

**FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA
MESTRADO PROFISSIONAL EM
CONTROLE DE DOENÇAS E PRAGAS DOS CITROS**

LUÍS FERNANDO ULIAN

***Diaphorina citri* e Huanglongbing: dinâmica, relações
epidemiológicas e monitoramento do vetor em pomar de laranja
com manejo da doença**

Dissertação apresentada ao Fundo de Defesa da
Citricultura como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Fitossanidade

Orientador: Dr. Renato Beozzo Bassanezi

**Araraquara
Janeiro 2016**

LUÍS FERNANDO ULIAN

***Diaphorina citri* e Huanglongbing: dinâmica, relações
epidemiológicas e monitoramento do vetor em pomar de laranja
com manejo da doença**

Dissertação apresentada ao Fundo de Defesa da
Citricultura como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Fitossanidade

Orientador: Dr. Renato Beozzo Bassanezi

**Araraquara
Janeiro 2016**

LUÍS FERNANDO ULIAN

Dissertação apresentada ao Fundo de Defesa da
Citricultura como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Fitossanidade

Araraquara, 21 de janeiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Beozzo Bassanezi (Orientador)
Fundo de Defesa da Citricultura – FUNDECITRUS, Araraquara/SP.

Prof. Dr. Marcelo Pedreira de Miranda
Fundo de Defesa da Citricultura – FUNDECITRUS, Araraquara/SP.

Prof. Dr. José Belasque Junior
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba/SP.

DEDICATÓRIA

DEDICO,

Primeiramente a Deus,

A minha esposa Zilda e aos meus filhos Felipe e Henrique,

Aos meus pais Igidio e Inês e as minhas irmãs Jaquelina e Silvia.

AGRADECIMENTOS

À Citrosuco Agrícola S.A. pela oportunidade de realizar este trabalho e pelas demais oportunidades, e por todos os amigos que nela trabalham, sendo injusto citar nome de alguns.

Ao professor e orientador Dr. Renato Beozzo Bassanezi pelo apoio, paciência, compreensão e a todo ensinamento a mim transmitido.

Aos professores Dr. Marcelo Pedreira de Miranda, Dr. José Belasque Junior e Dr. Franklin Behlau, e ao pesquisador Dr. Eduardo Augusto Girardi, pelas correções e sugestões para melhoria desta dissertação.

Ao Fundecitrus (Fundo de Defesa da Citricultura) a todos os professores/pesquisadores e funcionários que colaboraram em muito no desenvolvimento do projeto.

A todos os colegas do curso de mestrado do Fundecitrus pela atenção, troca de conhecimento, pele amizade e confiança.

E à Agrofito, minha nova casa, pela recente oportunidade e confiança em mim depositada.

***Diaphorina citri* e Huanglongbing: dinâmica, relações epidemiológicas e monitoramento do vetor em pomar de laranja com manejo da doença**

Autor: Luís Fernando Ulian
Orientador: Dr. Renato Beozzo Bassanezi

Resumo

Huanglongbing (HLB), associado às bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus*, transmitida pelo psílideo asiático dos citros, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), é uma das mais importantes doenças da citricultura, por sua rápida disseminação, impacto na produção e qualidade de fruta e dificuldade de controle. O melhor conhecimento sobre a doença e o seu vetor pode ajudar a aprimorar o seu manejo. Desta forma, este estudo de caso teve como objetivos: i) Comparar a distribuição espaço-temporal do psílideo e de plantas com sintomas de HLB dos talhões internos da fazenda com talhões de borda e do perímetro da propriedade; ii) Avaliar a relação do progresso temporal de *D. citri* e de plantas sintomáticas com a ocorrência de chuvas e balanço hídrico nos pomares; iii) Verificar a existência de relação entre a população de *D. citri* com a incidência de plantas com HLB; e iv) Avaliar os métodos de inspeção de *D. citri*, comparando as informações resultantes de inspeções periódicas realizadas de forma visual em brotações com as das capturas de adultos em cartões adesivos amarelos, tanto em pomares novos como em velhos. Neste estudo foram analisados dados coletados por dois anos em uma propriedade comercial de laranja, que adota um rigoroso controle do psílideo e redução de fontes de inóculo. Observou-se que, com o contínuo manejo da doença, a população de psíldeos reduziu ao longo do tempo. Maiores populações do psílideo e de plantas com sintomas ocorreu nos talhões do perímetro da fazenda, assim como nos talhões próximos a matas e brejos no interior. À medida que o manejo da doença na propriedade foi sendo mantido, a proporção de plantas com HLB nos talhões do perímetro foi aumentando em relação aos talhões internos, indicando que as áreas de perímetro estão mais sujeitas às infecções causadas por psíldeos portadores da bactéria advindos de outras propriedades ou plantas sem o manejo da doença. O início dos picos populacionais do psílideo se deu no final do inverno, de 30 a 60 dias após precipitação mensal acumulada acima de 20 mm. Após o início da estação chuvosa, na primavera, a população do psílideo se manteve alta, mas com a intensificação das chuvas no verão, a população tendeu a reduzir significativamente. A expressão dos sintomas da doença foi influenciada pelo estresse hídrico das plantas, sendo maior durante os períodos de déficit hídrico. A população de plantas sintomáticas detectadas pelas equipes de inspeção foi positiva e significativamente correlacionada com a população de psíldeos observada há oito a dez meses atrás. Não foi observada relação significativa entre o número total de psíldeos observados durante o ano com o número total de plantas sintomáticas no ano seguinte. De maneira geral, os cartões adesivos amarelos foram mais eficientes no monitoramento do psílideo que as inspeções visuais, principalmente em pomares com plantas mais altas, exceto nos períodos de maior precipitação. Portanto, a utilização de ambos os métodos de monitoramento de psílideo deveria ser recomendada para o manejo do vetor.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*, *Diaphorina citri*, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, Epidemiologia, Análise espaço-temporal, Efeito de borda, Métodos de monitoramento.

***Diaphorina citri* and Huanglongbing: dynamics, epidemiological relationships and vector monitoring in sweet orange grove with disease management**

Author: Luís Fernando Ulian
Advisor: Dr. Renato Beozzo Bassanezi

Abstract

Huanglongbing (HLB), associated with the bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus*, transmitted by the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), is one of the most important citrus diseases due to its fast dissemination, impacts on fruit yield and quality and difficulty of control. A better knowledge about the disease and its vector could improve its management. Therefore, the aims of this case study were: i) To compare the spatio-temporal distribution of the psyllid and the HLB-symptomatic trees in the blocks located in the interior of the grove with the blocks at the edges and the perimeter; ii) To evaluate the relationship between the *D. citri* and symptomatic trees temporal progresses with the rain occurrence and hydric balance of grove; iii) To verify the relationship between *D. citri* population and the incidence of HLB-affected trees; and iv) To evaluate scouting methods for *D. citri* in young groves as well in mature groves, comparing the resulting information from periodic visual inspections of shoots and from periodic captures of adult psyllids on yellow sticky traps. In this study, data collected for two years in a sweet orange commercial grove, which adopt a rigorous psyllid control and inoculum source reduction, were analyzed. With the continuous accomplishment of disease management a reduction on detected psyllid population was observed over time. Higher populations of psyllid and symptomatic trees occurred in the citrus blocks at the grove's perimeter, as well as at the blocks near woods and swamps in the inner part of the farm. As the disease management in the farm was kept, the proportion of HLB-affected trees in the blocks at the perimeter was increasing in relation to the internal blocks indicating that those blocks at the perimeter were more subjected to infections caused by psyllids carriers of the bacteria from others groves or trees without disease control. The beginning of psyllid population increasing occurred in the end of winter, from 30 to 60 days after 20 mm accumulated monthly rainy. After the beginning of rainy season in the spring the psyllid population was maintained high. However with the intensification of rainy in the summer, psyllid population tended to be significantly reduced. The symptoms expression of the disease was influenced by the hydric stress in the grove, being higher during the water deficit periods. The population of symptomatic trees detected by inspection teams was positive and significantly correlated with the psyllid population observed eight to ten months before. A significant relation between the total number of psyllids observed during the year and the total number of symptomatic trees in the next year was not observed. In general, the yellow sticky traps were more efficient in the psyllid monitoring than the visual inspections, mainly in blocks with higher trees. During high rainy periods when the insect moves less the visual inspection was better than the capture on yellow sticky traps. Therefore the use of both methods to monitor psyllids should be recommended for the vector management.

Keywords: *Citrus sinensis*, *Diaphorina citri*, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, Epidemiology, Spatio-temporal analyses, Edge effect, Scouting methods.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista aérea da fazenda localizada em Boa Esperança do Sul, SP (Imagem do Google Earth)	8
Figura 2. Monitoramento de <i>Diaphorina citri</i> . A) Inspeção visual em brotos. B) Cartão adesivo amarelo	9
Figura 3. Inspeção de pomar de laranja adulta com o uso de plataforma acoplada ao trator para a detecção de plantas com sintomas de Huanglongbing	12
Figura 4. Divisão dos talhões em função da sua localização: Perímetro – talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda (em amarelo) e Interior A – talhões do interior da fazenda (em branco)	13
Figura 5. Divisão dos talhões em função da sua localização: Perímetro+Borda – talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos (em amarelo) e Interior B – talhões totalmente cercados por outros talhões (em branco)	14
Figura 6. Incidência de <i>Diaphorina citri</i> em cartões adesivos amarelos da fazenda. (A) Talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) e talhões internos (Interior A). (B) Talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro+Borda) e em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). As linhas de tendência pontilhadas representam a regressão linear entre a incidência de psilídeos e o tempo	18
Figura 7. Propriedades de citros em um raio de 10 km (contorno em rosa) ao redor da fazenda do estudo, em 2012 (A) e em 2014 (B) (Imagens do Google Earth). (A) – Propriedade do estudo (contorno azul), propriedades vizinhas com erradicação de plantas com Huanglongbing e controle de <i>Diaphorina citri</i> (contorno amarelo) e propriedades vizinhas que não fazem o manejo de Huanglongbing (contorno vermelho). (B) – Propriedade do estudo (polígonos em marrom e amarelo) e propriedades vizinhas que restaram na região (polígonos em branco e rosa)	19

- Figura 8.** Razão da incidência de *Diaphorina citri* em cartões adesivos amarelos em talhões externos e internos da fazenda. Coluna azul representa a razão da incidência de psilídeo em talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) / incidência em talhões internos (Interior A). Coluna vermelha representa a razão da incidência de psilídeo em talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro+Borda) / incidência em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). Linha preta indica a razão igual a um, isto é, a incidência em talhões externos é igual a de talhões internos 20
- Figura 9.** Incidência de plantas com Huanglongbing (HLB) da fazenda. (A) Talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) e talhões internos (Interior A). (B) Talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro + Borda) e em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). As linhas de tendência pontilhadas representam a regressão linear entre a incidência de plantas com HLB e o tempo 21
- Figura 10.** Razão da incidência de plantas com Huanglongbing (HLB) em talhões localizados externa e internamente da fazenda. Coluna azul representa a razão da incidência de HLB em talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) / incidência de HLB em talhões internos (Interior A). Coluna vermelha representa a razão da incidência de HLB em talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro+Borda) / incidência de HLB em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). Linha preta indica a razão igual a um, isto é, a incidência em talhões externos é igual à de talhões internos 23
- Figura 11.** Ocorrência de *Diaphorina citri* capturado em cartões adesivos amarelos e observados nas inspeções visuais e precipitação pluviométrica mensal 25
- Figura 12.** Número de plantas com sintomas de Huanglongbing e a precipitação pluviométrica acumulada (A) e o balanço hídrico (B) mensais, nas safras 2012/13 e 2013/14 26

- Figura 13.** Número total de *Diaphorina citri* capturados em cartão adesivo amarelo e detectados na inspeção visual e número de plantas erradicadas com sintomas de Huanglongbing, nas safras 2012/13 e 2013/14 28
- Figura 14.** Número acumulado de plantas com sintomas de Huanglongbing em 2013/14 em função do número acumulado de psilídeos por cartão adesivo amarelo em 2012/13 em cada talhão da propriedade, independente da sua localização (A), considerando apenas os talhões de Perímetro+Borda (B) e apenas os talhões de Perímetro (C) 31
- Figura 15.** Número de psilídeos *Diaphorina citri* detectados com o uso de cartão adesivo amarelo (psilídeo adulto/cartão/mês) e pela inspeção visual de ramos (adultos, ninfas e ovos/ramo/mês) nas safras 2012/13 e 2013/14 32
- Figura 16.** Número de ovos, ninfas e adultos de psilídeos *Diaphorina citri* detectados pela inspeção visual de ramos, nas safras 2012/13 e 2013/14 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupo químico, ingrediente ativo, produto comercial e doses dos inseticidas utilizados em pulverização foliar para o controle de <i>Diaphorina citri</i> na área de estudo	11
Tabela 2. Coeficiente de Pearson da correlação entre a população de <i>Diaphorina citri</i> capturada em cartões adesivos amarelos ou observada em inspeções visuais com a precipitação pluviométrica e o balanço hídrico do mês da detecção, do mês anterior e de dois meses atrás	24
Tabela 3. Coeficiente de Pearson da correlação entre o número de plantas com sintomas de Huanglongbing detectadas no mês com a precipitação pluviométrica e o balanço hídrico do mês da detecção, do mês anterior e de dois meses atrás	25
Tabela 4. Coeficiente de Pearson da correlação do número de insetos detectados na inspeção visual e na captura com o uso de cartão adesivo amarelo com o número de plantas com sintomas de Huanglongbing erradicadas no mesmo mês e nos meses seguintes, até completar um ano	29

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	8
2.1. Caracterização da área de estudo	8
2.2. Manejo do HLB na área de estudo	9
2.2.1. Monitoramento e controle de <i>Diaphorina citri</i>	9
2.2.2. Detecção e erradicação de plantas com sintomas de HLB	11
2.3. Análise dos dados	12
2.3.1. Avaliação da distribuição espaço-temporal de <i>Diaphorina citri</i> e de plantas com HLB	13
2.3.2. Influência da precipitação pluviométrica e do balanço hídrico no progresso temporal das populações de <i>Diaphorina citri</i> e de plantas com HLB	14
2.3.3. Correlação da ocorrência de <i>Diaphorina citri</i> com as erradicações de plantas com HLB	15
2.3.4. Comparação dos métodos de inspeção de <i>Diaphorina citri</i>	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. Avaliação da distribuição espaço-temporal de <i>Diaphorina citri</i> e de plantas com HLB	17
3.2. Influência da precipitação pluviométrica no progresso temporal das populações de <i>Diaphorina citri</i> e do balanço hídrico no progresso temporal de plantas com HLB	23
3.3. Correlação da ocorrência de <i>Diaphorina citri</i> com as erradicações de plantas com HLB	27
3.4. Comparação dos métodos de monitoramento de <i>Diaphorina citri</i>	32
4. CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

A laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], pertencente ao gênero *Citrus*, da família Rutaceae, é nativa do sudeste do continente asiático, com sua origem na Indochina, Sul da China e, possivelmente, até o Sul da Indonésia (Chapot, 1975).

