



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

**CONDIÇÕES PARA MAIOR PORCENTAGEM DE BROTAMENTO DE *Citrus limonia*
EM VASO E DE DISPONIBILIDADE DE *Diaphorina citri* PARA CRIAÇÃO
DE *Diaphorencyrtus aligarhensis* EM LABORATÓRIO**

Camila Menezes **Momesso**¹; Maria Conceição Peres Young **Pessoa**²; Natália Peixoto **Calderari**³;
Maria Fernanda de Oliveira **Neves**⁴; Luiz Alexandre Nogueira de **Sá**⁵

Nº 16401

RESUMO – O Brasil é o maior produtor mundial de citros. Entretanto, a evolução da quantidade nacional produzida de laranja e limão vem decrescendo nos últimos cinco anos, retornando a valores de 2009. Problemas fitossanitários podem estar contribuindo para esse declínio, tais como a doença Huanglongbing. *Diaphorina citri* é vetor da doença e vem contribuindo na dispersão de HLB e em danos nas plantas. Por essa razão, ações de controle biológico utilizando parasitóides exóticos para auxiliar no controle vêm sendo prospectadas como alternativas. Entre eles, citam-se pesquisas com *Diaphorencyrtus aligarhensis*, que requerem ninfas de *D. citri* e hospedeiros-planta. Trabalhos técnicos apontaram a maior disponibilidade de ninfas de *D. citri* em limão-cravo. Esse trabalho investigou condições controladas de sala de criação e de BOD, como também de casas de vegetação, para disponibilizar maiores quantidades de brotos novos em mudas de limão-cravo plantadas em vaso em menor tempo. Igualmente avaliou aspectos do desenvolvimento de adultos nesse hospedeiro-planta. Foi constatada maior taxa de aparecimento de brotos em BOD a 25 ± 2 °C UR 60 ± 10 % e fotofase 12 h, com notada acentuação na ocorrência promovida pela localização do vaso no interior. O tempo de desenvolvimento das fases imaturas de *D. citri* em limão-cravo foram inferiores aos relatados nesse hospedeiro e deverão ser mais bem investigados.

Palavras-chaves: Defesa fitossanitária, criação laboratorial, citros, vetor de doença, agricultura.

¹ Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP; camenezesm@yahoo.com.br

² Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; conceicao.young@embrapa.br

³ Bolsista Embrapa: Graduação em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP; npcalderari@gmail.com

⁴ Bolsista CNPq (PIBIC) no Projeto HLB_Biocontrol (de agosto/2014 a dezembro/2015, enquanto graduanda em Ciências Biológicas da UNIP campus Swift, Campinas/SP); email: mariafernandamorrison@yahoo.com.br

⁵ Colaborador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; email: luiz.sa@embrapa.br



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

ABSTRACT – *Brazil is the world's greatest producer of citrus. However, the evolution of the national quantities of orange and lemon produced has decreased in the last five years, returning to 2009 figures. Phytosanitary problems, such as the Huanglongbing disease, may be contributing to this decline. Diaphorina citri is the disease vector, and it has contributed both to the dispersion of HLB and to plant damages. Therefore, biological control actions, such as Diaphorencyrtus aligarhensis researches which make use of exotic parasitoids and require both nymphs of D. citri and host-plant, have been prospected as alternatives. Technical literature pointed out that a greater availability of nymphs of D. citri was found considering Citrus limonia as host-plant. The present work investigated control conditions in laboratorial rearing room, climatized chamber (BOD), as well as in greenhouse in order to provide greater quantities of new shoots on Citrus limonia planted in pots in a shorter time. Aspects of the adult D. citri development on this host-plant were assessed. Greater rates of shoot appearance were observed on BOD at 25 ± 2 °C, RH 60 ± 10 % and photophase 12 h., with increasing occurrence of new young shoots promoted by the pot placed inside. The immature developmental phases of D. citri in Citrus limonia were lower than those already reported considering the same host-plant and should be further investigated.*

Keywords: Crop protection, laboratorial rearing, citrus, disease vector, agriculture

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de citros, seguido pela China, Estados Unidos, México, Índia, Espanha, Irã, Itália, Nigéria e Turquia (KHAN, 2015). Entretanto, a evolução da quantidade nacional produzida de laranja e limão, que registrou aumento de 2009 (18.518.271 t) para 2010 (19.523.880 t), sofre queda gradativa desde este último ano, tendo atingido, em 2014, uma quantidade menor que aquela registrada em 2009, a saber, 18.029.399 t (IBGE.SIDRA, 2016). Problemas fitossanitários podem ter sido um dos fatores que induziram à essa queda de produção, prevalecendo, entre eles, Cancro Cítrico, Huanglongbing, Pinta Preta, Leprose e Clorose Variegada (GIRARDI et al., 2011; NEVES et al., 2010).

