferentes, sendo atraídos pelo feromônio liberado pelas fêmeas (Wenninger e Hall, 2007; Gharaei et al., 2014; Stockton et al., 2016). Semelhantemente Horton e Landolt (2007), ao testarem a atração de machos de *Cacopsylla pyricola* (Förster) (Homoptera: Psyllidae), por pêra demonstraram que os machos são motivados devido aos efeitos da infestação por fêmeas.

As respostas de fêmeas e machos observadas no presente trabalho corroboram com o estudo de Stockton et al. (2016), visto que esses autores constataram que as fêmeas foram capazes de discernir estímulos, quando apresentados em conjunto e apresentados individualmente, bem como, preferir o estímulo olfativo em detrimento do visual, enquanto os machos foram indiferentes.

Em relação à superfície da folha, a maioria dos insetos preferiu a superfície abaxial, corroborando Tsai e Liu (2000) e Yang et al. (2013) (Figura 13 a, 16 a) de plantas controle. Assim, foi possível discriminar o efeito dos tratamentos com base apenas no número de insetos encontrados na superfície abaxial das folhas de plantas expostas à salinidade por 15 dias e 20 dias.

Alguns estudos, porém, determinaram que a superfície adaxial é preferida sobre a superfície abaxial para a alimentação de adultos de *D. citri* em laranja doce *C. sinensis* (Ammar et al., 2013; George et al., 2017). Apesar de outros fatores, como a temperatura da lâmina, a incidência de luz também

desempenhar um papel na seleção do hospedeiro, aparentemente a preferência pela superfície abaxial ou adaxial depende das características anatômicas da folha, que variam de acordo com o genótipo. Assim, a alimentação na superfície abaxial foi mais frequente do que na adaxial para a murta (*Murraya exotica* L.), a laranja trifoliada (*C. trifoliata* L.), o limão [*C. limon* (L.) Osbeck] e o wampi [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels]. Por outro lado, a alimentação na superfície adaxial prevaleceu em laranja azeda (*C. aurantium* L.) (Yang et al., 2013).

A preferência de insetos também foi maior para plantas do tratamento controle, quando *D. citri* ocorreu na parte basal e apical da planta, em ambos os ensaios [15 dias (Figura 14 a, 14 c) e 20 dias (Figura 17 a, 17 c)] após exposição à salinidade.

O maior número de adultos de *D. citri* na parte apical da planta é explicado pelo comportamento de alimentação e oviposição de *D. citri* e está diretamente relacionado à presença de brotos jovens, corroborando com os estudos realizados por Tsai et al. (2002), Yang et al. (2006), Patt e Sétamou (2010), Zhao et al. (2013), Sétamou e Bartels (2015). Sétamou et al. (2017) evidenciaram a preferência dos insetos por folhas e brotações jovens, por estas oferecerem menor resistência à penetração, visto que o tecido é menos lignificado do que em folhas maduras, e também devido à melhor qualidade nutricional encontradas em folhas e brotações jovens.

Esses resultados associados à distribuição de insetos na planta também podem estar associados ao comportamento de oviposição, uma vez que houve maior número de adultos em plantas controle, em condições de livre escolha e na parte apical da planta, local preferido para a colocação de ovos nessa espécie (Tsai e Liu, 2000, Ammar et al., 2013). Essa hipótese é confirmada nos ensaios realizados sem chance de escolha, visto que mais ovos e ninfas foram observados também para as plantas não estressadas (Figura 20). Uma vez que, o número de adultos introduzidos foi similar para ambas as condições, pode-se inferir que ocorre efeito antixenótico para oviposição de *D. citri* exercido por plantas estressadas.

Os resultados para atratividade de acordo com sexo, para os quais as fêmeas foram mais sensíveis aos tratamentos e foram capazes de discernir entre plantas controle e sob estresse (Figura 18), também corroboram a preferência dos insetos para oviposição nas plantas não estressadas (figura 20).

A oviposição em plantas não estressadas, em condições de laboratório e casa de vegetação (Figura 20 a e 20 c), foi maior do que a verificada para as plantas estressadas (Figura 20 a e 20 c), confirmando os resultados discutidos por Wang et al. (2015). Os autores estudaram o efeito do estresse salino (50, 100, 150, 200 mM) na produção de metabólitos secundários em plantas de algodão, e como isso poderia afetar o comportamento de *Acththosiphon gossypii*, discernindo que, a oviposição era maior em plantas não estressadas do que em estressadas.

Como consequência da taxa reduzida de oviposição, observou-se menor número de ninfas em plantas estressadas, para condições de laboratório (Figura 20 b) e casa de vegetação (Figura 20 d). A viabilidade do ovo, foi maior para plantas controle (65,85% em casa de vegetação e 78,26%, em condições de laboratório) e menor para plantas estressadas (19,47% em casa de vegetação e 53,66% em condições de laboratório). Aparentemente, não houve diferença para as plantas do tratamento controle.