Introduzidas no Brasil pelos colonizadores portugueses, as plantas de citros encontraram melhores condições para o seu desenvolvimento do que em sua região de origem e, assim foram plantadas em pequenos pomares caseiros e comerciais, se disseminando por todo o país. Entretanto, a citricultura desenvolveu-se mais rapidamente nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Bahia, devido ao estabelecimento de grandes núcleos populacionais, garantindo o consumo da produção. O aumento contínuo da produção e a qualidade das frutas produzidas no Brasil proporcionaram condições para iniciar, na segunda década do século XX, exportações de frutas de citros para a Argentina e, na década seguinte, para os países da Europa (Andrade, 1930). Com as sucessivas geadas nos pomares do Estado da Flórida, nos Estados Unidos da América (EUA), na década de 1960, deu-se início à expansão da indústria citrícola no Brasil alavancada pela exportação de suco de laranja para os EUA e Europa. De 1962 a 2009 a citricultura exportou, em valores de 2009, quase US\$ 60 bilhões, trazendo, neste período, em média, US\$ 1,3 bilhão por ano em divisas ao país (Neves et al, 2010). Em 2014, o Brasil foi responsável por 57% da produção mundial de suco de laranja e exportou 98% da sua produção, sendo o maior fornecedor mundial de suco de laranja (FNP, 2015).

O parque citrícola do Estado de São Paulo e Triângulo/Sudoeste mineiro, caracteriza-se como a principal região produtora de laranja do mundo, com cerca de 445 mil hectares de laranja, em 345 municípios, e produção estimada na safra 2015/16 de 289,9 milhões de caixas de 40,8 kg (Fundecitrus, 2016). Este parque citrícola apresenta produção significativamente maior em relação ao Estado da Flórida, cuja produção vem caindo ano a ano nos últimos 15 anos, saindo de 234,9 milhões de caixas produzidas na safra 1999/2000 para 69 milhões de caixas na safra 2015/16 (National Agricultural Statistics Service, 2015). Entre as principais razões para esta decadência da citricultura da Flórida está o devastador progresso da doença Huanglongbing (HLB) em seus pomares desde 2005.

Entre as doenças que ocorrem nos pomares de citros, o HLB, relatado pela primeira vez em 1919, no sul da China, é considerada a doença mais importante da citricultura no mundo por ocasionar severos danos às plantas doentes, à produção e qualidade de frutas nos pomares afetados, comprometendo sua longevidade econômica, assim como toda a cadeia citrícola (Da

Graça, 1991; Aubert, 1992; Bové, 2006). Isto ocorre devido à sua rápida disseminação e progresso nos pomares, à dificuldade de prevenção das infecções primárias e à ausência de variedades comerciais resistentes e de métodos curativos viáveis. No Brasil, esta doença foi reportada pela primeira vez em junho de 2004, concomitantemente pelos pesquisadores do Centro APTA Citros “Sylvio Moreira” (IAC) e do Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), no município de Araraquara, na região central do Estado de São Paulo, mas existem relatos de produtores desta mesma região mencionando a presença de plantas com sintomas parecidos com HLB há pelo menos 10 anos (Coletta Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005). Até dezembro de 2014, cerca de 39 milhões de plantas de citros foram eliminadas pela doença (Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo, 2015) nos pomares paulistas, e em 2015, a incidência de laranjeiras com sintomas da doença no parque citrícola já estava próxima a 18% do total plantado (Fundecitrus, 2015).

No Brasil, o HLB tem como principal patógeno associado a bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, que, após infectar a planta, se desenvolve nos vasos do floema, e leva a obstrução da passagem de seiva elaborada, e é distribuída sistemicamente por toda a planta (Bové, 2006). A doença se manifesta inicialmente com o aparecimento de ramos com folhas amarelas, geralmente, em uma parte da copa da planta. As folhas maduras destes ramos afetados apresentam um sintoma de mosqueado ou manchas cloróticas assimétricas em relação à nervura central da folha, que algumas vezes se apresenta engrossada, clareada e de aspecto corticoso. As folhas afetadas tendem a cair prematuramente, causando desfolha dos ramos afetados, que emiti novas folhas, porém menores, com os internódios curtos e algumas vezes exibindo sintomas de deficiência de zinco ou outros micronutrientes. Os frutos dos ramos com sintomas foliares ficam menores e deformados em relação ao eixo central, e, quando cortados longitudinalmente, apresentam feixes amarelados nos vasos da região de inserção do fruto com o pedúnculo e a presença de sementes abortadas. Estes frutos apresentam maturação desuniforme e podem apresentar manchas circulares verdes claras na casca (Da Graça, 1991, Rossetti, 2001; Bové, 2006). Na medida em que a severidade da doença aumenta, a produção das plantas afetadas diminui, porque a maioria dos frutos afetados cai prematuramente ou não são formados nos ramos com sintomas foliares (Bassanezi et al., 2011). Os frutos doentes que permanecem para colheita apresentam características de baixa qualidade como redução do peso, tamanho, brix, ratio, sólidos solúveis e aumento da acidez no fruto (Bassanezi et al., 2009). Em estádios mais avançados, toda a copa pode apresentar sintomas, chegando a culminar com ponteiros secos (Bové, 2006). Também se observa significativa redução do sistema radicular das plantas afetadas (Jonhson et al., 2014).

A transmissão e disseminação natural de *Ca. L. asiaticus* no campo se dá pelo psílídeo asiático dos citros, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Capoor et al., 1967). Este inseto sugador prefere alimentar-se e colocar seus ovos em brotos novos das plantas de citros e outras rutáceas hospedeiras, como a falsa murta, *Murraya* spp. Uma fêmea coloca de duas a oito centenas de ovos em sua fase adulta (Nava et al., 2007; Parra et al., 2010). Os ovos de *D. citri*, de coloração amarela e formato alongado, com 0,3 mm de comprimento, são colocados agrupados entre as folhas novas das plantas (Gallo et al., 2002) e, em média, após 3,6 dias emergem as ninfas (Nava et al., 2007), que são as formas jovens da *D. citri*, caracterizadas por serem achatadas, pouco convexas, alaranjadas com olhos vermelhos e pernas curtas (Gallo et al., 2002). O desenvolvimento das ninfas pode durar cerca de duas semanas, o qual é dividido em cinco instares, do 1° ao 4° ínstar com duração de dois dias cada, e o 5° ínstar com duração de cerca de cinco dias (Nava et al., 2007). Em campo, o ciclo de ovo a adulto varia de duas a seis semanas (Paiva & Parra, 2012), sendo menor à medida que aumenta a temperatura até 32°C, quando esta passa a ser desfavorável ao desenvolvimento do inseto (Nava et al., 2007). O psílídeo adulto mede de 2 a 3 mm de comprimento, de cor cinza, manchas escuras nas asas e possui pernas posteriores saltatórias (Gallo et al., 2002). A presença do inseto pode ser observada durante todo o ano, mas os picos populacionais ocorrem durante a primavera e se estendem durante o verão, momento que se tem temperaturas amenas a quentes, umidade relativa alta e, principalmente, fluxos vegetativos intensos nas plantas de citros. Já no período seco e frio, com menos brotações, as populações são baixas comparadas ao período chuvoso (Yamamoto et al., 2001; Costa et al., 2006; Santos, 2013).

O psílídeo adquire a bactéria a partir do terceiro ínstar da fase de ninfa e como adulto, sendo a aquisição mais eficiente na fase de ninfa de 4° e 5° instar (Inoue et al., 2009; Pelz-Stelinski et al., 2010). Quando a aquisição ocorre na fase de ninfa, o adulto originado desta ninfa pode transmitir a bactéria prontamente para outras plantas e com uma eficiência maior, quando comparado com a aquisição ocorrida na fase adulta, em que a bactéria necessita de um período latente no inseto de 1 a 25 dias (maioria entre 5 a 9 dias) para poder ser transmitida (Xu et al., 1988). Foi observado um crescimento da população bacteriana com o tempo em insetos que adquiriram a bactéria ainda na forma jovem e o mesmo não foi observado para insetos que adquiriram a bactéria quando adultos, assim a aquisição no período ninfal torna o adulto mais infectivo (Inoue et al., 2009).

A atividade de voo de *D. citri* ocorre durante o ano todo com constante atividade de dispersão na primavera (Hall & Hentz, 2011), havendo constante movimentação de insetos entre pomares (Boina et al., 2009; Hall & Hentz, 2011), influenciada pela diferença entre a

idade e a quantidade de brotações nas duas áreas (Tomaseto et al., 2016), que por sua vez são resultantes de um manejo diferenciado dos pomares, como adubação, poda e irrigação. O adulto pode se dispersar a curtas e longas distâncias por meio de vários voos curtos em sequência ou carregado por correntes de ar, atingindo alguns quilômetros (Aubert & Xia, 1990; Arakawa & Mivamolo, 2007; Martini et al. 2014). Neste processo de dispersão do psilídeo entre pomares, sua população tende a se concentrar nas plantas próximas à periferia dos talhões (Boina et al., 2009; Sétamou & Bartels, 2015) e nos talhões localizados na divisa da propriedade (Sétamou & Bartels, 2015), e conseqüentemente, a incidência de plantas doentes tende a ser maior nas áreas de interface do plantio de citros com áreas sem citros, tanto na divisa da propriedade, como nas plantas da periferia dos talhões que apresentam espaços formados por carregadores, canais, represas, matas, galpões de máquinas, sedes, *bins*, etc. (Bassanezi et al., 2005; Gottwald et al., 2008; Beloti, 2010).

O controle do HLB é baseado, principalmente, na prevenção da ocorrência de novas infecções, o que pode ser obtido pelo plantio de mudas sadias, erradicação de plantas hospedeiras doentes, como *Citrus* spp. e *Murraya* spp., e controle químico do inseto vetor, tanto dentro como fora da propriedade (Bové, 2006; Belasque Jr et al., 2010a, b).

O uso de mudas cítricas sadias, produzidas com material vegetativo certificado ou fiscalizado em viveiros protegidos por telas anti-afídicas, que também protegem do psilídeo, é uma prática obrigatória em todo o estado de São Paulo desde 2003 (São Paulo, 2003), o que confere a sanidade dos pomares recém-plantados neste estado. Entretanto, a condição de sanidade destas mudas pode mudar rapidamente, pois, uma vez no campo, estas plantas estarão expostas aos psilídeos vetores das bactérias associadas ao HLB, podendo ser infectadas ao longo do tempo.

A eliminação de plantas de citros doentes é regulamentada pela Instrução Normativa nº53 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que está em vigor no Brasil, de 16 de outubro de 2008, e menciona que “*cabará ao proprietário, arrendatário ou ocupante a qualquer título do estabelecimento eliminar, às suas expensas, as plantas hospedeiras contaminadas, mediante arranquio ou corte rente ao solo, com manejo para evitar brotações, não lhe cabendo qualquer tipo de indenização*” e “*se o resultado laboratorial da amostra composta for positivo e o percentual de plantas com sintomas de HLB for superior a 28%, o OEDSV providenciará a eliminação de todas as plantas da UP*”. Também fica a cargo do citricultor o envio de relatórios semestrais descrevendo estas inspeções à Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo, órgão este responsável por fiscalizar as propriedades com pomares cítricos, autuando e até multando aqueles que não realizarem as

inspeções e erradicações (Ruiz et al., 2010). Para que esta medida seja efetiva, devem-se encontrar todas as plantas doentes e eliminá-las o mais rápido possível a fim de evitar que as mesmas sirvam de fonte de inóculo para contaminação de outras plantas, o que demanda várias inspeções dos pomares para a detecção de plantas com sintomas da doença, uma vez que a eficiência de detecção das plantas sintomáticas pelas equipes de inspeção raramente atinge 100% e existem sempre plantas infectadas assintomáticas que expressarão os sintomas ao longo do ano (Belasque Jr et al., 2010a, b). Além disso, a eficiência desta medida, quando adotada isoladamente pelo produtor localizado numa região com alta incidência da doença e/ou a propriedade é relativamente pequena, tem muito pouco ou nenhum efeito na redução da velocidade de progresso da doença (Bassanezi et al., 2013a). Assim, embora a eliminação imediata de plantas com sintomas de HLB seja obrigatória, esta medida tem sido questionada e não adotada por vários citricultores, principalmente aqueles cujos pomares já estão com incidências elevadas de plantas doentes ou que não estão sendo capazes de evitar o aumento da incidência da doença em seus pomares.

Dentre estas medidas, o controle do psilídeo por meio da aplicação de inseticidas é a medida mais facilmente aceita pelos citricultores, pois este manejo já vinha sendo adotado no estado de São Paulo para o controle de outras pragas vetores como as cigarrinhas transmissoras da Clorose Variiegada dos Citros (CVC). A aplicação de inseticidas inicia-se no viveiro, antes do plantio da muda no campo, com o uso de inseticidas sistêmicos, e, em pomares em formação com inseticidas sistêmicos aplicados via *drench* ou no tronco associados aos inseticidas de contato aplicados nas folhas. Em pomares em produção, são aplicados basicamente inseticidas de contato (Belasque Jr et al., 2010b). Diversos trabalhos apresentaram bons resultados no controle de *D. citri* com o uso de diferentes grupos químicos de inseticidas em aplicações sistêmicas e de contato em aplicações foliares (Sanchez et al., 2009; Yamamoto et al., 2009; Grafton-Cardwell et al., 2013; De Carli, 2015). Entretanto, nem sempre estes resultados se traduzem em um bom resultado no controle da incidência de plantas com HLB, principalmente, se nas áreas ao redor da propriedade não houver um bom controle do psilídeo e eliminação de plantas doentes (Bassanezi et al., 2013b; Monteiro, 2013; Ferreira, 2014). Desta forma, tem-se preconizado o manejo regional do psilídeo cuja finalidade é realizar a aplicação de inseticidas em grandes áreas em um curto período de tempo por vários citricultores da região, aumentando a eficiência das medidas aplicadas na propriedade. O controle coordenado do psilídeo em larga escala e num curto espaço de tempo elimina os refúgios para *D. citri*, reduzindo sua quantidade e a dispersão na região. Áreas nas quais foi aplicado manejo regional apresentaram significativa redução na incidência e taxa de progresso de HLB (Bassanezi et al., 2013b).

No campo, as aplicações de inseticidas são realizadas assim que detectada a presença do inseto vetor por meio do seu monitoramento no pomar ou, onde há maior pressão da doença, as pulverizações são mais constantes, obedecendo a intervalos fixos (calendário). Após a aplicação do inseticida, à medida que este fica exposto às condições climáticas (precipitação pluviométrica e luminosidade) e/ou as brotações se desenvolvem, ele perde sua eficiência em matar o psilídeo e em impedir a ocorrência de novas infecções em menos de duas semanas provavelmente porque a sua concentração e cobertura no alvo (folhas tenras de brotações) é reduzida (De Carli, 2015). Assim, para eficiência do controle do psilídeo no manejo da doença, além do produto e dose aplicados e da cobertura e deposição do inseticida pela pulverização, depende do momento de aplicação, que deve coincidir ao máximo com o momento da chegada dos psilídeos portadores de bactérias. No caso do HLB, como o controle do inseto deve impedir que o psilídeo contaminado, de dentro ou de fora do pomar, tenha chance de transmitir a bactéria para plantas saudáveis, é de extrema importância determinar o momento em que a população do psilídeo está aumentando e dispersando de plantas doentes para os pomares comerciais de citros, assim como determinar os locais na propriedade onde os psilídeos mais se concentram, possibilitando direcionar e reforçar o controle do psilídeo para estes momentos e locais. Para isto, é desejável a adoção de métodos de monitoramento que consigam detectar precocemente a dispersão dos adultos de *D. citri* para os pomares. Métodos confiáveis de detecção de diversas fases do psilídeo no pomar também são importantes para avaliar se o método de controle do psilídeo adotado foi eficaz no controle do inseto.