Huanglongbing (HLB), também conhecida por *ex-Greening* dos citros, é uma doença causada por bactérias gram-negativas *Candidatus Liberibacter* sp., que são classificadas em três



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

espécies: *Ca. L. africanus*, *Ca.L. asiaticus* e *Ca.L. americanos*, sendo que apenas as duas últimas têm registro no Brasil (BOVÉ, 2006). A doença foi detectada no Brasil em 2004 e possui danos severos em todas as variedades de citros (GIRARDI et al., 2011). Percebe-se a presença da doença pela interrupção da coloração verde nas folhas, que se tornam parcialmente amarelas e verdes, o que ocorre também por deficiência de alguns nutrientes como zinco, ferro e manganês, ou pela presença da concentração de ramos amarelos em parte da copa da árvore (GIRARDI et al., 2011; ATIHE JR. et al., 2006). Existem outros sintomas da doença, entre os quais os possíveis de serem encontrados em frutos, como deformações, menor tamanho, amolecimento, entre outros (GIRARDI et al. 2011). HLB vem sendo transmitida nos pomares pelo vetor conhecido como psílideo-dos-citros *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (PARRA et al., 2010; COLETFTA-FILHO et al., 2004). Pela gravidade do problema, vem sendo necessário a erradicação das plantas infectadas.

Diaphorina citri é um inseto sugador, por isso, durante a alimentação pode transmitir substâncias tóxicas aos tecidos vegetais, o que resulta em alterações no crescimento das plantas, alterações nas folhas (engruvinhamentos) e nos brotos (retorcimentos) (YAMAMOTO; ALVEZ; BELOTI, 2014). O psílideo é encontrado parasitando, preferencialmente, plantas da família *Rutaceae*, ocorrendo em 23 gêneros da mesma. Entre estes, as espécies do gênero *Citrus* (limões, limas e laranjas) e *Murray paniculata* (L.) Jack, planta ornamental popularmente conhecida como Murta-de-cheiro (YAMAMOTO; ALVEZ; BELOTI, 2014).

O inseto passa por três estágios de desenvolvimento: ovo, ninfa e adulto. Nava et al. (2007) indicaram que o tempo de duração das fases de desenvolvimento do inseto, assim como as suas respectivas viabilidades, são diferenciados de acordo com o hospedeiro-planta; o que também registrado por Nava et al. (2007) para o ritmo de postura de ovos pela fêmea da espécie. A partir desse registro, Neves et al. (2015) identificaram que, para os primeiros 10 dias de vida, as fêmeas ativas de *D. citri* apresentam potencial para maior postura em limão-cravo (*Citrus limonia*), quando comparadas ao desempenho observado por Nava et al. (2007) em murta e em tangerina para o mesmo período. As ninfas possuem cinco instares (ou estádios) de desenvolvimento, podendo ser encontradas aderidas as folhas e aos pecíolos das plantas (NAVA et al., 2007). Os indivíduos adultos podem medir aproximadamente 2,8 a 3,2 mm de comprimento e, normalmente, são observados na posição de 45° em relação ao substrato em que estão (NAVA et al., 2007; NEVES et al., 2015). O ciclo de desenvolvimento das fases imaturas de *D. citri* em limão-cravo foi descrito por NAVA et al. (2007).