Conforme informado anteriormente, observou-se uma alta mortalidade ninfal. Como isso também ocorreu para plantas de controle, não se pode associar esse fato à qualidade do alimento e, portanto, com um efeito antibiótico. Em vez disso supõe-se que deva estar relacionado ao estágio de desenvolvimento das brotações. Cifuentes-Arenas et al. (2018) afirmaram que a sobrevivência ninfal é afetada pelo estágio de desenvolvimento das brotações, verificando, ao dividir uma planta de citros (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.), em cinco estágios: emergência (V1), desenvolvimento (V2 e V3), maturação (V4 e V5), e dormência (V6), que o estágio V5 ("folhas totalmente expandidas, cor amarelo-verde claro, endurecimento gradual de cima para baixo, e clorose e/ou abscisão da ponta da brotação"), não era adequado para o desenvolvimento de ninfas.

As respostas de *D. citri* aos voláteis não diferiu entre plantas controle e plantas estressadas (Figura 21), apesar de diferirem nos experimentos de livre escolha e oviposição, inferi-se com isso, que o comportamento de seleção da planta hospedeira é uma resposta a sinais químicos, em conjunto com os estímulos visuais, corroborando Weninger e Hall (2007); Patt e Sétamou (2010); Stockton et al. (2016); Sule et al. (2012).

Outro ponto importante que explica os resultados obtidos para os ensaios de olfatométria (Figura 21) são elucidados por Ballhorn e Kautz (2013) os quais compararam experimento de olfatômetro e de livre escolha para alimentação, na resposta comportamental de insetos, como os besouros. Eles demonstraram que a escolha real dos insetos dependia de pistas defensivas de curta distância, que não se correlacionavam com os sinais voláteis emitidos pelas plantas, concluindo assim, que as decisões olfativas não refletem a escolha real da alimentação.

Portanto, como detectou-se uma não-preferência para alimentação e/ou abrigo (teste de livre escolha) e para oviposição (teste de não escolha) (Figura 12, 16, 19, 20), e uma resposta não significativa aos voláteis de ambos os tratamentos quando avaliados o tempo de residência e o número de entradas (Fig. 21), a seleção de *D. citri* para hospedeiro, pode ser associada mais a estímulos visuais do que aos químicos, corroborando Wenninger; Stelinski e Hall (2009); Segundo esses autores, as escolhas de *D. citri* são aumentadas por estímulos visuais e, por isso, um componente importante desse comportamento é a cor dos brotos jovens.

A alimentação e a oviposição dos herbívoros podem induzir a defesa da planta, incluindo a emissão de voláteis induzidos por herbívoros (HIPVs), que foram propostos como foco novo para resistência à praga e biocontrole (Stenberg et al., 2015; Hijaz et al., 2013; Lin et al., 2016; Martini et al., 2017). Não avaliamos o efeito dos voláteis da planta induzidos por alimentação e/ou oviposição (HIPVs) combinados com o estresse salino, porém, como discutido por Stenberg et al. (2015), uma vez que avaliamos o número de adultos em diferentes períodos de avaliação e, portanto, os insetos permaneceram dentro da gaiola para todo o período (42 a 48 h), é razoável pensar sobre o efeito da alimentação de insetos ou oviposição no perfil de voláteis emitido pelas plantas (HIPV).

5 CONCLUSÕES

Diaphorina citri apresenta menor atratividade pelas plantas do tratamento sob estresse salino (10 dS m⁻¹);

As plantas não estressadas são preferidas por *D. citri* para oviposição;

Seleção da planta hospedeira não é feita com base nos voláteis das plantas estressadas e não estressadas;

REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, U.; BOWMAN, K.D. Tolerance of trifoliolate citrus rootstock hybrids to *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Scientia Horticulturae**. v.147, p.71– 80. Amsterdam, 2012.
- ACHUO, E. A.; PRINSEN. E.; HOFTE, M. Influence of drought, salt stress and abscisic acid on the resistance of tomato to *Botrytis cinérea* and *Oidium neolycopersici*. **Plant Pathology**. p. 178–186. v. 55. 2006.
- AL-YASSIN, A. Adverse effects of salinity on citrus. **International Journal of Agriculture e Biology**, v.7, n.4, p.668-680, 2005.
- AMMAR E-D, RICHARDSON ML, ABDO Z, HALL DG, SHATTERS RG JR. Differences in stylet sheath occurrence and the fibrous ring (Sclerenchyma) between xCitroncirus plants relatively resistant or susceptible to adults of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). 2014; **PLoS ONE** 9(10): e110919.
- ATKINSON, N. J.; URWIN, P. E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of experimental botany**, v.63, n.10, p.3523-3543, 2012.
- 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.
- Aucejo-Romero, S., Gomez-Cadenas, A., Jacas-Miret, J.A., Effects of NaCl-stressed citrus plants on life-history parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology** 33, 55-67. 2004.
- AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. Tradução: GHEVI, HR; MEDEIROS, JF; DAMASCENO, SAV. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande: UFPB, 1991.
- BADU-APRAKU, B.; YALLOU C. G. Registration of striga-resistant and drought-tolerant tropical early maize populations TZE-W Pop DT STR C(4) and TZE-Y Pop DT STR C(4). **Journal of Plant Registrations**. p. 86–90. v. 3. 2009.
- BALLHORN, D. J.; KAUTZ, S, Stefanie. How useful are olfactometer experiments in chemical ecology research?. **Communicative & integrative biology**, v.6, n.4, p. e55602, 2013.
- BAIA, A. D. B. **Multiplicação de *Diaphorina citri* e de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em híbridos de citros indicados como porta-enxerto**. Dissertação (mestrado)- Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2015.
- BAÑULS, J.; LEGAZ, F.; PRIMO–MILLO, E. Effect of salinity on uptake and distribution of chloride and sodium in some citrus scion– rootstock combinations. **Journal of Horticultural Science**, [S.L.], v. 65, p. 715-724, 1990.