Na prática, dois métodos para a detecção e monitoramento da população de *D. citri* têm sido amplamente utilizados pelos citricultores no Estado de São Paulo: cartões adesivos amarelos e inspeção visual de brotações (Miranda et al., 2011). O primeiro detecta e quantifica apenas os insetos adultos que são atraídos pela coloração amarela enquanto se dispersam pelo pomar. O segundo pode identificar e quantificar os insetos em todas as suas fases de desenvolvimento (adulto, ninfa e ovo). Embora alguns trabalhos publicados (Hall & Hentz, 2010; Menezes, 2011; Santos et al., 2012) discutam sobre as vantagens e desvantagens de cada um destes métodos na quantificação da população de *D. citri*, ainda existem dúvidas sobre a eficiência de detecção dos métodos de monitoramento e sua aplicabilidade para um programa de controle do psilídeo, visando a redução do progresso da incidência de HLB.

Outro aspecto importante relacionado à população de *D. citri* observada nos talhões da propriedade é a sua relação com o número de plantas com sintomas de HLB que são detectadas no ano seguinte. Como o período de incubação da doença, isto é, período entre a infecção e o aparecimento dos sintomas, pode variar de 6 a 18 meses (Bové, 2006), deve-se considerar que

a incidência de plantas infectadas com HLB num ano, geralmente é resultante das infecções ocorridas no ano anterior. Uma boa relação entre população de psilídeos observada e incidência de plantas com sintomas de HLB no ano seguinte seria esperada no caso de uma alta porcentagem de psilídeos infectivos na população total de psilídeos. Havendo esta relação bem estabelecida, poder-se-ia estimar qual seria o impacto futuro da doença baseado na população de insetos observada no ano e estabelecer limiares de densidade populacional de psilídeo que promovam uma incidência aceitável de plantas doentes no ano seguinte.

Desta forma, este estudo, por meio da análise de dados coletados em uma propriedade comercial de laranja, teve como objetivos:

- i) Avaliar a distribuição espaço-temporal do psilídeo e de plantas com sintomas de HLB, pela comparação de talhões internos da fazenda com talhões de borda, que margeiam matas e brejos no interior da fazenda, e do perímetro da propriedade, que confrontam vizinhos;
- ii) Verificar a influência da precipitação pluviométrica e o balanço hídrico com a população do psilídeo e a incidência de plantas com sintomas de HLB;
- iii) Verificar a existência de relação entre a população de *D. citri* com a incidência de plantas com HLB;
- iv) Comparar os métodos de monitoramento de *D. citri* por meio de inspeções periódicas realizadas de forma visual em brotações com o monitoramento com o uso de cartões adesivos amarelos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da área de estudo

Este estudo de caso foi realizado em uma fazenda de citros no município de Boa Esperança do Sul, no centro do Estado de São Paulo (Latitude 21°53'45" Sul, Longitude 48°37'56" Oeste), com altitude média de 490 metros e clima tropical com estação seca (Classificação climática de Köppen-Geiger: Cwa).

A propriedade, com área total de 6.664,14 hectares, era composta por mais de 250 talhões de aproximadamente 500 m de comprimento por 500 m de largura, totalizando em média 25 hectares por talhão (Figura 1). Toda área era plantada com laranja doce das variedades 'Hamlin' (3%), 'Rubi' (6%), 'Pera Rio' (28,5%), 'Valência' (43%), 'Natal' (19%) e 'Folha Murcha' (0,5%) e em diferentes combinações com os porta-enxertos limão 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck) (56%), citrumelo 'Swingle' [*Poncirus trifoliata* (L.) Ralf. X *C. paradisi* Macf.] (14%), tangerina 'Sunki' [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] (8,5%), laranja 'Caipira' [*C. sinensis* (L.) Osbeck] (8%), limão 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Tan. & Pasq.) (7%), tangerina 'Cleópatra' (*C. reshni* hort. ex Tanaka) (5%) e tangerina 'Suen Kat' (*C. reticulata* Blanco) (1,5%), com idades entre 1 a 25 anos. O espaçamento de plantio variou de 6,5 m na entrelinha x 2,5 m entre plantas a 8,0 m na entrelinha x 4,0 m entre plantas.



Figura 1. Vista aérea da fazenda localizada em Boa Esperança do Sul, SP (Google Earth).

2.2. Manejo do HLB na área de estudo

Na fazenda estuda da, todas as medidas de controle recomendadas para o manejo do HLB eram adotadas, incluindo o plantio de mudas saudias, monitoramento e controle de *D. citri* e inspeção e erradicação de plantas com sintomas da doença.

2.2.1. Monitoramento e controle de *Diaphorina citri*

Dois métodos de monitoramento de *D. citri* eram utilizados, sendo o primeiro deles a inspeção visual, comumente usada na inspeção de pragas chaves nos citros, e o segundo por meio da utilização de cartões adesivos amarelos.

Na inspeção visual, o inspetor de pragas era orientado para, ao se aproximar da planta, sem tocar na mesma e priorizando as brotações novas, fazer uma varredura visual em toda planta com o intuito de identificar a presença do psilídeo adulto antes que este voasse. Em seguida, eram inspecionadas três brotações por planta, com auxílio de lente de aumento de 10x, procurando ovos, ninfas e adultos (Figura 2A). Ao mês foram realizadas cinco inspeções visuais, sendo que em três delas eram inspecionadas 1% das plantas do talhão e, em duas, 0,5% das plantas. Adicionalmente, no início e final das ruas, inspecionava-se uma planta com vegetação nova, procedendo da mesma forma descrita acima.



Figura 2. Monitoramento de *Diaphorina citri*. A) Inspeção visual em brotos. B) Cartão adesivo amarelo.

O segundo método de detecção de *D. citri* consistiu na utilização de cartão adesivo amarelo quadriculado, de 10 cm por 30 cm, com cola dos dois lados (ISCA), que facilita a visualização e contagem dos adultos de *D. citri* capturados na armadilha (Figura 2B). Em cada talhão no interior da fazenda (Interior) foi instalado um cartão em uma das plantas localizadas no perímetro do talhão, preferencialmente nos locais com maior umidade, ou seja, aquelas regiões dos lotes que apresentavam plantas mais vigorosas, mesmo no período da seca. Nas plantas localizadas nos talhões do perímetro da fazenda (Perímetro) ou divisa com mata e brejo (Borda) foi instalado um cartão a cada 150 metros. Os cartões foram pendurados em uma haste de bambu, próximos às plantas, porém não encostados para que os mesmos não fossem danificados e na mesma altura do ponteiro das plantas, voltados para fora do talhão. Os cartões eram coletados semanalmente e avaliados pela contagem do número de psilídeos capturados, com o auxílio de lupa com aumento de 10x, no escritório para maior acurácia da leitura (Leonardo, 2014). Para a verificação do cartão foi orientado o inspetor a observar detalhadamente a asa do psilídeo, caracterizada por ter a borda escura e o centro transparente, e seguir a sequência dos quadrículos desenhados no cartão, afim de que partes do cartão não fossem avaliadas, além de inspecionar também as partes do cartão com cola, mesmo que estivessem fora dos quadrículos. A detecção de apenas uma asa de *D. citri* foi considerada como presença do psilídeo no cartão.

O controle do psilídeo era realizado por meio de aplicações de inseticidas com turbopulverizador. Para aplicações exclusivas para o controle de insetos vetores (psilídeos e cigarrinhas), o volume de calda utilizado era de 1.000 L/ha. E aplicações para o controle do ácaro da leprose, realizadas 1,5 vezes ao ano, o inseticida para o controle do psilídeo era misturado ao acaricida no tanque de pulverização e o volume de calda aplicado era de 3.000 L/ha. Para aplicações visando o controle do ácaro da falsa ferrugem ou do fungo agente causal da pinta preta dos citros, realizadas de 4 a 6 vezes ao ano, o inseticida era misturado ao acaricida ou ao fungicida no tanque de pulverização e o volume de calda aplicado era de 1.500 a 2.000 L/ha. Estas aplicações foliares seguiram o regime de calendário, com intervalos entre aplicações variados em função do risco, isto é, talhões com plantas até dois anos recebiam aplicações a cada sete dias, enquanto que talhões com plantas acima de dois anos recebiam aplicações a cada 15 dias quando localizados no Perímetro da fazenda ou em Borda de mata e brejo, e a cada 30 dias quando localizados internamente. Em todos os casos, se fosse detectado o inseto em áreas já pulverizadas, a aplicação era repetida no máximo em três dias e preferencialmente no próximo turno de trabalho. Nas aplicações foliares eram alternados inseticidas dos grupos químicos piretróides, organofosforados e neonicotinóides, priorizando o uso de produtos com

largo espectro de ação entre as pragas (Tabela 1). Nos pomares com até dois anos de plantio, também eram realizadas duas aplicações do inseticida sistêmico imidacloprido, grupo químico dos neonicotinóides, via *drench*, a cada 60 dias, no período das águas. As pulverizações realizadas em regime de calendário seguiram um esquema sequencial de blocos dentro da fazenda, de forma a evitar a ocorrência de talhões não pulverizados.

Tabela 1. Grupo químico, ingrediente ativo, produto comercial e doses dos inseticidas utilizados em pulverização foliar para o controle de *Diaphorina citri* na área de estudo.

Grupo químico	Ingrediente ativo	Produto comercial	Dose (g ou mL/100 L de água)
Organofosforado	Dimetoato	Dimexion CE	100
	Clorpirifós	Nufos 480 CE	100
Piretróide	Bifentrina	Talstar 100 CE	20
	Beta-ciflutrina	Turbo	10
	Fenpropatrina	Danimen 300 CE	25
Neonicotinóide	Imidacloprido	Provado 200 SC	20

Além das aplicações terrestres de inseticidas em calendário, também se adotava a pulverização aérea em toda a fazenda, no período de uma semana, de acordo com o monitoramento regional do psilídeo e as recomendações do Alerta Fitossanitário do Fundecitrus. Ao ano foram realizadas de cinco a seis pulverizações aéreas, usando nestas aplicações um inseticida piretróide.

2.2.2. Detecção e erradicação de plantas com sintomas de HLB

Para a detecção de plantas com sintomas de HLB, todas as plantas da área de estudo foram inspecionadas, em intervalos de sete a oito semanas, respeitando a inspeção de um lado da rua na ida e do outro lado na volta. Em pomares jovens, a inspeção era feita por inspetores a pé, os quais caminhavam ao lado das plantas e mantinham distância suficiente para visualização total da copa da planta inspecionada. Em pomares adultos, a inspeção era realizada com o uso de plataforma acoplada ao trator, pela observação de todas as partes da copa da planta (ponteiro, meio e saia da planta) (Figura 3).

As plantas com presença de sintomas típicos do HLB, como folhas com mosqueado e engrossamento da nervura, frutos deformados, com sementes abortadas e columela com feixes alaranjados próximos a região de inserção com o pedúnculo, eram marcadas para serem erradicadas. Plantas com diagnóstico visual para HLB duvidoso recebiam identificação diferente para coleta de amostra, a qual era enviada ao laboratório para teste de detecção da presença da bactéria associada ao HLB. Uma vez confirmado o diagnóstico da doença por sintomas ou análise laboratorial, a erradicação das plantas com sintomas de HLB era feita num prazo de sete dias.



Figura 3. Inspeção de pomar de laranja adulta com o uso de plataforma acoplada ao trator, usada no período de estudo para a detecção de plantas com sintomas de Huanglongbing.

2.3. Análise dos dados

Foram analisados os dados de ocorrência de psilídeo e de plantas com sintomas de HLB de cada talhão, referentes ao período de julho de 2012 a junho de 2014.

2.3.1. Avaliação da distribuição espaço-temporal de *Diaphorina citri* e de plantas com HLB

Para as análises da distribuição espaço-temporal de *D. citri* e de plantas com sintomas de HLB na fazenda, os talhões foram separados em talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) e em talhões internos (Interior A), representando 30% e 70% da área de citros da fazenda, respectivamente (Figura 4). Também foram separados em talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro+Borda) e em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B), representando, respectivamente, 44% e 56% da área de citros da fazenda (Figura 5).

A incidência de *D. citri* nos cartões adesivos amarelos (número de insetos capturados/cartão adesivo amarelo) em cada mês foi comparada entre os talhões de Perímetro e Interior A e, também, entre talhões de Perímetro+Borda e Interior B. Posteriormente, calculou-se a razão da incidência de psilídeo entre os talhões de Perímetro e Interior A e, também, entre talhões de Perímetro+Borda e Interior B, para todo o período avaliado.

A mesma análise foi realizada para a incidência de plantas com HLB eliminadas (número plantas erradicadas/número de plantas totais nos talhões).

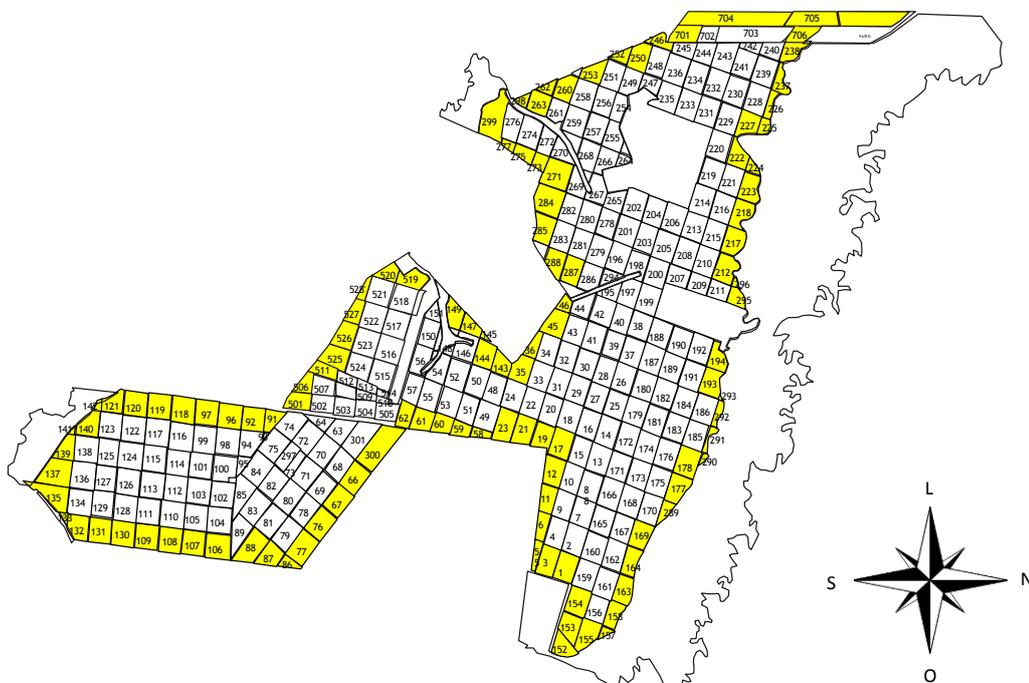


Figura 4. Divisão dos talhões em função da sua localização: Perímetro – talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda (em amarelo) e Interior A – talhões do interior da fazenda (em branco).