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

O uso de agentes de controle biológico para o controle de *D. citri* vem se mostrando como opção de controle do inseto (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Tratando-se de parasitoides, *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), ectoparasitóide de ninfas de *D. citri*, vem sendo utilizada no Brasil, demandando estratégias para aumentar as criações massais do inseto para as liberações inundativas em pomares (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Outra espécie exótica, *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Akam & Agarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae), é um endoparasitoide de ninfas de *D. citri* (preferencialmente de segundo a quarto instares), cuja espécie apresenta partenogênese telítoca, que vem sendo prospectado como opção de controle alternativo em regiões de baixa eficiência nas taxas de parasitismo por *T. radiata* (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Entretanto, a eficácia desses estudos prospectivos demandam a disponibilidade de ninfas em criações de *D. citri* concomitantemente à disponibilidade de brotos novos em hospedeiros-planta. Estudos de simulação, fundamentados nos estudos biológicos de ritmo de postura de fêmeas de *D. citri* em limão cravo e em murta (NAVA et al, 2007), estimaram o potencial de oviposição de 30,7 ovos/fêmea/dia para fêmeas com até 10 dias de idade após a maturação, implicando em 14% a mais na quantidade de ovos quando comparada à quantidade obtida em murta, nas mesmas condições (NEVES et al., 2015). Desse modo, criações laboratoriais de *D. citri* em limão-cravo apresentariam um grande potencial para o fornecimento de maior quantidade de ninfas para criações de agentes de controle biológico do inseto vetor de HLB.

Este trabalho teve por objetivo principal mostrar os principais resultados obtidos de agosto/2015 a maio/2016 para disponibilizar condições para obtenção de maior porcentagem de brotamento de limão-cravo (*Citrus limonia*) em vaso e de disponibilidade de *Diaphorina citri* para subsidiar a criação de *Diaphorencyrtus aligarhensis* em condição controlada de laboratório.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de acompanhamento de desenvolvimento de *D. citri* e de acompanhamento da emissão de brotos novos em vasos contendo mudas de limão cravo (*Citrus limonia*) aqui apresentados foram realizados no período de agosto/2015 a maio/2016. Fizeram uso de gaiolas entomológicas dispostas em condição controlada de Salas de Criações do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) ou de câmara climatizada (BOD) em sala do Quarentena “Costa Lima” (QCL), ambos na Embrapa Meio Ambiente. Uma a três mudas (ramos) de limão-cravo, com 20-30 cm e contendo brotos novos, foram colocadas, conforme experimento, em um



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

vaso plástico contendo terra (substrato orgânico vegetal). O vaso foi numerado e posteriormente disposto em bandeja plástica, que na sequência foi inserida em uma gaiola entomológica, igualmente numerada. A descrição das particularidades de cada experimento é apresentada a seguir.

2.1 Experimento de acompanhamento de brotos novos acumulados em vasos, contendo três ramos de limão-cravo podados, por vaso, dispostos em gaiolas entomológica na sala de criação 1

As gaiolas foram dispostas na prateleira inferior de estante metálica da sala de criação 1 do LEF, mantida a $T = 26 \pm 1$ °C, UR= 60 ± 10 % e fotoperíodo de 12h. Foram plantadas 3 mudas novas (aqui chamadas de ramos) de limão-cravo, por vaso. Os ramos foram podados no início do experimento e a contagem de brotos novos foi realizada por vaso. Os vasos e gaiolas foram numerados, a saber, Gaiola 2 com Vaso 2 (V2) e Gaiola 3 com Vaso 3 (V3).

2.2 Experimentos para avaliar brotos novos acumulados em ramos de limão-cravo em vasos dispostos em estante superior da BOD

O 1º **experimento** contou com dois vasos, sendo o Vaso 1 (V1) com dois ramos de limão-cravo e o Vaso 2 (V2) com um único ramo. Os vasos foram dispostos em bandejas plásticas e mantidos na estante superior da BOD do Quarentena Costa Lima (QCL), sendo V1 localizado a esquerda e o V2 à direita. A BOD foi programada com $T = 27 \pm 1$ °C, UR= $60 \pm 10\%$ e período de 14 horas. Os vasos foram monitorados por 17 dias, observando-se as quantidades acumuladas de brotos novos em cada ramo, por vaso, e a qualidade dos ramos. O 2º **experimento** foi realizado, posteriormente, utilizando a BOD do QCL), programada com $T = 25 \pm 2$ °C, UR= $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h. Nele foram avaliados quatro vasos, sendo que três vasos com 2 ramos de limão-cravo, cada um, (V1, V3 e V4) e um vaso com um único ramo (V2). O posicionamento dos vasos dentro da BOD foi registrado, no intuito de observar possível influência da localização dos vasos na quantidade acumulada de brotos novos resultantes. Assim, os V1 e V2 foram posicionados a frente dos V3 e V4, respectivamente; os V1 e V3, portanto, a esquerda do observador, considerando este posicionado em frente a BOD e observando seu interior. O experimento foi monitorado por 18 dias.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