- BAÑULS, J.; PRIMO-MILLO, E. Effect of chloride and sodium on gas exchange parameters and water of Citrus plants. **Physiologia Plantarum**. v. 86, p. 115-123, 1992.
- BANZIGER, M.; SETIMELA, P. S.; HODSON, D.; VIVEK, B. Breeding for improved abiotic stress tolerance in maize adapted to southern Africa. **Agricultural Water Management**. p. 212–224. v. 80. 2006.
- BASSANEZI, R.B., MONTESINO L.H., STUCHI, E.S. Effects of Huanglongbing on fruit quality of sweet Orange cultivars in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**. Dordrecht 125:565–572. 2009.
- BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A.; BELASQUE Jr.; J.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A. Epidemiologia do Huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Tecnology**, Cordeirópolis, v.31, n.1, p 11-23, 2010.
- BASSANEZI, R.B., MONTESINO, L.H., GIMENES-FERNANDES, N., YAMAMOTO, P.T., GOTTWALD, T.R., AMORIN, L, BERGAMIM-FILHO. 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.Jun. 2013.
- BASTOS, D.C.; FERREIRA, E., PASSOS, O. S.; ATAÍDE, E. M.; CALGARO, M. **Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira**. Informe Agropecuário. v.35. n. 281. p.36-45. Belo Horizonte. 2014.
- BLAKER, N. S.; MACDONALD, J. D. The role of salinity in the development of Phytophthora root rot of citrus. **Phytopathology**, v. 76, n. 10, p. 970-975, 1986.
- BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. **Manual de irrigação**. 8º. Ed. Editora UFV, Viçosa-MG, 2006.
- BEHBOUDIAN, M. H.; TOROKFALVY, E.; WALKER, R. R. Effects of salinity on ionic content, water relations and gas Exchange parameters in some citrus scion-rootstock combinations. **Scientia Horticulturae**. n. 28. p. 101-116. 1986.
- BELASQUE JÚNIOR, R., J., YAMAMOTO, P.T., MIRANDA, M.P., BASSANEZI, R.B., AYRES, A.J., BOVÉ, J.M. Controle do Huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Tecnology**. Cordeirópolis. v. 31. n. 1. p. 53-64. 2010.
- BERNARDO, B. Anuário brasileiro de citros. Citrus Brazilian Yearbook. **Editora Gazeta**. p. 64. 2016.
- BONANI, J. P. **Caracterização do aparelho bucal e comportamento alimentar de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal Plant Pathology**. p. 7-37. n. 1. v. 88. 2006.

BOWLER, C. AND FLUHR, R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends PlantSci.** v. 5. p. 241–246. 2000.

BOYER, J. S. Plant productivity and the environment. **Science.** p. 443–448. v. 218. 1982.

BRITO, M. E. B.; FERNANDES P. D.; GHEYI, H. R.; MELO, A. S. DE.; CARDOSO, J. A. F.; SOARES FILHO, W. DOS S. Sensibilidade de variedades e híbridos de citrange à salinidade na formação de porta-enxertos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** Recife, v.3, n.4, p.343-353, 2008.

BRITO, M. E. B. **Tolerância de Porta-Enxertos de Citros à Salinidade.** 107f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

BRITO, P. F. **A citricultura paulista.** Defesa Agropecuária. Estado de São Paulo, Barretos, 2017.

CARLOS, E.F., STUCHI, E.S., DONADIO, L.C. **Porta enxertos para a citricultura paulista.** 47p. Boletim citrícola. n. 1. Jaboticabal: Funep, 1997.

CATLING, H. D. Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease, with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 18, n. 1, p. 8-15, 1970.

COELHO, E. F.; COELHO FILHO, M. A.; MAGALHÃES, A. F. DE J.; OLIVEIRA, A. S. DE. **Irrigação e fertirrigação na cultura dos citros.** In: Sousa, V. F. de; Marouelli, W. A.; Coelho, E. F.; Pinto, J. M.; Coelho Filho, M. A. Irrigação e fertirrigação em fruteiras e hortaliças. 771. p. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF. 2011.

COELHO, E. F.; COELHO FILHO, M. A.; SIMÕES, W. L.; COELHO, Y. S. **Irrigação em citros nas condições do nordeste do Brasil.** Artigo Técnico, LARANJA, Cordeirópolis, v.27, n.2, p297-320, 2006

COLETTA FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; NEGRI, J. D. DE; POMPEU JUNIOR, J.; MACHADO, M. A. first report of the casual agente of Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter Asiaticus*) in brasil. **plant disease, davis v. 88, p. 1382, 2004.**

CORDEIRO, G. G. **Salinidade em agricultura irrigada (conceitos básicos e práticos).** Embrapa Semiárido – (Documentos, 180). Embrapa Semi-árido. ed. 1. p. 38. Petrolina –PE. 2001.