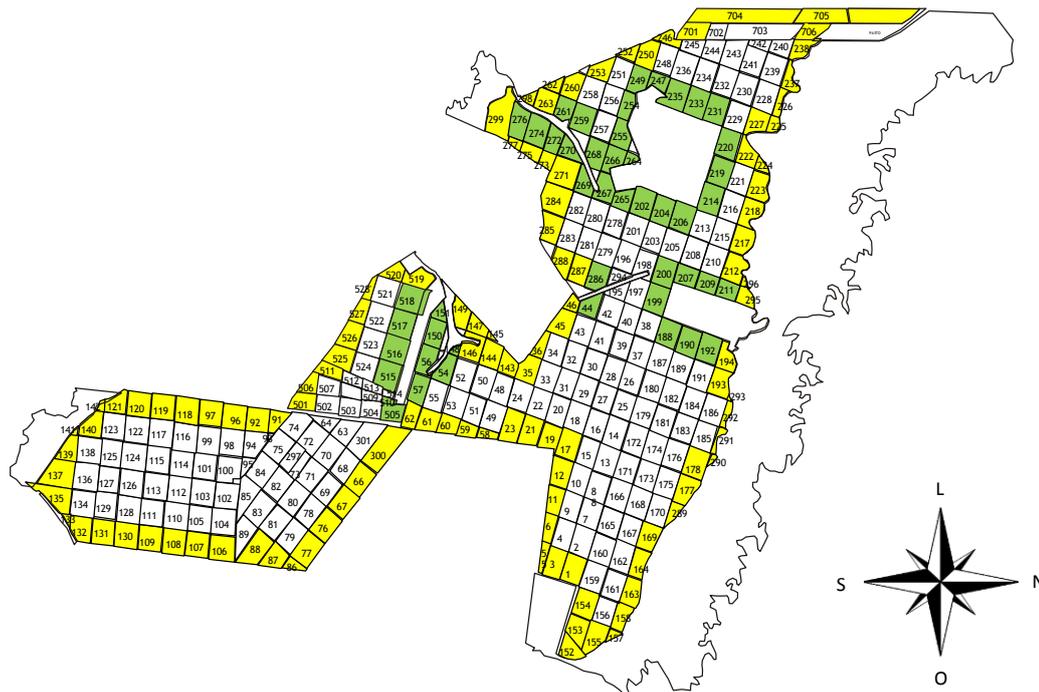


Figura 5. Divisão dos talhões em função da sua localização: Perímetro+Borda – talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos (em amarelo e verde) e Interior B – talhões totalmente cercados por outros talhões (em branco).

2.3.2. Influência da precipitação pluviométrica e do balanço hídrico no progresso temporal das populações de *Diaphorina citri* e de plantas com HLB

Nesta avaliação, de dois anos, considerou-se toda a ocorrência de *D. citri* nos cartões adesivos amarelos (número de insetos capturados) em cada mês e também a ocorrência de *D. citri* constatada nas inspeções visuais de pragas realizadas no decorrer do mesmo mês. Também foi analisada a ocorrência mensal de plantas sintomáticas. Com essas informações verificou-se, por meio do coeficiente de Pearson, o grau e a direção da correlação entre as populações de *D. citri*, capturadas em cartões adesivos amarelos e detectadas na inspeção visual, e a detecção de plantas com sintomas de HLB com a precipitação pluviométrica acumulada e balanço hídrico, no mesmo mês da detecção do inseto e das plantas doentes, com mês anterior à detecção e do mês anterior ao mês anterior à detecção, com auxílio do programa Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa).

O balanço hídrico foi determinado pelo balanço de massas de água no volume de solo explorado pelo sistema radicular, que, conforme Libardi (2005), leva em consideração a variação de armazenamento de água no solo (Δh) entre as leituras consecutivas e as entradas de

água do sistema, através das precipitações (P) e das irrigações (I), e saídas de água do sistema, através da evapotranspiração da cultura (ETc) diária, da drenagem profunda (D) e a ascensão capilar (AC). Informações estas obtidas por uma estação meteorológica básica e pelas leituras em campo do volume diário irrigado e dos dados de tensiometria.

2.3.3. Correlação da ocorrência de *Diaphorina citri* com a erradicação de plantas com HLB

Inicialmente, comparou-se a flutuação da detecção de psilídeo e de plantas com sintomas de HLB ao longo do tempo, a partir dos dados mensais de julho de 2012 a junho de 2014, dispostos em gráfico. Posteriormente, o grau e a direção da correlação entre as populações de *D. citri* de julho de 2012 a junho de 2014 e as erradicações de plantas nos meses seguintes à detecção do psilídeo por meio da análise de correlação e coeficiente de Pearson, com auxílio do programa Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa).

Também foi avaliada a relação entre o número acumulado de plantas com sintomas de HLB em 2013/14 e o número acumulado de psilídeos detectados por cartões adesivos amarelos no ano anterior (2012/13) para cada talhão da propriedade, considerando a sua localização.

2.3.4. Comparação dos métodos de monitoramento de *Diaphorina citri*

Inicialmente foram calculados os índices mensais de detecção de psilídeo pelo método de monitoramento com cartão adesivo amarelo (número de psilídeos capturados no mês por cartão adesivo amarelo) e por inspeção visual de ramos (número de psilídeos observados no mês por ramo inspecionado) para toda a propriedade. Em seguida, as médias foram comparadas por meio do teste t a 5% de significância, onde cada mês, no período de julho de 2012 a junho de 2014, foi considerado como uma repetição.

Em seguida, foi verificado se o número de ocorrências do psilídeo (detecção da presença do inseto) nos talhões, em determinado método de monitoramento, difere em relação à idade ou altura das plantas e se, numa mesma faixa de idade ou altura, um método é mais eficaz que outro. Para isso, em cada mês calculou-se a porcentagem de talhões onde a presença do psilídeo foi detectada pelo monitoramento por cartões adesivos amarelos e pela inspeção visual de ramos. Em seguida, as médias das porcentagens de talhões com a presença do psilídeo em cada método de monitoramento para cada faixa de idade ou altura (de 0 a 5 anos ou até 2,5 m de altura, e acima de 5 anos ou acima de 2,5 m de altura) foram comparadas por meio do teste t a 5% de significância, onde cada mês, no período de julho de 2012 a junho de 2014, foi

considerado como uma repetição. Posteriormente, para cada tipo de método de monitoramento, as porcentagens médias de cada faixa de idade foram comparadas da mesma maneira.

Para os dados de inspeção visual, o número de ovos, ninfas e adultos observados em cada mês foram transformados em raiz quadra de $(x+1)$ e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, considerando cada mês como uma repetição.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliação da distribuição espaço-temporal de *Diaphorina citri* e de plantas com HLB

Durante o período de estudo, foram capturados adultos de *D. citri* nos cartões adesivos amarelos em todos os meses, exceto nos meses de abril e julho de 2013. Os maiores picos populacionais de psíldeo tanto em 2012 e como em 2013 foram observados nos meses de agosto a novembro. Picos menores ocorreram nos meses de maio a junho de 2013 e de março a junho de 2014 (Figura 6). Observações semelhantes em outras localidades do estado de São Paulo foram feitas por Yamamoto et al. (2001), Costa et al. (2006) e Santos (2013), confirmando o principal aumento da população do psíldeo durante o final do inverno, primavera e verão, quando ocorre a emissão intensa de fluxos vegetativos nas plantas de citros, e populações menores no final do verão.

Adicionalmente, observou-se que houve tendência de queda da população de psíldeos capturados ao longo do tempo, pois os picos de agosto a dezembro de 2013 foram bem menores quando comparados ao mesmo período de 2012 (Figura 6). De julho de 2012 a junho de 2013, a média da incidência de psíldeos capturados nos cartões foi de 0,08 e 0,03 psíldeos/cartão, respectivamente nos talhões de Perímetro e nos talhões de Interior A. Nos 12 meses seguintes, a média da incidência de psíldeos capturados nos cartões foi de 0,03 psíldeos/cartão e 0,02 psíldeos/cartão, respectivamente nos talhões de Perímetro e nos talhões Interior A, representando respectivamente uma queda de 63% e 33% na incidência de psíldeo (Figura 6A). Esta redução observada pode ser explicada pelo intenso manejo realizado dentro da propriedade somado à erradicação de pomares da região, uma redução no número de propriedades em torno de 65% (Figura 7).

Mesmo com um manejo mais intensivo nos talhões de Perímetro, a incidência de psíldeos capturados nos cartões localizados nestes talhões sempre foi maior comparado com a população capturada nos cartões localizados nos talhões Interior A, com exceção dos meses de julho de 2012, março, abril e julho de 2013 e janeiro e fevereiro de 2014 (Figura 6A), quando a população de psíldeo foi muito baixa (0 a 0,009 psíldeo/cartão). Em média, a população de *D. citri* capturada nos talhões de Perímetro foi 4,3 vezes superior à população nos talhões do Interior A, sendo maior em cinco vezes nos meses de outubro e dezembro de 2012, janeiro e junho de 2013 e março e abril de 2014 (Figura 8). Este resultado corrobora com Sétamou & Bartels (2015) que observaram maior densidade populacional do psíldeo nos talhões localizados na divisa da propriedade em relação aos talhões internos. Boina et al. (2009)

observaram constante dispersão do psilídeo entre pomares, principalmente de pomares sem aplicação de inseticidas para pomares com aplicação de inseticida, com tendência de se concentrar nas plantas próximas à periferia dos talhões. Como o controle do psilídeo era realizado frequentemente na propriedade deste estudo, este resultado indica que a maior parte dos psilídeos capturados foi advinda de outras propriedades que não tem manejo adequado ou mesmo de plantas de quintais que não recebem nenhum controle do vetor.

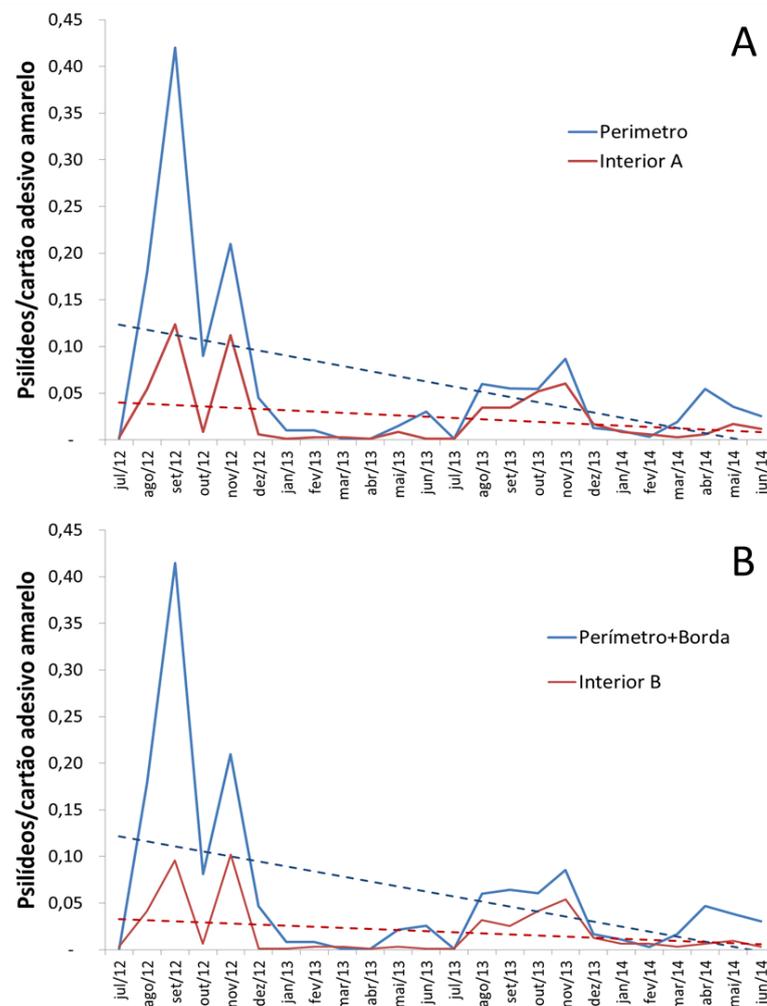


Figura 6. Incidência de *Diaphorina citri* em cartões adesivos amarelos da fazenda. (A) Talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) e talhões internos (Interior A). (B) Talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro + Borda) e em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). As linhas de tendência pontilhadas representam a regressão linear entre a incidência de psilídeos e o tempo.

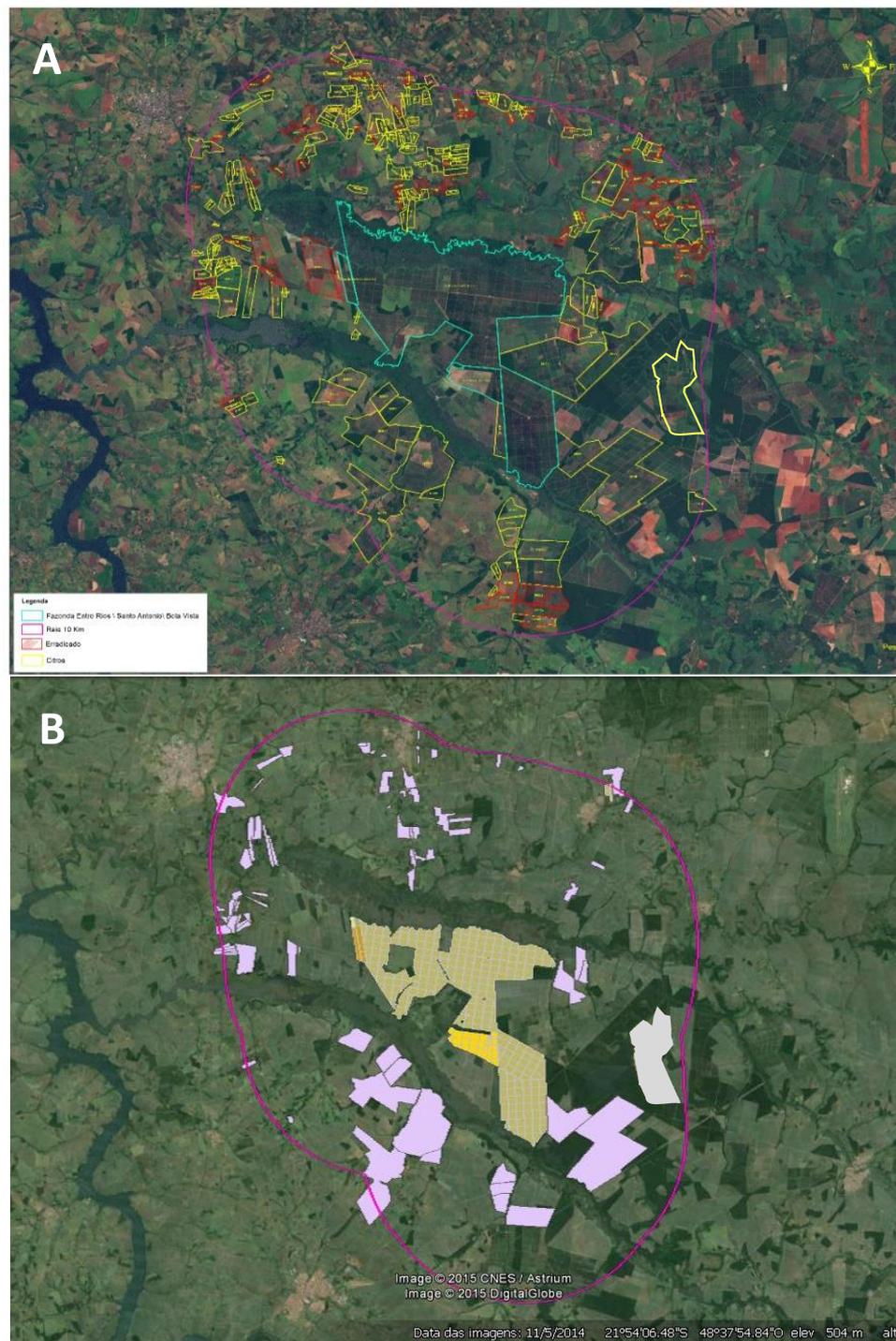


Figura 7. Propriedades de citros em um raio de 10 km (contorno em rosa) ao redor da fazenda do estudo, em 2012 (A) e em 2014 (B) (Imagens do Google Earth). (A) –Propriedade do estudo (contorno azul), propriedades vizinhas com erradicação de plantas com Huanglongbing e controle de *Diaphorina citri* (contorno amarelo) e propriedades vizinhas que não fazem o manejo de Huanglongbing (contorno vermelho). (B) – Propriedade do estudo (polígonos em marrom e amarelo) e propriedades vizinhas que restaram na região (polígonos em branco e rosa).