2.3 Experimento de acompanhamento de brotos novos acumulados em vasos, contendo três ramos de limão-cravo, dispostos em casa de vegetação

Os vasos foram dispostos em mesa localizada ao fundo da casa de vegetação do LEF-QCA/Embrapa Meio Ambiente. Os vasos plásticos, contendo três ramos de limão cravo foram podados, numerados e registrados seus respectivos posicionamentos sobre a mesa. As contagens de brotos novos acumulados por ramo em cada vaso foi registrada no intervalo de 24 dias. Os dados climáticos foram obtidos da estação climática disponibilizada no interior da casa de vegetação e analisados.

2.4 Experimento para avaliação de infestação de 100 adultos de *D. citri* em vaso contendo dois ramos de limão-cravo, em gaiola disposta em sala de criação

Dois ramos (mudas novas de 20 a 30 cm) de limão-cravo contendo pelo menos 3 brotos novos foram transplantadas para um vaso plástico (V14) contendo terra (substrato orgânico vegetal). A terra foi molhada e o vaso foi colocado em uma bandeja plástica no interior de uma gaiola entomológica. Foi colocado um *voil* sobre a terra do vaso para auxiliar na recuperação de insetos mortos. A gaiola foi colocada posteriormente em uma prateleira de estante de sala de criação 2 do LEF, mantendo-a a $T= 25 \pm 1$ °C, UR= $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo 14 h. Fez-se a infestação com 100 adultos de *D. citri* recém emergidos, coletados aleatoriamente da criação do inseto em murta (*M. paniculata*) do LEF/QCL. Os insetos adultos foram monitorados no período de 25 dias, tendo sido anotadas T e UR. Os insetos mortos encontrados foram sexados, fazendo uso de lupa e padrão internacional.

2.5 Experimento para avaliação de infestação de 18 ninfas de *D. citri* em vaso contendo três ramos de limão-cravo, em gaiola disposta em sala de criação

Um vaso com três ramos de limão-cravo, de aproximadamente 20 cm e com brotos novos, foi inserido em uma gaiola entomológica, posteriormente colocada na prateleira inferior de estante da sala de criação 2 do LEF, em condições laboratoriais de $T= 26 \pm 1$ C, UR= $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo 12h. Foram inseridas 18 ninfas de *D. citri* em folha de murta, proveniente da criação de murta do QCL. As ninfas foram escolhidas, ao acaso, em quarto ou quinto instares. O desenvolvimento dos adultos e fases imaturas provenientes das ninfas foi acompanhado pelo período de 39 dias.



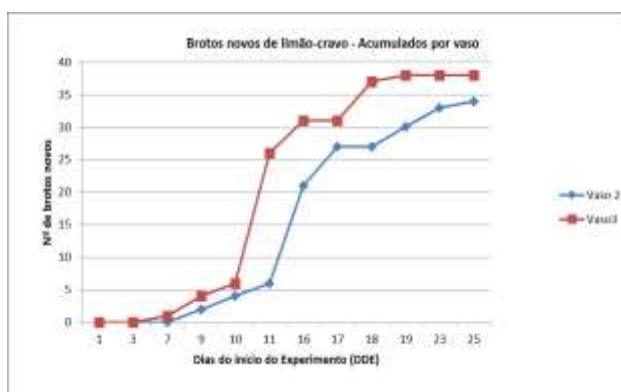
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Experimento de acompanhamento de brotos novos acumulados em vasos, contendo três ramos de limão-cravo podados por vaso, dispostos em gaiolas entomológicas na sala de criação 1