COSGROVE, D.J. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake and hydraulic conductance. *International Journal of Plant Science*, v. 154, p. 10-21, 1993.

COSTA LIMA, A. M. **Insetos do Brasil: Homopteros.** Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 3:1-327, 1942.

CRUZ, J. L.; PELACANI, C. R.; SOARES FILHO, W. dos S.; CASTRO NETO, M. T.; COELHO, E. F.; DIAS, A. T.; PAES, R. A. Produção e partição de matéria seca e abertura estomática do limoeiro 'cravo' submetido a estresse salino. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 25, n. 3, p. 528-531, 2003.

CRUZ, W.B.; MELO, F.A.C.F. Estudos geoquímicos preliminares das águas subterrâneas do Nordeste do Brasil. 128 p. il. Série Hidrogeologia 19. Brasil, SUDENE, 1974.

DA GRAÇA, J. V. Citrus Greening Disease. Annu. **Rev. Phytopathol.** 29:109–136, 1991.

DECHEN, A. R.; CAMARGO, P. R.; NACHTIGALL, G. R. Pragas e doenças em citros: fisiologia e nutrição mineral. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 2, p. 100-107, 2004.

Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – USDA. Brazil: Citrus Semi-annual. 2017.

DIAS, N. da S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. de (Ed). **Manejo da salinidade na agricultura: estudo básicos e aplicados**. P. 129-141. Fortaleza: INCTSal, 2010.

DORING, T. F.; L. CHITTKA. Visual Ecology of Aphids, A Critical Review on the Role of Colours in Host Finding. **Arthropod-Plant Interactions**. p. 3-16. v.1. 2007.

EICHELE-NELSON, J. L., WICK, A. F., DESUTTER, T. M., HARMON, J. P. The Effects of Salinity on the Herbivorous Crop Pest *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) on Soybean and Corn. **Environmental entomology**, v. 46, n. 4, p. 839-846, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997.212p.

ENGLISHLOEB G, STOUT MJ, DUFFEY SS. Drought stress in tomatoes: changes in plant chemistry and potential nonlinear consequences for insect herbivores. *Oikos*. v. 79. p. 456–468. 1997.

ESTEVEZ, B.S.; SUZUKI, M.S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Australis**, v.12, n.4, p.662-679, 2008.

EVERARD, J. D.; GUCCI, R.; KANN, S. C.; FLORE, J. A.; LOESCHER, W. H. Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium graveolens* L.) at various levels of root zone salinity. **Plant Physiology**, v. 106, p. 281-292, 1994

FANCELLI, M.; SOUSA, M. R.; SILVA, T. S. M. DA. GIRARDI, E. A.; LAUMANN, R. A.; COELHO FILHO, M. A. SOLF – System for data acquisition in olfactometry bioassays. **Citrus R&T**. v. 38. n. 1. p. 95-98, 2017

FEICHTENBERGER, E.; BASSANEZI, R. B.; SPÓSIO, M. B. BELASQUES JR., J. Doenças dos Citros. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia**. doenças das plantas cultivadas. v. 2. ed. 4. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo – SP, 2005.

FERNANDES, D.; P., BRITO, M. E. B.; GHEYI, H. R.; SOARES FILHO, W. DOS S.; MELO, A. S. DE; CARNEIRO, P. TORRES. Crescimento de híbridos e variedades porta-enxerto de citros sob salinidade. **Acta Scientiarum Agronomy**. v. 33. n. 2. 2011.

FERNANDES, N. G. Combate ao greening em citros necessita de legislação específica. **Visão Agrícola**, v.1, n.2, p. 40-42, 2004.

FIGUEIREDO, L. C. DE; SÁ, F., BRITO, M.; SILVA, L.; MOREIRA, R.; FERNANDES, P. Alterações fisiológicas de variedades de porta-enxertos de citros sob salinidade em cultivado hidropônico. In: **II inovagri international meeting**. Fortaleza, Brasil, 2014.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental botany**, v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.

FLOWERS, T. J.; FLOWERS, S. A. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders?. **Agricultural water management**, v. 78, n. 1, p. 15-24, 2005.

FLOWERS, T. J.; TROKE, P. F.; YEO, A. R. The mechanism of salt tolerance in halophytes. **Annual review of plant physiology**, v. 28, n. 1, p. 89-121, 1977.

FNP Consultória e comércio. Citros laranja. In: Agriannual 2014: **anúário da agricultura brasileira**. São Paulo: Informa Economics FNP, p. 237 – 296. 2014.

FREIRE, M.B.G.S.; RUIZ, H.A.; RIBEIRO, M.R.; FERREIRA, P.A.; ALVAREZ, V.H.; FREIRE, F.J. Estimativa do risco de sodificação de solos de Pernambuco pelo uso de águas salinas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 227-232, 2003.