Após combinar os dados de psilídeo dos talhões de Perímetro aos dados dos talhões de Borda (talhões vizinhos a matas e brejos), foi possível observar que a diferença da incidência de psilídeos aumentou, em média, 49% (Figura 6B). Em média, as populações de psilídeo capturadas nestes talhões foram 6,4 vezes superiores às populações dos talhões totalmente cercados por outros talhões da fazenda, sendo maiores que 5 vezes nos meses de outubro e dezembro de 2012, maio e junho de 2013 e março, abril e junho de 2014 (Figura 8). Este resultado indica que as matas e brejos que margeiam os talhões internos podem conter plantas de citros e de outras hospedeiras do psilídeo, assim como as plantas de citros próximas às matas e brejos apresentam maior vegetação em função da maior umidade nesta área e, por estarem na interface entre citros e não citros, acumulam maior quantidade de psilídeos durante sua dispersão. Portanto, este resultado justifica a necessidade de monitoramento e de maior controle do vetor nas áreas de bordas internas da propriedade.

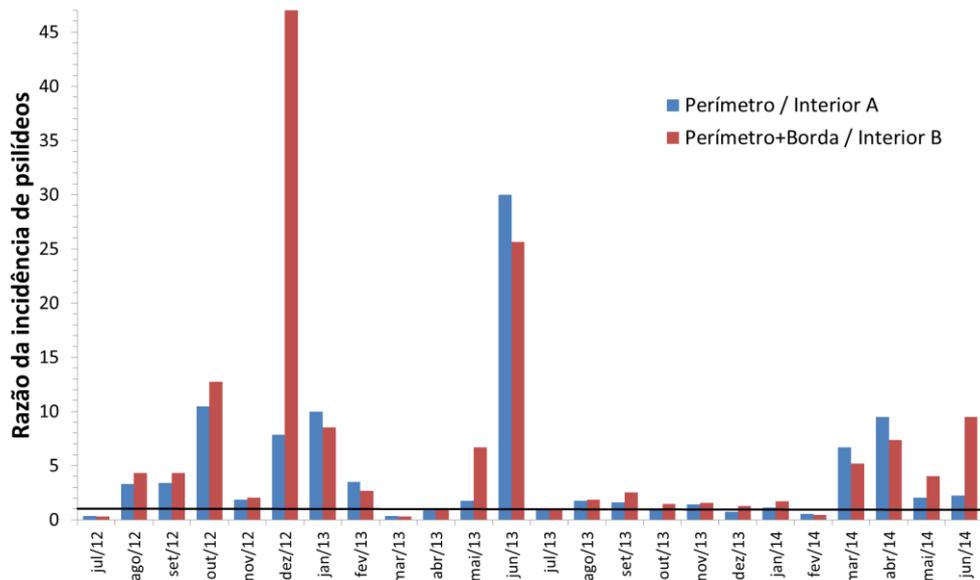


Figura 8. Razão da incidência de *Diaphorina citri* em cartões adesivos amarelos em talhões externos e internos da fazenda. Coluna azul representa a razão da incidência de psilídeo em talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) / incidência em talhões internos (Interior A). Coluna vermelha representa a razão da incidência de psilídeo em talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro+Borda) / incidência em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). Linha preta indica a razão igual a um, isto é, a incidência em talhões externos é igual a de talhões internos.

Com relação à incidência de plantas com sintomas de HLB, também se observou maior incidência na área de Perímetro que no Interior A em quase todo o período analisado. A incidência acumulada de plantas com HLB no Perímetro foi de 4,20%, enquanto que no Interior A foi de 1,52% ou 2,8 vezes menor (Figura 9A). Comparando a incidência acumulada do primeiro ano com a incidência acumulada do segundo ano, no Perímetro houve um aumento de 25% (de 1,87% para 2,34%), enquanto que no Interior A houve uma redução de 79% (de 1,25% para 0,26%).

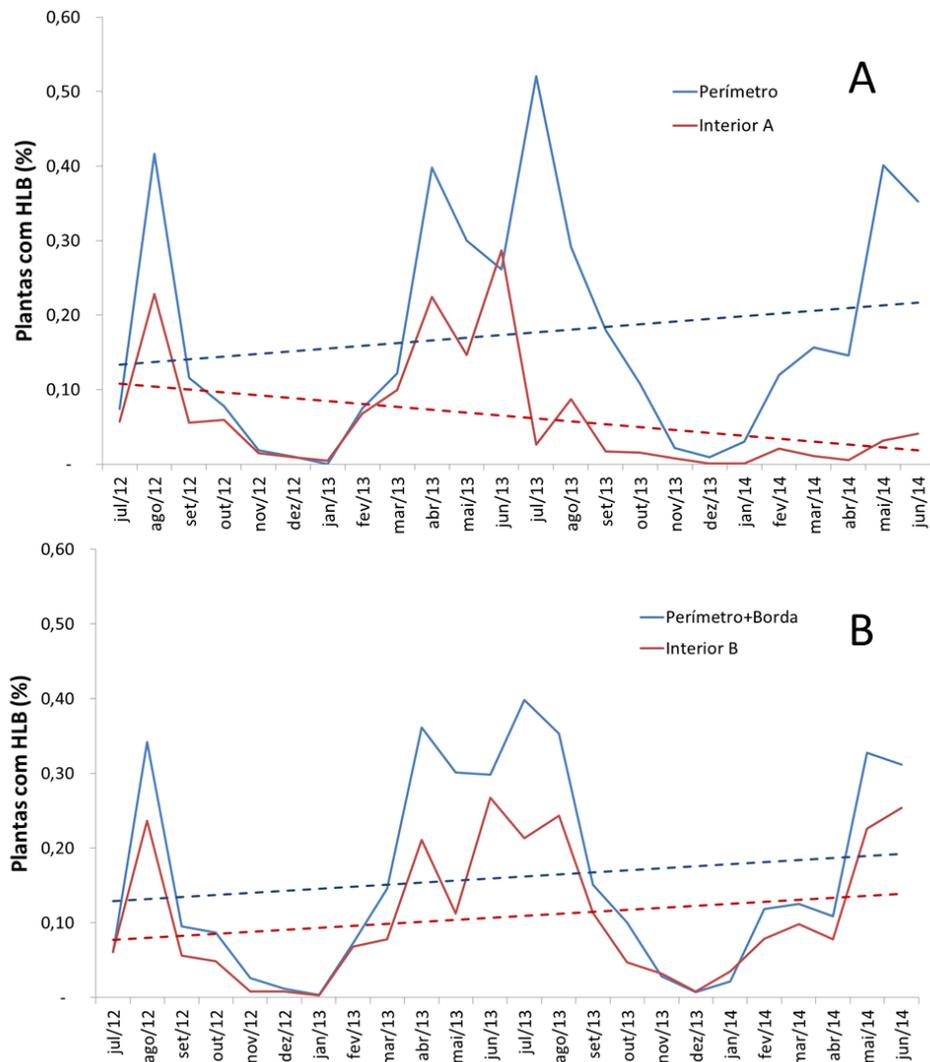


Figura 9. Incidência de plantas com Huanglongbing (HLB) da fazenda. (A) Talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) e talhões internos (Interior A). (B) Talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro + Borda) e em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). As linhas de tendência pontilhadas representam a regressão linear entre a incidência de plantas com HLB e o tempo.

A incidência acumulada de plantas com HLB na área do Perímetro+Borda também foi maior que a incidência acumulada no Interior B (3,86% contra 2,59%). Entretanto, não foi observada redução da incidência de um ano para outro, tanto no Perímetro+Borda (de 1,81% para 2,05%), quanto no Interior B (de 1,16% para 1,43%) (Figura 9B).

Estes resultados corroboram com os resultados de Bassanezi et al. (2005), Gottwald et al. (2008) e Beloti (2010), que apontam para uma incidência de plantas doentes maior nas áreas de interface do plantio de citros com áreas sem citros, tanto na divisa da propriedade, como nas plantas da periferia dos talhões que apresentam espaços formados por carregadores, canais, represas, matas, galpões de máquinas, sedes, *bins*, etc. Em propriedades com um bom manejo da doença, é comum observar um gradiente decrescente de plantas com sintomas de HLB da divisa da propriedade para o seu interior (Gottwald et al., 2008).

Diferente do comportamento das populações do inseto vetor, que reduziu comparando o primeiro e o segundo ano, a ocorrência de plantas infectadas com HLB aumentou de uma safra para outra mesmo com a manutenção de um bom manejo na fazenda, com exceção apenas da incidência dos talhões do Interior A. Isto mostra a importância de se manejar a doença também externamente à propriedade.

Na Figura 10, observa-se um aumento considerável na razão da incidência de plantas com HLB do Perímetro/Interior A nos últimos 12 meses, resultante da manutenção do número de plantas doentes no Perímetro e da redução das plantas doentes no Interior A. Em média a razão Perímetro/Interior A foi 7,8 (1,3 no primeiro ano e 14,2 no segundo). Já a razão Perímetro+Borda/Interior B foi próxima durante as duas safras (1,7 no primeiro ano e 1,3 no segundo). Este resultado indicou que as plantas dos talhões do Perímetro estavam mais predispostas ao inseto infectivo proveniente de propriedades ou plantas sem o manejo da doença que as plantas dos talhões internos, inclusive dos de borda de matas e brejos. Embora tenham sido capturados insetos nos talhões próximos às matas e brejos, estes psílídeos encontrados estariam menos infectivos.

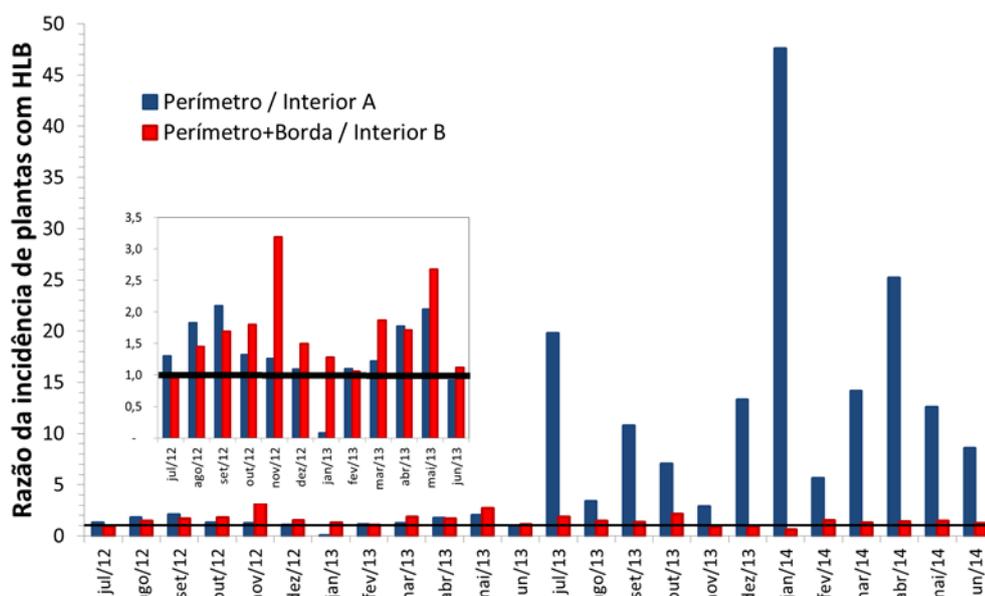


Figura 10. Razão da incidência de plantas com Huanglongbing (HLB) em talhões localizados externa e internamente da fazenda. Coluna azul representa a razão da incidência de HLB em talhões localizados imediatamente no perímetro externo da fazenda (Perímetro) / incidência de HLB em talhões internos (Interior A). Coluna vermelha representa a razão da incidência de HLB em talhões localizados imediatamente no perímetro da fazenda e vizinhos a matas e brejos localizados dentro da fazenda (Perímetro+Borda) / incidência de HLB em talhões totalmente cercados por outros talhões (Interior B). Linha preta indica a razão igual a um, isto é, a incidência em talhões externos é igual à de talhões internos.

3.2. Influência da precipitação pluviométrica e do balanço hídrico no progresso temporal das populações de *Diaphorina citri* e de plantas com HLB

Não foram observadas correlações significativas entre a população de *D. citri* com o balanço hídrico. Correlação significativa ($P < 0,05$) e moderada entre a população de *D. citri* capturada em cartão adesivo amarelo e a precipitação pluviométrica mensal somente foi observada quando se considerou a precipitação pluviométrica do mês anterior e de dois meses atrás da captura do psilídeo nos cartões. A correlação entre a população do psilídeo observada por inspeção visual de brotos e a precipitação pluviométrica somente foi significativa, mas mesmo assim moderada, quando se considerou a precipitação de dois meses atrás da observação visual. Em ambos os casos, esta correlação foi negativa, o que indica que quanto maior a precipitação pluviométrica, menor a população de insetos detectados (Tabela 2).

Tabela 2. Coeficiente de Pearson da correlação entre a população de *Diaphorina citri* capturada em cartões adesivos amarelos ou observada em inspeções visuais com a precipitação pluviométrica e balanço hídrico do mês da detecção, do mês anterior e de dois meses atrás.

População de psilídeo detectada	Precipitação pluviométrica acumulada			Balanço hídrico		
	Do mês	Do mês anterior	De dois meses atrás	Do mês	Do mês anterior	De dois meses atrás
Cartão Adesivo	-0,15	-0,51*	-0,49*	0,25	-0,33	-0,23
Inspeção Visual	-0,10	-0,32	-0,47*	0,06	-0,11	-0,22

* Correlação significativa ($P < 0,05$).

Analisando-se a Figura 11, observou-se que o início do aumento populacional do psilídeo se deu no final do inverno e início da primavera (agosto a setembro). Após o início da estação chuvosa, na primavera, a população do psilídeo se manteve alta, mas com a intensificação das chuvas no verão, a população tendeu a reduzir significativamente. Chuvas intensas podem eliminar ovos e ninfas das brotações e forçar os adultos a se refugiar na parte abaxial de folhas, no interior da copa ou parte baixa das plantas, reduzindo sua dispersão e diminuindo sua detecção no período e no mês seguinte (Regmi & Lama, 1988). Precipitações mensais acima de 150 mm causaram grande redução na detecção de psilídeos (Figura 11). Isto explicaria a correlação negativa e fraca entre a quantidade de psilídeos e a precipitação pluviométrica observada neste estudo.