Observou-se dinâmica semelhante na disponibilidade acumulada de brotos novos por vaso, apesar do V3 ter mantido quantidades maiores de brotos a partir de 11 DDE (DDE= Dias do início do experimento). V2 e V3 acumularam, respectivamente, 33 e 38 brotos novos aos 25 DDE, onde as curvas de disponibilidade de brotos acumulados por vaso apresentaram padrões semelhantes, em formato polinomial de grau 3, indicando maior aceleração na disponibilidade de brotos novos acumulados dos 10 DDE aos 18 DDE; com picos de brotos novos ocorrendo entre 16 DDE e 18 DDE. Analisando-se a disponibilidade de brotos por ramos (R_i , com $i = 1$ a 3 ramos) em cada vaso (V_j , com $j = 2$ a 3), observa-se que, com exceção do ramo 3 do vaso 2 (R3V2) que disponibilizou quantidades menores de brotos, os demais ramos disponibilizaram quantidades totais semelhantes. As T e UR médias observadas durante a realização do experimento foram de $25,3 \pm 0,64$ °C e $55,1 \pm 11,7\%$, registrando-se grande variação na UR; esta, acima da faixa esperada para o experimento.



(a)



(b)

Figura 1. Dinâmica de ocorrência de brotos novos por vaso: a) acumulado por ramo; b) acumulado por vaso



3.2 Experimentos para avaliar brotos novos acumulados em ramo de limão-cravo em vasos plásticos dispostos em estante superior da BOD

No 1º experimento, brotos novos foram observados a partir dos 11 DDE, em ambos os vasos, em quantidades próximas contudo sempre predominante no V2; mesmo tendo este menor nº de ramos. Este vaso esteve posicionado a direita do observador. O pico de brotos novos foi observado aos 17 DDE, em ambos vasos. A frequência de aparecimento de brotos novos diários foram semelhantes em ambos vasos; foram estimadas pelas diferenças observadas dos valores de brotos acumulados em dias consecutivos. Observou-se $T_{\text{média}} = 27,2 \pm 1,2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $UR = 69,0 \pm 4,5 \%$. No 2º experimento, a contagem dos brotos novos acumulados foi realizada durante o período de 18 dias (próximo ao do período do experimento anterior). Os resultados são apresentados na Figura 2. Registraram-se $T = 26,7 \pm 0,4 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $UR = 57,8 \pm 9\%$; médias para o período avaliado. Houve maior disponibilidade de brotos novos acumulados em V1(54), com maior pico de emissão de brotos observado aos 7 DDE. O padrão de emissão acumulada de brotos de V1 foi linear, registrando maiores valores diário de emissões de brotos novos, quando comparados aos demais; exceto em período posterior aos 9 DDE e inferior aos 16 DDE.

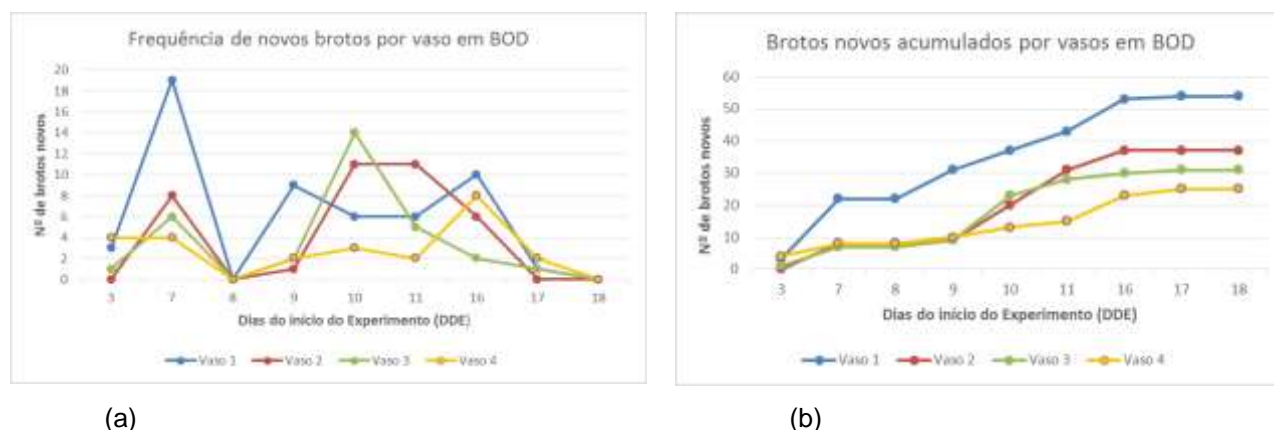


Figura 2. Dinâmica de ocorrência de brotos novos no 2º experimento em vasos dispostos em BOD:

a) quantidade de brotos novos obtidos por dia nos vasos; b) quantidade de brotos novos acumulados por vaso.