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). Citricultor: os 10 mandamentos do HLB. **Fundecitrus**. ano VII. n. 28. 2015.

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Doenças e pragas – Diaphorina citri**. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/doencas/diaphorina-citri/24>> Acesso em 08 de abr. 2017a.

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Pior praga da citricultura, greening é ameaça à produção de laranja brasileira**. Comunicação. Fundecitrus. set. 2017b. Disponível em: <

<http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/pior-praga-da-citricultura-greening-e-ameaca-a-producao-de-laranja-brasileira/590>> acesso em: 08 de novembro de 2017.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. p. 920. Piracicaba: Fealq, 2002.

GARCÍA, Y.; RAMOS, P.; YANETH, SOTELO, P.A.; TAKUMASA, K. Biología de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) bajo condiciones de invernadero en Palmira, Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 42, n. 1, p. 36-42, 2016.

GARNIER, M.; DANIEL, N.; BOVÉ, J. M. the greening organismo is a gram negative bacterium. In: conference of the international organization of citrus virologists. **Riverside. Proceedings...** Riverside: IOCV, 198. p. 115-124. 12, 1984.

GEORGE, J.; AMMAR, E. D.; HALL, D. G.; LAPOINTE S. L. Sclerenchymatous ring as a barrier to phloem feeding by Asian citrus psyllid: Evidence from electrical penetration graph and visualization of stylet pathways. **PLOS ONE**. v. 12. n. 3: 2017.

GEORGE, E.; HORST, W. J.; NEUMANN, E. Adaptation of plants to adverse chemical soil conditions. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)**. p. 409-472. 2012.

GIMENES-FERNANDES, N.; BASSANEZI, R. B. Doença de causa desconhecida afeta pomares cítricos no norte de São Paulo e sul do Triângulo Mineiro. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, n. 27, p.93, 2001.

GNADLINGER J. **Tecnologias de captação e manejo de água de chuva em regiões semiáridas**. In: KUSTER, A.; MELCHERS, I.; MARTI, J. F. Tecnologias apropriadas para terras secas - manejo sustentável de recursos hídricos naturais em regiões semiáridas no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Fundação Konrad Adenauer, GTZ. 212 . p. 2006.

GOLLDACK, D.; LÜKING, I.; YANG, O. Plant tolerance to drought and salinity: stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network. **Plant cell reports**, v. 30, n. 8, p. 1383-1391, 2011.

GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. **Plant Physiologic**. 1980.

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

HORTON, D. R.; LANDOLT, P. J. Attraction of male pear psylla, *Cacopsylla pyricola*, to female-infested pear shoots. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 123, n. 2, p. 177-183, 2007.

HUSSAIN, S.; LURO, F.; COSTANTINO, G.; OLLITRAULT, P.; MORILLON, R. Physiological analysis of salt stress behavior of citrus species and genera: Low chloride accumulation as an indicator of salt tolerance. **South African Journal of Botany**, v.81, p.103- 112, 2012.

INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal**. IBGE. 2012

INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores de produção agrícola**. IBGE. 2017

IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. R. A language for data analysis and graphics. **Journal of computational and graphical statistics**. v. 5, n. 3, p. 299-314, 1996.

IKEDA, K.; ASHIHARA, W. Preference of adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) for *Murraya paniculata* and *Citrus unshiu*. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology (Japan)**, 2008.

JESUS JÚNIOR, W. C.; MORANDI, M. A. B.; CHRISTIANO, R. S. C.; YAMAMOTO, P. T. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as principais doenças de citros no estado de São Paulo. In: GHINI, R.; HAMADA, E. **Mudanças Climáticas: Impactos sobre Doenças de Plantas no Brasil**. cap. 14. p. 235-256. Embrapa Meio Ambiente. Brasília, Brasil. 2008.

KHADRI, M.; TEJERA, N. A.; LLUCH, C. Sodium chloride-ABA interaction in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars differing in salinity tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v.60, p.211-218, 2006.

KIRKPATRICK J. D.; BITTERS W. P. physiological and morphological responses of various citrus rootstocks to salinity. **proceedings of the first international citrus symposium**. n. 1. p. 381-389. 1969

KOVDA, D.A. Irrigation, drainage and salinity: An international sourcebook. **Paris: Fao/ Unesco**. p.177- 205. 1973

KUMAR, N., PAMIDIMARRI, S., KAUR, M., BORICHA, G. REDDY. Effects of NaCl on growth, ion accumulation, protein, proline contents and antioxidant enzymes activity in callus cultures of *Jatropha curcas*. **Biologia**, v. 63, n. 3, p. 378-382, 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos-SP. Ed. Rima Arts e Textos. 531 p. 2000.

LIMA, M. da S., GOMES, S. S.; FANCELLI, M. **Metodologia simplificada para obtenção de adultos do psílideo asiático-dos-citros, *Diaphorina citri***. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 86). 22p.

LIN, K.H. Observation on yellow shoot of citrus. Etiological study of yellow shoot of citrus. **Acta Phytopathologica Sinica**. v. 2, p. 1-42, 1956.