A presença de brotações nas plantas de citros, condição essencial para oviposição e desenvolvimento de ninfas do psilídeo (Gallo et al., 2002), é associada à quebra de estresse hídrico da planta resultante do início das precipitações pluviométricas. Uma vez iniciada a brotação, conseqüentemente há um aumento da população do inseto vetor, independente das chuvas. Monteiro (2013) observou correlação significativa e positiva entre o número de adultos de *D. citri* capturados em cartões adesivos amarelos e a quantidade de brotações 15 e 30 dias antes da avaliação dos cartões, tanto na área com manejo de HLB, como na área vizinha sem manejo, mas não observou correlação significativa entre o número de adultos de *D. citri* capturados em cartões adesivos amarelos e a precipitação pluviométrica ocorrida na data da avaliação, 15 ou 30 dias anteriores à avaliação dos cartões.

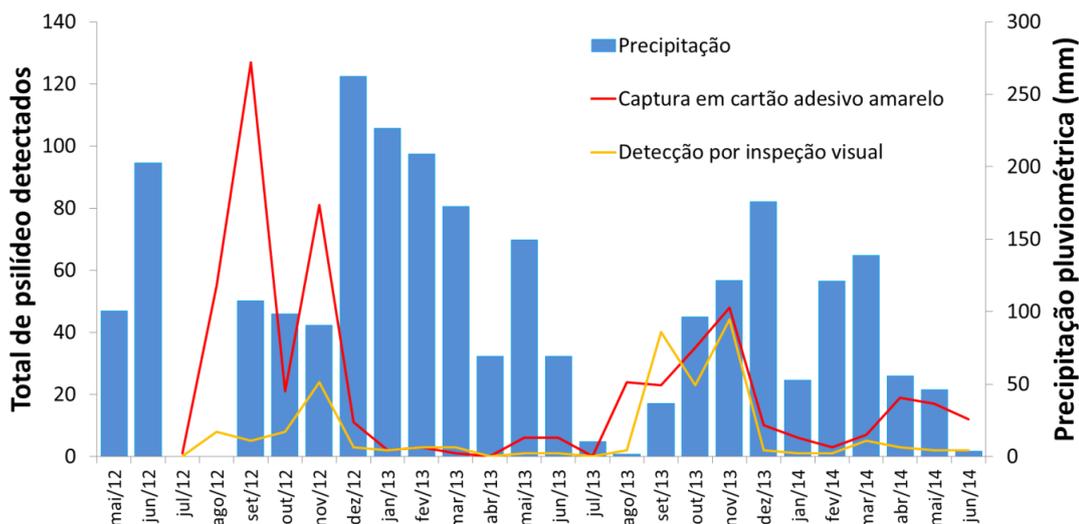


Figura 11. Ocorrência de *Diaphorina citri* capturado em cartões adesivos amarelos e observado nas inspeções visuais e precipitação pluviométrica mensal.

A ocorrência mensal de plantas com sintomas de HLB apresentou uma correlação significativa ($P < 0,05$), moderada e negativa com a precipitação pluviométrica acumulada e com o balanço hídrico no mesmo mês (Coeficiente de Pearson = -0,58 e -0,44) (Tabela 3), indicando que a expressão dos sintomas de HLB pode ter sido influenciada pela condição de estresse hídrico da planta se encontra. Com o aumento das chuvas, conseqüentemente induz aumento do balanço hídrico e há uma tendência de redução na quantidade de plantas detectadas com HLB e, conseqüentemente de plantas erradicadas, chegando mesmo próximo de zero nestes períodos chuvosos. Quando o balanço hídrico está menor, há um aumento significativo no aparecimento de sintomas em plantas com HLB, conseqüentemente um aumento no número de plantas erradicadas (Figura 12).

Tabela 3. Coeficiente de Pearson da correlação entre o número de plantas com sintomas de Huanglongbing detectadas no mês com a precipitação pluviométrica e o balanço hídrico do mês da detecção, do mês anterior e de dois meses atrás.

	Precipitação pluviométrica acumulada			Balanço hídrico		
	Do mês	Do mês anterior	De dois meses atrás	Do mês	Do mês anterior	De dois meses atrás
Plantas com HLB	-0,58*	-0,33	0,15	-0,44*	-0,34	-0,00

* Correlação significativa ($P < 0,05$).

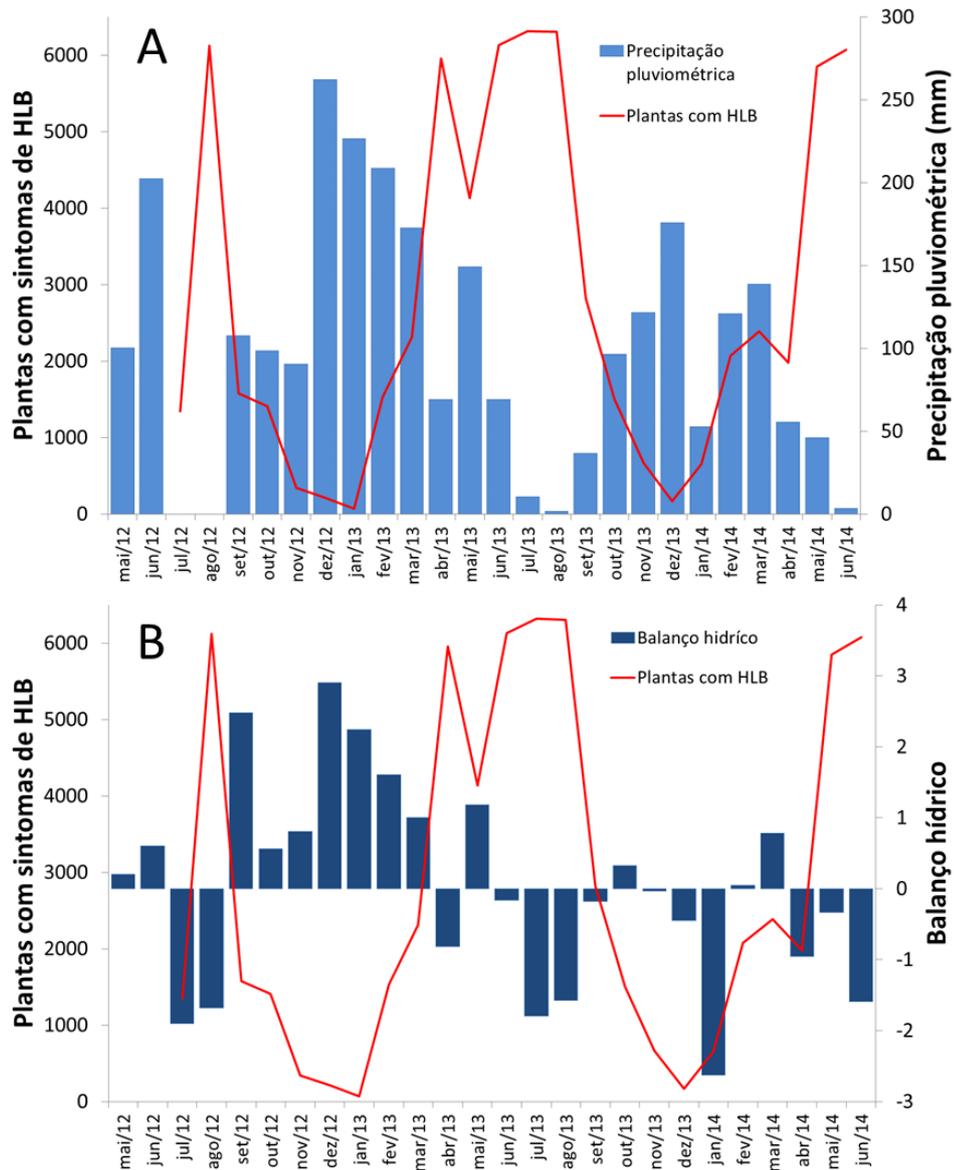


Figura 12. Número de plantas com sintomas de Huanglongbing e a precipitação pluviométrica acumulada (A) e o balanço hídrico (B) mensais, nas safras 2012/13 e 2013/14.

Após a infecção da planta por *Ca. L. asiaticus*, a bactéria transloca-se rapidamente para o sistema radicular da planta, causando significativa perda de raízes fibrosas (massa do sistema radicular 26% menor nas plantas infectadas), antes mesmo do aparecimento dos sintomas da doença nas folhas (Johnson et al., 2014). A diminuição do sistema radicular da planta infectada reduz sua capacidade de absorção de água e nutrientes, tornando a mesma mais sensível a estresses bióticos e abióticos, como a falta de água, em relação a uma planta sadia, e assim favorecendo a expressão dos sintomas da doença no período de maior estresse. Maiores concentrações de bactérias nas folhas são observadas durante os períodos de dormência da

planta, quando não está vegetando, e as temperaturas são menores. A presença da bactéria nas folhas induz a formação de estruturas de obstrução no floema (calose), interrompendo a translocação de carboidratos do floema e acumulando amido, que, por sua vez, induz o aparecimento de sintomas de clorose nas folhas infectadas a árvore (Folimonova et al., 2009). Os sintomas foliares se tornam mais aparentes, explicando, em parte, a relação que existe entre o estresse hídrico e o aparecimento de sintomas de HLB.

Outro fator importante que deveria ser avaliado é a radiação solar no período, que pode acelerar a produção e acúmulo de amido nas folhas, causando o rompimento dos cloroplastos caso o amido atinja concentrações elevadas e induzindo o sintoma de clorose nas folhas. Embora os dias sejam mais longos no verão a radiação acumulada é menor que nos dias de inverno por causa dos dias nublados nos meses de chuva.

Esta variação sazonal na detecção de plantas com HLB, observada neste estudo, corrobora com as observações anteriores de Bassanezi (2012). No estado de São Paulo, o aumento do número de plantas sintomáticas ocorre a partir de fevereiro e se estende até o mês de outubro, sendo que os maiores picos de detecção pelas equipes de inspetores são observados nos meses de abril a agosto.

3.3. Correlação da ocorrência de *Diaphorina citri* com a incidência de plantas com HLB

Tanto em 2012 como em 2013, o pico populacional do psilídeos capturados nos cartões adesivos e detectados nas brotações foi observado de agosto até novembro (final do inverno e toda a primavera), o qual reduz drasticamente a partir de dezembro devido às maiores ocorrências de chuva (Figura 13). Este resultado corrobora com os resultados apresentados por Yamamoto et al. (2001), Costa et al. (2006) e Santos (2013) em estudos realizados no estado de São Paulo. Picos menores de psilídeo foram observados também no outono, nos meses de maio e junho de 2013 e de abril a junho em 2014, que podem estar relacionados com a vegetação de março.

Quanto ao número de plantas erradicadas com sintomas de HLB, observou-se pequena quantidade de plantas erradicadas nos meses de novembro a janeiro (menos de 1.000 plantas por mês ou 0,017% do total da fazenda). A partir de fevereiro o número de plantas erradicadas aumentou significativamente e atingiu os maiores picos entre abril e agosto, diminuindo a partir de setembro (Figura 13), conforme observado por Bassanezi (2012) em diversas fazendas do estado de São Paulo.

O número de psilídeos capturados nos cartões adesivos amarelos e o número total detectado mostraram correlação significativa moderada e negativa com o número de plantas

erradicadas nos dois e três meses posteriores à detecção do inseto (Tabela 4), significando que nos dois a três meses posteriores às maiores detecções do inseto ocorreram as menores ocorrências de plantas sintomáticas. A correlação entre o número de psíldeos e o número de plantas erradicadas foi significativa moderada e positiva de oito a dez meses após a detecção dos psíldeos, sendo de oito meses para a detecção visual e de nove a dez meses para a captura de adultos em cartão adesivo amarelo, correspondendo com a época mais favorável para o aparecimento de sintomas de HLB nas plantas. Este período representa o tempo entre a inoculação da bactéria na planta pelo psíldeo e a detecção dos sintomas nas plantas pelas equipes de inspeção, podendo ser igual ou maior que o período de incubação da doença.

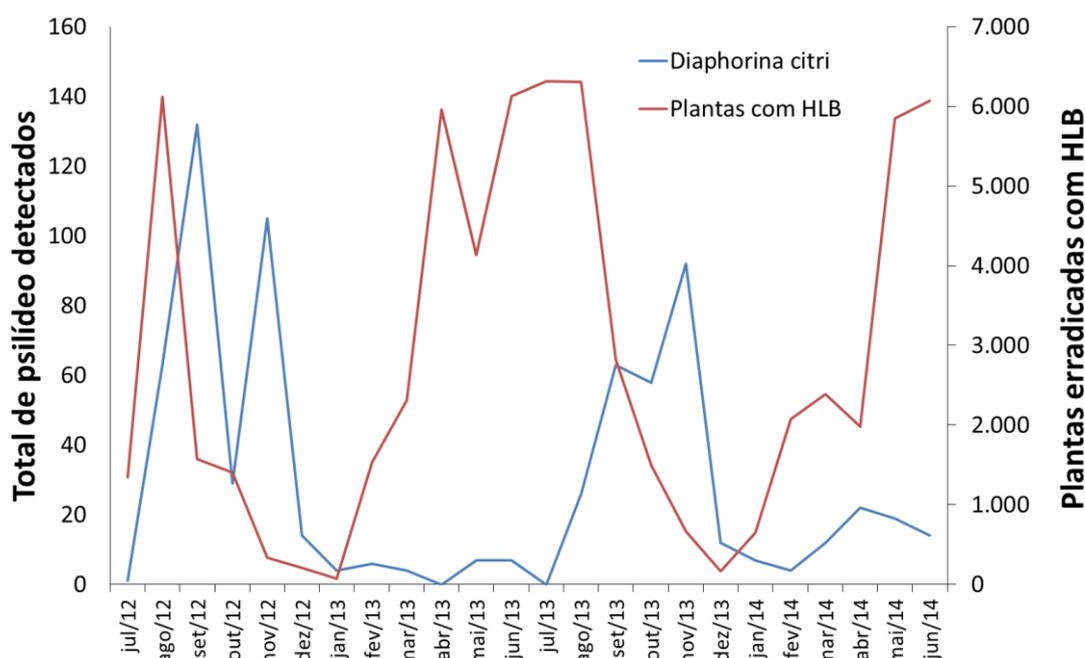


Figura 13. Número total de *Diaphorina citri* capturados em cartão adesivo amarelo e detectados na inspeção visual e número de plantas com sintomas de Huanglongbing, nas safras 2012/13 e 2013/14.

Estas informações corroboram com Rossetti (2001) e Bové (2006), que descrevem que os sintomas do HLB aparecem cerca de seis meses a dois anos após a infecção, porém são de maior precisão para determinação do período de incubação da doença nas condições da região central do estado de São Paulo. Esta informação é relevante, pois enfatiza a maior necessidade de controle nos períodos de maior taxa de infecção, que ocorrem justamente nos períodos de maior ocorrência do psíldeo.