Nesse período, registrou-se a maior frequência de brotos nos V3 e V2, implicando em padrões próximos nas quantidades acumuladas nesses dois vasos; com **predominância no V2** (com apenas um ramo) após os 11 DDE. O resultado sugere que exista algum fator contribuindo para a maior emissão de brotos novos dentro da BOD na posição em que se localizaram os vasos com menor disponibilidade de ramos (como os utilizados em V2 de ambos os experimentos). Esse fator será mais bem investigado, pois possibilita a mesma quantidade de brotos novos sendo

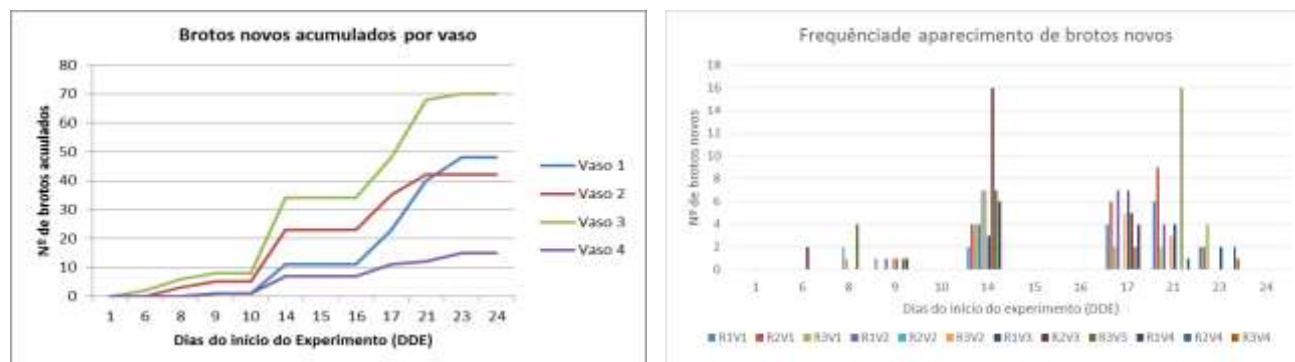


10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

emitidos em apenas um ramo. Observaram-se no 2º experimento que os vasos posicionados mais a frente obtiveram as maiores quantidades acumuladas de brotos novos.

3.3 Experimento de acompanhamento de brotos novos acumulados em vasos, contendo três ramos de limão-cravo, dispostos em casa de vegetação

As médias dos dados climáticos registrados no interior da casa de vegetação foram as seguintes: $T_{m\u00e9dia} = 23,6 \pm 0,76$ °C e $UR = 89,9 \pm 4,1$ %, Radiação Solar = $830,6 \pm 247,1$ W/m² e pluviosidade (considerando irrigação automática) = $1,3 \pm 0,3$ mm. Observou-se dinâmica diferenciada entre os vasos, quanto ao acumulado de brotos novos, no período de 24 dias observados, onde o V3 apresentou quantidade muito maior (70) que os demais (V1=48, V2= 42 e V4=15) (Figura 3a). As quantidades de brotos novos emitidos por ramo de cada vaso durante o período de 24 dias é apresentada na Figura 3b. O sombreamento de parte da casa de vegetação, causado por agente físico externo, bem como a ocorrência de pragas em folhas de V4, pode ser a provável causa da menor disponibilidade de brotos novos acumulados nesse vaso. Não foram observados padrões na emissão de novos brotos por ramos.



(a)

(b)

Figura 3. Dinâmica de aparecimento de brotos novos em vaso com limão-cravo em condição de casa de vegetação: a) quantidades acumuladas por vaso; b) quantidades observadas por ramo de cada vaso.