LLOYD A, KRIEDEMANN P. E. Aspinall a. contrast between citrus species in response to salinization: na analysis of photosynthesis and water relations for diferente rootstock-scion combinations. **Physiologia plantarum**. n. 78. p. 236 – 246. 1990.

LLOYD A.; KRIEDEMANN P. E. SYVERTSEN J. P. Salinity effects on leaf water relations and gas Exchange of 'valentia' Orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, on rootstocks with diferente salt exclusion characteristics. **Australian Journal of physiology**. n. 14. p. 605 – 617. 1987

LIU, Y. H.; TSAI, J. H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**. v. 137, n. 3, p. 201–206, dez. 2000.

LUO, X.; YEN, A.L.; POWELL, K.S.; WU, F.; WANG, Y.; ZENG, L.; YANG, Y.; CEN, Y. Feeding behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its acquisition of 'Candidatus *Liberibacter asiaticus*', on huanglongbing-infected *Citrus reticulata* leaves of several maturity stages. **Florida Entomologist**, V. 98, N. 1, p.186-192, 2015.

MAAS, E.V.; HOFFMAN, G.H. Crop salt tolerance - Current assessment. Journal of the Irrigation and Drainage Division, American Society of Civil Engineers, Reston. v.103, p.115-134, 1977.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. Pesquisa Agropecuária Brasileira. p.1161- 1170. v. 40. 2005.

MANSOUR, M. M. F. Transport proteins and salt tolerance in plants. **Plant Sci.**, v. 164. p. 891-900. 2003.

MARTINI, X.; STELINSKI, L. L. Drought stress affects response of phytopathogen vectors and their parasitoids to infection-and damage-induced plant volatile cues. **Ecological Entomology**, v. 42, n. 6, p. 721-730, 2017.

MARTINS, E. S. P. R.; BURTE, J.; VIEIRA, R. F.; REIS JUNIOR, D. S. As águas do Nordeste e o balanço hídrico. In: **A questão da água no Nordeste**. Brasília, ANA - DF: CGEE, 2012. ISBN 978-85-60755-45-5.

MARTINS, C. R.; TEODORO, A. V.; CARVALHO, H. W. L. de. **Citricultura no estado de Sergipe**. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015.

MATOS JÚNIOR, R, D. D. E; QUAGGIO, J., A.; CANTARELLA, H. **Citros**. IN: CRISÓSTOMO, L. A.; NAUMOV, A. **Aduando para Alta Produtividade e Qualidade Fruteiras Tropicais do Brasil**. Embrapa Agroindústria Tropical, p. 238. 1. ed. Fortaleza – CE, 2009.

MEAD, F. W.; FASULO, T. R. **Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**. 2014.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. de M. de A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.

MELGAR, J.C.; DUNLOP, J.M.; SYVERTSEN, J.P. Growth and physiological responses of the citrus rootstock Swingle citrumelo seedlings to partial rootzone drying and deficit irrigation. **Journal of Agricultural Science**, v.148, p.593-602, 2010.

MIRANDA, P. M.; NORONHA JUNIOR, N. C.; MARQUES, R. N. Alternativa para o manejo do vetor do greening o Brasil. In: Avanços em fitossanidade, 2011. Botucatu. UNESP/FEPAP 2011. cap. 11. p. 143-163. 2009.

MITTLER R, BLUMWALD E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology**. v. 61. p. 443–462. 2010.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in plant science**, v. 11, n. 1, p. 15-19, 2006.

GHARAEI, A. M.; ZIAADDINI, M.; JALALI, M. A.; MICHAUD, J. P. Sex-specific responses of Asian citrus psyllid to volatiles of conspecific and host-plant origin. **Journal of applied entomology**, v. 138, n. 7, p. 500-509, 2014.

MUNNS R. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. **Plant Cell and Environment**. v. 16, p. 15–24. 1993

NAKATA, T. Temperature-dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of its spread based on overwintering in the nymphal stage in temperate regions of Japan. **Applied Entomology and Zoology**. v. 41, n. 3, p. 383–387, 2006.

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

NEVES, M. F.; JANK, M. S. **Perspectivas da cadeia produtiva da laranja no Brasil: a agenda 2015**. Relatório Ícone/Markestra/Pensa, São Paulo, 2006.

NORONHA JÚNIOR, N. C. **Efeito de coespecíficos e voláteis das plantas *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Pisidium guajava* L., *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sobre o comportamento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae)**. 2010. 72 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

PAIVA P. E. B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 65p. 2009.

PARRA, J. R. P. et al. Controle biológico de pragas dos citros. In: YAMAMOTO, P. T. (Org.). **Manejo integrado de pragas dos citros**. Piracicaba: CP2, p. 35-63. 2008.

PARRA, J. R. P., LOPES, J. R. S., TORRES, M. G., NAVA, D. E.; PAIVA, P. E. B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao Huanglongbing. **Citrus Research & Technology**. v. 31. n. 1. p. 37-51. 2010.

PARRA, J. R. P.; GOMEZ TORRES, M. L.; PAIVA, P. E. B. Eficiência do parasitoide *Tamarixia radiata* para controle do Psilídeo *Diaphorina Citri* em São Paulo. **Citricultura Atual**. Cordeiropolis, v. 11. n. 61. p. 18-19. 2007.