O menor período observado entre a detecção visual do inseto e a detecção das plantas sintomáticas em relação ao período entre a captura de insetos nos cartões adesivos amarelos e a detecção das plantas sintomáticas poderia ser explicado pelo fato de que a captura do inseto no cartão não necessariamente indica que o mesmo teve chance de se alimentar nas plantas e inocular a bactéria, mas sim indicando sua chegada na área. Por sua vez, o inseto quando visualizado nos brotos da planta provavelmente já poderia ter se alimentado na planta e inoculado a bactéria.

Tabela 4. Coeficiente de Pearson da correlação do número de insetos detectados na inspeção visual e na captura com o uso de cartão adesivo amarelo com o número de plantas com sintomas de HLB erradicadas no mesmo mês e nos meses seguintes, até completar um ano.

Plantas erradicadas com HLB	Número de psilídeos		
	Detecção na inspeção visual	Captura em cartão adesivo amarelo	Total de insetos detectados
No mesmo mês	-0,30	-0,14	-0,17
1 mês após	-0,58	-0,49	-0,53
2 meses após	-0,57	-0,61*	-0,64*
3 meses após	-0,44	-0,62*	-0,63*
4 meses após	-0,24	-0,55	-0,53
5 meses após	0,28	-0,15	-0,09
6 meses após	0,26	-0,04	0,00
7 meses após	0,50	0,51	0,54
8 meses após	0,65*	0,53	0,58*
9 meses após	0,54	0,65*	0,67*
10 meses após	0,25	0,62*	0,60*
11 meses após	-0,11	0,40	0,35
12 meses após	-0,33	-0,08	-0,12

* Correlação significativa ($P < 0,05$).

Embora tenha se observado uma correlação positiva entre os picos da população do psilídeo e os picos de detecção de plantas com sintomas nos oito a dez meses seguintes para toda a propriedade, não houve uma relação significativa entre o número acumulado de plantas com sintomas de HLB em 2013/14 com o número acumulado de psilídeos por cartão adesivo amarelo em 2012/13 para cada talhão da propriedade, independente da sua localização (Figura 14).

As possíveis causas para esta falta de relação entre população de psilídeos e quantidade de plantas com sintomas no ano posterior podem ser: i) Nem todos os psilídeos observados são portadores da bactéria ou conseguem transmitir a bactéria devido a sua baixa eficácia de transmissão e/ou mortalidade do inseto pelos inseticidas antes da transmissão. Isto faz com que a detecção do psilídeo nos cartões adesivos não implique na infecção de novas plantas, como indicado pelos talhões com maior detecção de psilídeos e baixa quantidade de plantas com sintomas no ano posterior; ii) Baixa capacidade de detecção dos psilídeos pelo monitoramento, indicado pelo fato de talhões sem detecção do inseto no ano anterior terem alta quantidade de plantas sintomáticas no ano seguinte. Nesta propriedade havia apenas de um a cinco cartões adesivos por talhão com média de 25 ha.

Isto significa que, nas condições atuais de monitoramento de psilídeo praticado na propriedade, não é possível estimar a quantidade de plantas doentes no talhão no ano seguinte em função da quantidade de psilídeos observados no mesmo. Estudos posteriores deveriam ser realizados aumentando-se a capacidade de detecção de psilídeos no monitoramento, variando-se o número de cartões adesivos ou inspeções visuais, para que este pudesse servir como base para estimar a quantidade de doença no ano seguinte, principalmente nos períodos de maior ocorrência do vetor. Adicionalmente, poderiam ser analisados os insetos capturados quanto à presença da bactéria nos mesmos.

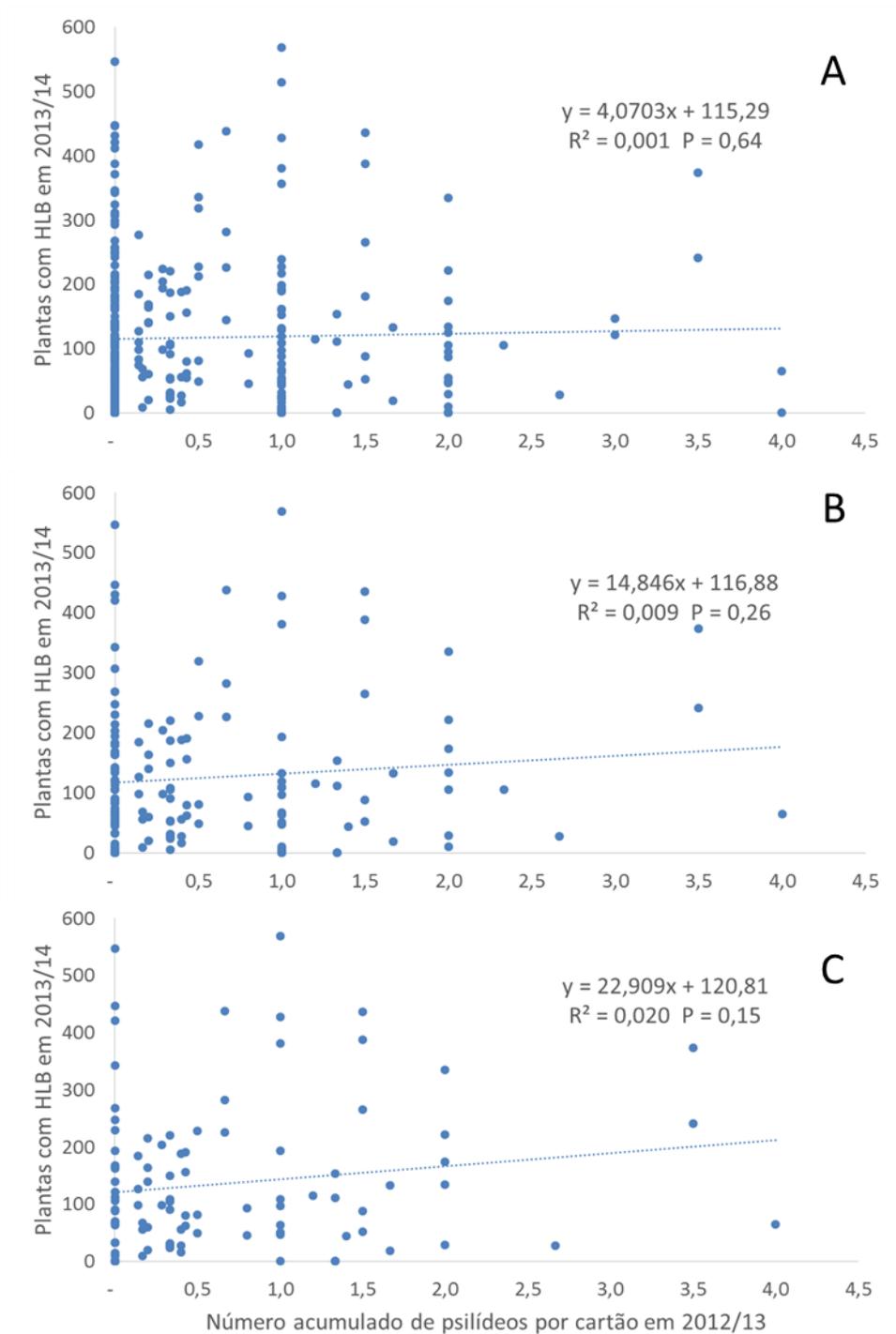


Figura 14. Número acumulado de plantas com sintomas de Huanglongbing em 2013/14 em função do número acumulado de psílídeos por cartão adesivo amarelo em 2012/13 em cada talhão da propriedade, independente da sua localização (A), considerando apenas os talhões de Perímetro+Borda (B) e apenas os talhões de Perímetro (C).

3.4. Comparação dos métodos de inspeção de *Diaphorina citri*

De maneira geral, os índices de psilídeos detectados no monitoramento por cartões adesivos amarelos foram maiores que na inspeção visual de ramos ($P = 0,02$). Na média dos dois anos, foram detectados 0,018 psilídeos/cartão adesivo/mês contra 0,006 psilídeos/ramo/mês, neste último considerando as fases de ovo, ninfa e adulto. Entretanto, nos meses de março, setembro e novembro de 2013, somando-se todas as fases do inseto, foram detectados mais psilídeos com a inspeção visual (Figura 15). Em propriedades com controle intensivo do psilídeo, a eficiência de detecção do inseto pela inspeção visual usualmente é menor em relação aos cartões adesivos posicionados no entorno dos talhões que capturam o inseto durante sua dispersão de áreas não tratadas para áreas tratadas (Hall & Hentz, 2010; Menezes, 2011). Com um controle intensivo do psilídeo, a chance do estabelecimento do psilídeo nas plantas tratadas tende a ser menor e, conseqüentemente, a probabilidade de visualização do psilídeo, principalmente adultos, nestas plantas é reduzida. Normalmente, quando os cartões são posicionados nas plantas dos talhões da periferia de uma propriedade com bom controle do inseto vetor, a captura de psilídeos adultos nos cartões adesivos indica não necessariamente a população do inseto que está estabelecida e se multiplicando no pomar monitorado, mas sim o momento em que está havendo a dispersão do psilídeo de outros pomares comerciais ou não para o pomar monitorado.

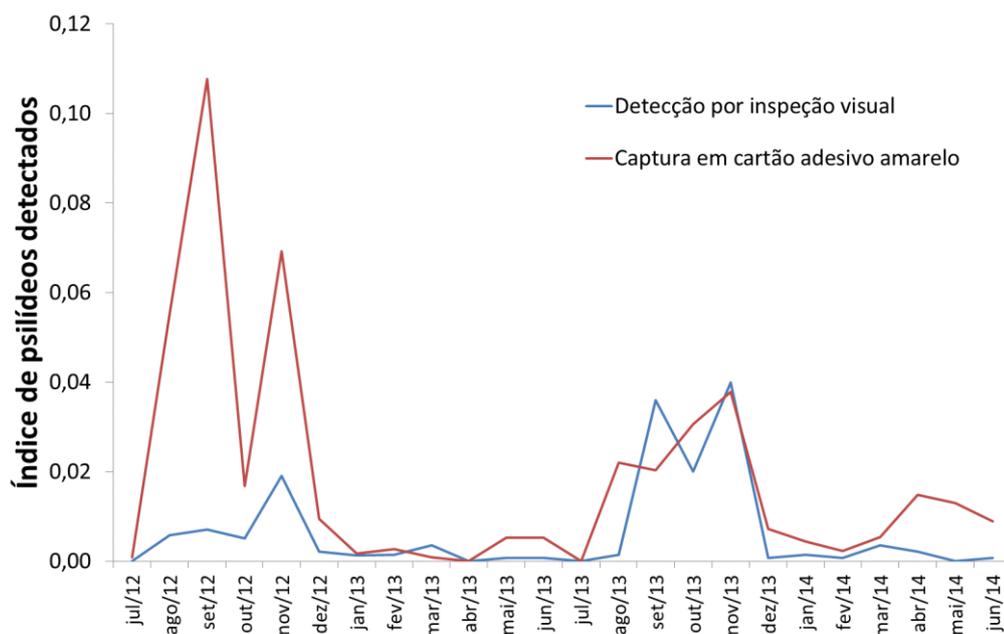


Figura 15. Índice de psilídeos *Diaphorina citri* detectados com o uso de cartão adesivo amarelo (psilídeo adulto/cartão/mês) e pela inspeção visual de ramos (adultos, ninfas e ovos/ramo/mês), nas safras 2012/13 e 2013/14.

Na inspeção visual de ramos foram observados mais ovos (média de 5,4 ovos/mês), seguidos de ninfas (média de 2,8 ninfas/mês) e por último de adultos (média de 1,0 adulto/mês) do psíldeo (Figura 15). A média do número de ovos foi significativamente maior que a média do número de adultos ($P = 0,031$), enquanto que a média do número de ninfas não diferenciou da média do número de ovos e adultos ($P = 0,428$ e $0,387$, respectivamente). A presença de ovos e ninfas nas brotações indica que a fêmea de *D. citri* teve oportunidade de ovipositar, indicando falha no controle da fêmea adulta, e que os ovos tiveram tempo para eclodir, pois não há inseticida ovicida. Esta falha pode ter ocorrido em função do intervalo entre aplicações de inseticidas, ocorrência de chuva entre as aplicações, reduzindo o período residual do produto aplicado, pelo crescimento dos brotos após a aplicação ou pela má deposição e cobertura nas brotações do inseticida aplicado. Entretanto, não se pode, todavia, afirmar que o psíldeo nascido nestas plantas conseguiu completar o seu ciclo e servir como vetor da bactéria dentro do pomar, pois muito pouco adultos foram encontrados na inspeção visual. Portanto, a utilização de ambos os métodos de monitoramento de psíldeo deveria ser recomendada para o manejo da doença: o monitoramento com cartão adesivo amarelo para monitorar a chegada de psíldeos adultos provenientes de outros pomares e indicar o momento das pulverizações e o monitoramento visual de ramos para checar a qualidade e duração do controle químico adotado dentro da propriedade.

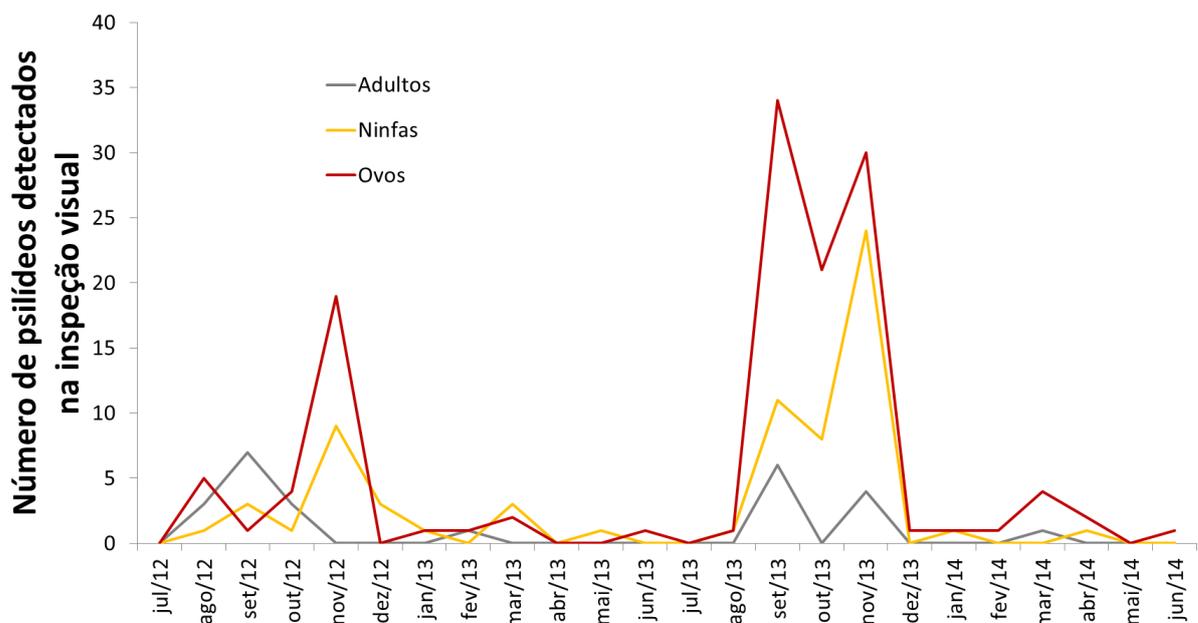


Figura 16. Número de ovos, ninfas e adultos de psíldeos *Diaphorina citri* detectados pela inspeção visual de ramos, nas safras 2012/13 e 2013/14.