3.3 Experimento para avaliação de infestação de 100 adultos de *D. citri* em vaso contendo dois ramos de limão-cravo

Aos 2 DDE identificaram-se cerca de 30 adultos nas folhas novas superiores. A partir de 3 DDE foram identificados ovos em pequenas quantidades; estes porem postados em fileira (agrupados e continuamente) e não em um ou dois, como citado em literatura internacional. Nesse mesmo dia, foram igualmente observados vários adultos presentes na parte abaxial das folhas novas superiores. Aos 6 DDE foram observados poucos ovos e poucas ninfas em instares iniciais;



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

compatível com o esperado para o ciclo de vida do inseto em limão-cravo (Nava et al., 2007). Nesse mesmo dia foram observados muitos ovos (massas de ovos) em uma única folha nova localizada no ápice do ramo direito, embora várias outras folhas novas do ápice também apresentassem quantidade menores de oviposições. A quantidade de insetos presentes no ápice dos ramos (nas folhas novas) também variou conforme o ramo e período do dia, tendo sido observadas quantidades maiores de adultos no período da tarde na parte superior; 15 adultos às 7:50h e 23 adultos às 14h no ramo mais a direita. No mesmo dia pela manhã, os 2 ramos apresentavam 34 adultos, no total, nas folhas superiores mais novas. Desse modo, a interferência desse padrão no comportamento do inseto deverá ser mais bem investigada futuramente. Até o aparecimento da grande quantidade de ovos (7 DDE) registraram-se T média= $26,0 \pm 0,5$ °C e UR média= $74,9 \pm 3,8\%$. No 10 DDE foram retirados os adultos, da infestação inicial, 49% de sobreviventes (49 adultos), com mortalidade identificada por sexagem de 16% fêmeas e 8% machos e as demais sem possibilidade de identificação. Os sobreviventes adultos foram retirados para permitir a observação de emergência de adultos da 2ª geração. Estes foram observados a partir de 12 DDE, com muitas ninfas ainda observadas aos 13 DDE. Em 15 DDE registrou-se a ocorrência de fungos em parte das folhas, no *voil*, no solo e em insetos adultos (mortos). Em função da contaminação dos vasos, o experimento foi encerrado. Considerando todo o experimento, foram observadas as seguintes médias: T= $26,7 \pm 1,3$ °C e UR= $67,2 \pm 10,5$ %. O Dr. Dartanhã Soares (Embrapa Algodão, no LEF/QCA) identificou o fungo como *Aspergillus*.

3.4 Experimento para avaliação de infestação de 18 ninfas de *D. citri* em vaso contendo três ramos de limão-cravo, em gaiola disposta em sala de criação

Durante o período de 39 dias, registraram-se médias de T = $26,5 \pm 1,0$ °C e UR= $63,4 \pm 6,1$ %. Os adultos da primeira geração começaram a ser notados aos 7 DDE, ainda em quantidades pequenas. Até os 9 DDE foram observados 14 adultos. Aos 14 DDE foram observados 23 adultos, indicando a presença de adultos da 2ª geração. Estes tiveram um tempo de desenvolvimento de no máximo 13 dias, bem inferior àquele previsto por Nava et al (2007) para a fase imatura (ovo + ninfa) em limão-cravo. A predominância dos adultos deu-se no ramo 2 (intermediário). Adultos da terceira geração começaram a ser visualizados a partir dos 29 DDE, com 15 dias de desenvolvimento para fase imatura (ovo + ninfas); ainda menor que o descrito por NAVA et al. (2007).

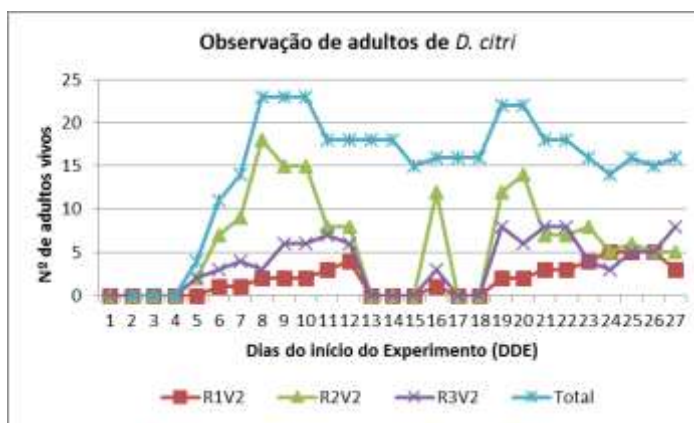


Figura 4. Dinâmica de aparecimento de adultos de *D. citri* em vaso com três ramos de limão-cravo.