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

PEREZ-PEREZ, J.G., SYVERTSEN, J.P., BOTIA, P., GARCIA-SANCHEZ, F. Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. **Ann. Bot.** 100, 335–345. 2007.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: MATTOS JUNIOR, D.; De NEGRI, J. D.; Pio, R. M. **Citros**. Campinas: IAC: FUNDAG. p.63-104. 2005.

POMPEU JUNIOR, J.; S. BLUMER. A introdução de germoplasma: uma contribuição ao melhoramento dos citros. **Melhoramento e biotecnologia**. LARANJA, Cordeiropolis, v.27, n.2, p341-354, 2006.

RENGEL, Z. The role of calcium in salt toxicity. **Plant, Cell & Environment**, v. 15, n. 6, p. 625-632, 1992.

REINKING, O. A. Diseases of economic plants in southern China. **Philippine Agriculturist**. Los Baños, v.8, p.109-135, 1919.

REZENDE, J.O. **Solos coesos dos tabuleiros costeiros: limitações agrícolas e manejo**. SEAGRI-SPA. Salvador. p. 117. 2002.

RIZHSKY, L.; LIANG, H. J.; SHUMAN, J.; SHULAEV, V.; DAVLETOVA, S.; MITTLER, R. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology**. v. 134, 1683–1696. 2004.

RODRIGUES, D. Workshop da Embrapa vai discutir ações para detectar e mapear a principal doença de citros no Brasil. Embrapa – (Recursos genéticos e biotecnologia). Embrapa, 2017.

ROESSINGH, P., STADLER, E. Foliar Form, Colour and Surface Characteristics Influence Oviposition Behaviour in the Cabbage Root Fly *Delia radicum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, p. 93-100. v. 57. 1990.

ROJAS, A., BARRETO, C. R., DUFNER, K. C.; RODRIGUES, M. F. Ajustes finos na seleção de sítios de oviposição por insetos galhadores em resposta à

exposição solar. **Livro do curso de campo “Ecologia da Mata Atlântica.** (2016).

ROMO, C. M.; TYLIANAKIS, J. M. Elevated temperature and drought interact to reduce parasitoid effectiveness in suppressing hosts. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e58136, 2013.

SALOMÃO, R.; FERREIRA, V. Greening causa quebra de 41% na safra de laranja dos EUA desde 2011/2012. 2016. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/Laranja/noticia/2016/01/greening-causa-quebra-de-41-na-safra-de-laranja-dos-eua-desde-20112012.html>>. Acesso em: 10 Maio. 2016

SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A.L.C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, v. 4, n. 31, p.723-733, 2001.

SECHLER, A.; SCHUENZEL E. L.; COOKE, P.; DONNUA, S.; THAVEECHAI, N.; POSTNIKOVA, E.; STONE, A. L.; SCHNEIDER, W. L.; DAMSTEEGT, V. D.; SCHAAD, N. W. Cultivation of ‘Candidatus Liberibacter asiaticus’, ‘Ca. L. africanus’ and ‘Ca. L. americanus’ Associated with Huanglongbing. **Phytopathology**, v. 99, p. 480-486, 2009.

SÉTAMOU, M.; SANCHEZ, A.; PATT, J. M.; NELSON, S. D.; JUFON, J.; LOUZADA, E. S. Diurnal Patterns off light Activit and effects of light on host finding behavior of the Asian Citrus Psllid. **Journal of Insect Behavior**. New York, v. 25. p. 264-276, 2012.

SILVA, L. A., BRITO, M. E. B., SÁ, F. D. S., MOREIRA, R. C. L., SOARES FILHO, W. D. S.; FERNANDES, P. D. Mecanismos fisiológicos de percepção do estresse salino de híbridos de porta-enxertos citros em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**. p. S1-S7. v. 18. 2014.

SIMON, J. C.; D’ALENÇON, E.; GUY, E.; JACQUIN-JOLY, E.; JAQUIERY, J.; NOUHAUD, P. PECCOUD, J.; SUGIO, A.; STREIFF, R. Genomics of adaptation to host-plants in herbivorous. **Briefings in functional genomics**. London. v. 14. p. 413-423, 2015.

SINGH, A.; SAINI, M. L.; BEHL, R. K. Screening of citrus rootstocks for salt tolerance in semi-arid climates – A review. **Tropics**, v. 13, n. 1, p. 53-66, 2003.

SOARES FILHO, W. DOS S. **Porta-enxertos de citros tolerantes à seca: ações da Embrapa Mandioca e Fruticultura**. Pesquisa. Infoteca –e. Embrapa, 2017. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1083666/1/Porta-enxertosdecitrosGCONCI113p1921.pdf>> Acesso em: 16de janeiro de 2017.

STOCKTON, D. G., MARTINI, X.; PATT, J. M.; STELINSKI, L. L. The influence of learning on host plant preference in a significant phytopathogen vector, *Diaphorina citri*. **PloS one**, v. 11, n. 3, p. e0149815. 2016.