Em relação à porcentagem de talhões com detecção do psilídeo, verificou-se que o monitoramento com uso dos cartões adesivos amarelos foi significativamente mais eficiente que as inspeções visuais para plantas acima de cinco anos ou acima de 2,5 m ($P = 0,011$), com média de porcentagem de detecção de 4,3% para o monitoramento com cartão e de 1,3% para o monitoramento visual. Para plantas mais jovens ou mais baixas, a porcentagem de detecção com cartão (0,9%) não diferiu significativamente ($P = 0,169$) da inspeção visual (0,5%).

A porcentagem de detecção da inspeção visual não diferiu entre as faixas de idade ou altura ($P = 0,078$), sendo 0,5% nos talhões com até 5 anos de idade ou menores que 2,5 m e 1,3% nos talhões mais velhos ou maiores que 2,5 m. O monitoramento com cartão adesivo teve maior porcentagem de detecção do psilídeo nos talhões mais velhos e mais altos (4,3%) frente à detecção nos talhões novos e mais baixos (0,9%), sendo esta diferença significativa ($P = 0,003$). Estas diferenças podem estar relacionadas à diferença de altura da inspeção visual em relação ao posicionamento do cartão adesivo na planta mais velha. Geralmente, a inspeção visual dos ramos em plantas mais velhas é feita numa altura mais baixa que a do cartão adesivo, enquanto que nas plantas mais jovens tanto a colocação do cartão como a inspeção visual são na mesma altura. Sales (2015) observou que a captura de psilídeos adultos nos cartões adesivos amarelos foi sempre maior nas maiores alturas de posicionamento dos mesmos nas plantas.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados podemos concluir que:

- Em propriedade com manejo rigoroso do HLB, a captura de *D. citri* em cartão adesivo amarelo é maior em talhões de perímetro e de perímetro mais bordas de matas e brejo que as capturas do inseto nos talhões do centro da propriedade;
- Com o manejo rigoroso do HLB a razão plantas sintomáticas no Perímetro/plantas sintomáticas no Interior aumenta, o que indica uma maior participação das infecções primárias em relação às secundárias;
- Excesso de precipitação pluviométrica acumulada nos meses anteriores explica parcialmente a redução da população de psilídeo observada no mês, enquanto que o estresse hídrico do mês explica parcialmente o aumento do número de plantas com sintomas de HLB no mesmo mês;
- A flutuação da população de plantas com sintomas de HLB observada na propriedade segue a flutuação da população psilídeo de oito a dez meses anteriores. Este período deve estar próximo ao período de incubação da doença;
- Com os métodos atuais de monitoramento de psilídeo praticado na propriedade, não é possível estimar a quantidade de plantas doentes no talhão no ano seguinte em função da quantidade de psilídeos observados no mesmo ano;
- Cartões adesivos amarelos são mais eficientes no monitoramento do psilídeo que inspeções visuais em pomares com plantas mais altas. Entretanto, nos períodos de maior precipitação (final do verão), no qual o inseto se movimenta menos, a inspeção visual pode identificar alguns picos populacionais do inseto que se sobressai frente à captura nos cartões. Portanto, a utilização de ambos os métodos de monitoramento de psilídeo deveria ser recomendada para o manejo deste inseto.

REFERÊNCIAS

- Andrade, E.N. 1930. **Campanha citrícola**. São Paulo: Rothschild. 191 p.
- Arakawa, K., Mivamoto, K. 2007. Flight ability of Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera; Psyllidae), measured by a flight mill. **Research Bulletin of the Plant Protection Service of Japan** 43:23–26. (Japanese with English summary).
- Aubert, B., Xia, Y.H. 1990. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus and *Murraya* canopies. In: Aubert, B., Tontyaporn, S., Buangsuwon, D. (Org.). **Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region**. Rome, Italy: FAO-UNDP. p. 181–187.
- Aubert, B. 1992. Citrus greening disease, a serious limiting factor for citriculture in Asia and Africa. **Proceedings of the International Society of Citriculture** 2:817-820.
- Bassanezi, R.B., Busato, L.A., Bergamin Filho, A., Amorim, L., Gottwald, T.R. 2005. Preliminary spatial pattern analysis of huanglongbing in São Paulo, Brazil. In: Hilf, M.E., Duran-Vila, N., Rocha-Peña, M.A. (Ed.). **Proceedings of the 16th Conference of International Organization of Citrus Virologists**. University of California, Riverside. p. 341-355.
- Bassanezi, R.B., Montesino L.H., Stuchi, E.S. 2009. Effects of huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. **European Journal of Plant Pathology** 125:565–572.
- Bassanezi, R.B., Montesino, L.H., Gasparoto, M.C.G., Bergamin Filho, A., Amorim, L. 2011. Yield loss caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. **European Journal of Plant Pathology** 130:577-586.
- Bassanezi, R.B. 2012. Seasonal detection of huanglongbing symptomatic trees and *Diaphorina citri* in citrus groves in São Paulo State, Brazil. **Book of Abstracts of the XII International Citrus Congress**. Valencia. p. 199. Abstract S12P02.
- Bassanezi, R.B., Montesino, L.H., Belasque Junior, J. 2013a. Frequency of symptomatic trees removal in small citrus blocks on citrus huanglongbing epidemics. **Crop Protection** 52:72-77.
- Bassanezi, R.B., Montesino, L.H., Gimenes-Fernandes, N., Yamamoto, P.T., Gottwald, T.R., Amorim, L., Bergamin Filho. 2013b. Efficacy of area-wide inoculum reduction and vector control on temporal progress of huanglongbing in young sweet orange plantings. **Plant Disease** 97:789-796.
- Belasque Junior, J., Bassanezi, R.B., Yamamoto, P.T., Ayres, A.J., Tachibana, A., Violante, A.R., Tank Júnior, A., Di Giorgi, F., Tersi, F.E.A., Menezes, G.M., Dragone, J., Jank Júnior, R.H., Bové, J.M. 2010a. Lessons from huanglongbing management in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology** 92:285-302.
- Belasque Júnior., J., Yamamoto, P.T., Miranda, M.P., Bassanezi, R.B., Ayres, A.J., Bové, J.M. 2010b. Controle do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology** 31(1):53-64.

- Beloti, V.H., Felipe, M.R., Rugno, G.R., Yamamoto, P.T. 2010. Distribuição de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomar cítrico em formação. Resumos. **XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2010**. Natal. 2010. Disponível em: <<http://www.seb.org.br/eventos/cbe/xxiiicbe/>>. Acesso em: 01 jun. 2014.
- Boina, D.R., Meyer, W.L., Onagbola, E.O., Stelinski, L.L. 2009. Quantifying Dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) by Immuno marking and Potential Impact of Unmanaged Groves on Commercial Citrus Management. **Environmental Entomology** 38(4):1250-1258.
- Bové, J.M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology** 88:7-37.
- Capoor, S.P., Rao, D.G., Viswanath, S.M. 1967. *Diaphorina citri* Kuwayama, a vector of the greening disease of citrus in India. **Indian Journal of Agriculture and Science** 37:572-576.
- Chapot, H. 1975. The citrus plant. In: Hafliger, E. (Ed.). **Citrus**. Switzerland: Ciba-Geigy Agrochemicals. p. 6-13.
- Coletta-Filho, H.D., Targon, M.L.P.N., Takita, M.A., De Negri, J.D., Pompeu Júnior, J., Machado, M.A. 2004. First report of the causal agent of huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”) in Brazil. **Plant Disease** 88:1382.
- Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo. 2015. **Notícias**. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/noticias/>>. Acesso em: 6 set. 2015.
- Costa, M.G., Yamamoto, P.T., Barbosa, J.C. 2006. Distribuição de ninfas de *Diaphorina citri* em árvores cítricas. **Proceedings of the Huanglongbing Greening Workshop International**. Ribeirão Preto. p. 99.
- Da Graça, J.V. 1991. Citrus greening disease. **Annual Review of Phytopathology** 29:109-136.
- De Carli, L.F. 2015. Eficácia de inseticidas para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em diferentes estádios vegetativos em citros. 26 f. **Dissertação de Mestrado**. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Ferreira, R.V. 2014. Influência do tipo de controle de Huanglongbing em áreas citrícolas na dispersão de *Diaphorina citri* e na disseminação da doença para pomares próximos. 58 f. **Dissertação de Mestrado**. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.
- Folimonova, S.Y., Robertson, C.J., Garnsey, S.M., Gowda, S., Dawson, W.O. 2009 Examination of the responses of different genotypes of citrus to huanglongbing (citrus greening) under different conditions. **Phytopathology** 99(12):1346 -1354.
- FNP Consultoria e Comércio. Citros. 2015. In: _____. **Agriannual 2015**: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio. p. 241-276.
- Fundecitrus. 2015. CVC diminui 82%, HLB aumenta 159%. **Citricultor** (31):8-11.

Fundecitrus. 2016. **Reestimativa de safra de laranja 2015/2016 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro – Cenário em fevereiro de 2016**. Fundecitrus. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/pes/estimativa>>. Acesso em: 11 fev. 2016.

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., Vendramim, J.D. 2002. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: Ceres. 920 p.

Gottwald, T.R., Irey, M., Gast, T. 2008. The plantation edge effect of HLB – A geostatistical analysis. **Proceedings of International Research Conference on Huanglongbing**. Orlando. 2008. p. 305-308.

Grafton-Cardwell, E.E., Stelinski, L.L., Stansly, P.A. 2013. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the Huanglongbing pathogens. **Annual Review of Entomology** 58:413-432.

Hall, D.G., Hentz, M.G. 2010. Sticky trap and stem-tap sampling protocols for the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology** 103:541-549.

Hall, D.G., Hentz, M.G. 2011. Seasonal flight activity by the Asian citrus psyllid in east central Florida. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 139:75-85.

Inoue, H., Ohnishi, J., Ito, T., Tomimura, K., Miyata, S., Iwanami, T., W. Ashihara. 2009. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. **Annals of Applied Biology** 155:29-36.

Johnson, E.G., Wu, J., Bright, D.B., Graham, J.H. 2014. Association of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ root infection, but not phloem plugging with root loss on huanglongbing-affected trees prior to appearance of foliar symptoms. **Journal of Plant Pathology** 63:290–298

Leonardo, A. 2014. Otimização da leitura de cartão adesivo amarelo para o monitoramento de adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) 28 f. **Dissertação de Mestrado**. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.

Libardi, P.L. 2005. **Dinâmica da água no solo**. São Paulo: EDUSP. 335 p.

Martini, X., Hoyte, A., Stelinski, L.L. 2014. Abdominal color of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) is associated with flight capabilities. **Annals of Entomological Society of America** 107(4):842-847.

Menezes, G.M. 2011. Avaliação de métodos de monitoramento de *Diaphorina citri* na periferia e interior de pomares cítricos com manejo de HLB. 19 f. **Dissertação de Mestrado**. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da citricultura.

Miranda, M.P., Yamamoto, P.T., Noronha Junior, N.C. 2011. Utilização de cartões adesivos para monitoramento de *Diaphorina citri*. **Citricultura Atual** 81:8-9.

Monteiro, A.B. 2013. Efeito de um pomar sem manejo de Huanglongbing sobre a ocorrência de *Diaphorina citri* e incidência de plantas doentes em uma área vizinha com manejo da doença. 37 f. **Dissertação de Mestrado**. Araraquara, SP: Fundo de Defesa da Citricultura.

National Agricultural Statistics Service. 2015. **Citrus – December forecast**. United States Department of Agriculture - National Agricultural Statistics Service. Disponível em: <http://www.nass.usda.gov/Statistics_by_State/Florida/Publications/Citrus/cit/2015-16/cit1215.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2015.

Nava, D.E., Torres, M.L.G., Rodrigues, M.D.L., Bento, J.M.S., Parra, J.R.P. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology** 131:709-715.

Neves, M.F., Trombin, V.G., Milan, P., Lopes, F.F., Cressoni, F., Kalari, R. 2010. **O retrato da citricultura brasileira**. Ribeirão Preto: Markestrat. 138 p.

Paiva, P.E.B, Parra, J.R.P. 2012. Life table analysis of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) infesting sweet orange (*Citrus sinensis*) in São Paulo. **Florida Entomologist** 95(2):278-284.

Parra, J.R.P., Lopes, J.R.S., Torres, M.L.G, Nava, D.E., Paiva, P.E.B. 2010. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology** 31(1):37-51.

Pelz-Stelinski, K.S., Briansky, R.H., Ebert, T.A., Rogers, M.E. 2010. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology** 103:1531–1541.

Regmi, C., Lama, T.K. 1988. Greening incidence and Greening vector population dynamics in Pokhara. **Proc. 10th Conf. IOCV**. Riverside. p. 238-242. Disponível em: <http://www.ivia.es/iocv/archivos/proceedingsX/10th238_242.pdf>. Acesso em: nov. 2015.

Rossetti, V.V. 2001. **Manual ilustrado de doenças dos citros**. Piracicaba: Fealq/Fundecitrus. 207 p.

Ruiz, G.J.P., Tozze Júnior, H.J., Sguarezi, C.N., Usberti, R., Martello, V.P., Tomazela, M.S. 2010. Ações de defesa sanitária vegetal no estado de São Paulo contra o *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology** 31:155-162.

Sales, T.M. 2015. Dinâmica populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em pomares cítricos do Estado de São Paulo. 142 f. **Tese de Doutorado**. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Sanches, A.L., Felipe, M.R., Carmo, A.U., Rugno, G.R., Yamamoto, P.T. 2009. Eficiência de inseticidas sistêmicos, aplicados em mudas cítricas, no controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **BioAssay** 4:6 (1-7).

Santos, F.L., Miranda, M.P. Marques, R.N. 2012. Eficiência de métodos de monitoramento de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em pomares no estado de São Paulo. Resumos. **XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia**. Curitiba, Sociedade Entomológica do Brasil. 2012.

Santos, T.R. 2013. Flutuação populacional e distribuição espacial de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em propriedades citrícolas com manejo intensivo do Huanglongbing. 38 f. **Dissertação de Mestrado**. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

São Paulo. Portaria ADAESP N° 01 de 10 de Fevereiro de 2003. Estabelece Medidas de Defesa Vegetal. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, SP, 11 de fevereiro de 2003. Seção 3.

Sétamou, M., Bartels, D.W. 2015. Living on the edges: spatial niche occupation of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), in citrus groves. **PLOS ONE** 10(7):e0131917.

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., Bové, J.M. 2005. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus' Liberibacter species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes** 19:173-179.

Tomaseto, A.F., Krugner, R., Lopes, J.R.S. 2016. Effect of plant barriers and citrus leaf age on dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Journal of Applied Entomology** 140(1-2):91-102.

Xu, C.F., Xia, Y.H., Li, K.B., Ke, C. 1988. Further study of the transmission of citrus huanglongbing by a psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. In: Timmer, L.W., Garnsey, S.M., Navarro, L. (Eds.). **Proceedings of the 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists**. Riverside, University of California. p. 243-248.

Yamamoto, P.T., Paiva, P.E.B., Gravena, S. 2001. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região norte do estado de São Paulo. **Neotropical Entomology** 30(1):165-170.

Yamamoto, P.T., Felipe, M.R., Sanches, A.L., Coelho, J.H.C., Garbim, L.F., Ximenes, N.L. 2009. Eficácia de inseticidas para o manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros. **BioAssay** 4:4 (1-9).