4 CONCLUSÃO

As melhores taxas de obtenção de brotos novos em ramos de limão cravo foram obtidas em câmara climatizada (BOD), programada com $T = 25 \pm 2$ °C, $UR = 60 \pm 10$ % e fotoperíodo de 12 h, porém com destacada interferência do posicionamento do vaso no interior da câmara, uma vez que vasos em menor quantidade de ramos atingiram taxas semelhantes aos maiores com mais ramos, e em casa de vegetação. Foram observados tempos de desenvolvimentos da fase imatura de *D. citri* menores que os esperados em limão-cravo, a saber entre 13 a 15 dias. A manutenção da criação de *D. citri* em gaiolas iniciada a partir de infestação por ninfas apresentou maior constância posterior na emergência de adultos, com preferência para permanência destes em ramo intermediário do vaso.

5 AGRADECIMENTOS

À Embrapa Meio Ambiente e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida (PIBIC/CNPq).

6 REFERÊNCIAS

ATIHE JUNIOR, J.; PINO, F. A.; MENDONÇA, E.T.; FRANCISCO V. L. F. S. Incidência de Huanglongbing (HLB) (greening) em citros na região de Araraquara. **Laranja**, v.27, n.2, p.251-262, 2006.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

BELASQUE JR. J.; YAMAMOTO PT.; MIRANDA MP, BASSANEZI RB, AYRES AJ; Bové JM. Controle do Huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology** v.31, n.1, p.53-64, 2010.

BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Milan, v.88, n.1, p.7-37, 2006.

COLETTA-FILHO HD, TARGON MLPN, TAKITA MA, DE NEGRI JD, POMPEU JR J, MACHADO MA, DO AMARAL AM & MULLER GW. First Report of the Causal Agent of Huanglongbing (“Candidatus Liberibacter asiaticus”) in Brazil. **Plant Disease**, 2004.

GIRARDI, E. A.; NASCIMENTO, A.S.; LARANJEIRA, F.F.; ANDRADE, E.C.; FREITAS-ASTÚAS, J.; BARBOSA, C.J.; SANCHEZ, N.F.; STUCHI, E.S.; FANCELLI, M.; SANTOS FILHO, H.P.; OLIVEIRA, A.A.R. **Guia de identificação do Huanglongbing (HLB, ex-greening)**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011. 34p.

GÓMEZ-TORREZ, M.L.; NAVA, D.E.; GRAVENA, S; COSTA, V.A.; PARRA, J.R.P. Primeiro registro de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) no Brasil. **Revista de Agricultura**. Piracicaba, v.81,p.112-117, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Sistema IBGE de Recuperação Automática. **Quantidade Produzida – Brasil 2014** (Produção Agrícola Municipal-PAM). Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=4&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>, Acessado em: maio/2016.

KHAN, I. **Top 10 largest citrus producing countries in the world**. WORLD KNOWING-Agriculture. July, 6 2015. Disponível em: <http://worldknowing.com/top-10-largest-citrus-producing-countries-in-the-world/> Acessado em: maio, 2016.

LEAL, R. M. ET AL. Distribuição espacial de Huanglongbing (Greening) em citros utilizando a geoestatística. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 808-818, 2010.

NEVES, M. F.; V. G. TROMBIN; P. MILAN; F. F. LOPES; F. C. PEREIRA & R. B. KALAKI. **O Retrato da Citricultura Brasileira**. Ribeirão Preto, Markestrat, 2010.137 p.

NEVES, M. F. O.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N. de; NAVA, D. E.; GIRARDI, E. A. **Avaliação do desenvolvimento de *Diaphorina citri* em *Murraya paniculata* e *Citrus limonia* em cenários de simulação numérica para subsidiar criações laboratoriais de *Tamarixia***



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

radiata. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 9., 2015, Campinas. Anais... Campinas: Instituto Agrônômico (IAC), 2015. RE Nº 15406.

PARRA, JRP; LOPES, JRS; GOMEZ-TORRES, ML; NAVA, DE; PAIVA, PEB. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* transmissão de bactérias associadas ao Huanglongbing. **Citrus Research and Technology**, Piracicaba, v.31, n.1, p.37-51, 2010.

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