SUASSUNA, J. A. Pequena irrigação no Nordeste: algumas preocupações. **Revista Ciência Hoje**, Vol 18, nº 104, Outubro de 1994.

SULE, H., MUHAMAD, R., OMAR, D., HEE, A. K. W. Response of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to volatiles emitted from leaves of two rutaceous plants. **Journal of Agricultural Science**, 4(6), 152. 2012.

SYVERTSEN, J.; LEVY, Y. Salinity Interactions with Other Abiotic and Biotic Stresses in Citrus. **Workshop. Holtechnology**. v. 15. n. 1. 2005.

SYVERTSEN, J. P.; GARCIA-SANCHEZ, F. Multiple abiotic stresses occurring with salinity stress in citrus. **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 128-137, 2014.

TAIZ, L., ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. **Artmed**. 379p. 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. p. 954. Porto Alegre: **ArtMed**, 2013.

TANNER, C.B. Energy balance approach to evapotranspiration from crops. **Proc. Soil Science Soc. Am**, Madison, v. 24, n. 1, p. 1-9, 1960.

TEIXEIRA, D. C.; DANET, J. L.; EVEILLARD, S.; MARTINS, E. C.; JESUS JUNIOR, W. C.; YAMAMOTO, P. T.; LOPES, S. A.; BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; SAILLARD, C.; BOVE, J. M. citrus Huanglongbing in são Paulo state, Brasil: PCR detection of the 'Candidatus' Liberibacter species associated with the disease. molecular and cellular probes, **Oxford**, v. 19, p. 173- 179, 2005.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**, v.91, n.5, p.503-527, 2003.

TOMASETO, A. F. **Capacidade de dispersão de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae)**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz. 2012.

TOMASETO, A. F. **Fatores bióticos e abióticos influenciando a mobilidade e aspectos biológicos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016.

VET, L.E.M.; LENTEREN, J. C. V.; HEYMANS, M.; MEELIS, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 8, n. 1, p.97-106, 1983.

WANG, Q., ENEJI, A. E., KONG, X., WANG, K., DONG, H. Salt stress effects on secondary metabolites of cotton in relation to gene expression responsible for aphid development. **PloS one**, v.10, e0129541. 2015.

WALKER, R. R. TOROKFALVY E. DOWTON W. J. S. photosynthetic responses of the citrus varieties rangpur lime and etrog citron to slat treatment. **Australian Journal of physiology**. n. 9. p. 783- 790. 1982.

WAQUIL, J. M. **Manejo integrado de pragas: revisão histórica e perspectivas**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO - Meio

ambiente e a nova agenda para o agronegócio de milho e sorgo. Embrapa Milho e Sorgo; Sete Lagoas, Florianópolis: Epagri, 2002.

WENNINGER, E.J., HALL, D.G. Dail Timing of Mating and age at reproductive maturity in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Flor Ento Gain**. 90, 715-722. 2007.

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

WENNINGER, E. J.; STELINSKI, L. L.; HALL, D. G. Relationships between adult abdominal color and reproductive potencial in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Annal of the entomological society of america**, Lanham, v. 102, n. 3. p. 476-483, 2009.

WESTBROOK, C. J.; HALL, D. G.; STOVER, E.; DUAN, Y. P.; LEE, R. F. Colonization of citrus and citrus-related germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **HortScience**, Alexandria, v.46, p.997-1005, 2011.

WIESE J, KRANZ T, SCHUBERT S. Induction of pathogen resistance in barley by abiotic stress. **Plant Biology**. 6, 529–536. 2004.

WU, T.; LUO, X.; XU, C.; WU, F.; QURESHI, J.A.; CEN, Y. Feeding behavior of *Diaphorina citri* and its transmission of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' to citrus. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. V. 161. n. 2. p. 104–111. 2016

YAMAGUCHI, T.; BLUMWALD, E. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. **Trends in Plant Science**. Killington, v.10, n.12, p.615-620, 2005.

YAMAMOTO, P. T.; FELLIPE M. R.; GARBIM L. F. COELHO J. H. C.; XIMENES, N. L.; MARTINS, E. C.; LEITE, A. P. R.; SOUSA, M. C.; ABRAHÃO, D. P.; BRAZ, J. D. *Diaphorina citri* kuwayama (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus liberibacter americanus*. In: **Huanglongbing-greening international workshop**, 2006, ribeirão preto. Fundecitrus. p. 96. 2006.

YANG, Y., HUANG, M., C. BEATTIE, G. A., XIA, Y., OUYANG, G.; XIONG, J. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: a status report for China. **International Journal of Pest Management**, v. 52, n. 4, p. 343-352, 2006.

YANG, Y.; BEATTIE, G.A.C.; SPOONER-HART, R.N.; HUANG, M.; BARCHIA, I.; HOLFORD, P. Influences of leaf age and type, non-host volatiles, and mineral oil deposits on the incidence, distribution, and form of stylet tracks of *Diaphorina citri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 147:33–49, 2013.

ZULIAN, A.; DÖRR, A.C.; ALMEIDA, S.C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrono em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 11, n. 11, p.2990-2306, 2013.