

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA
MESTRADO PROFISSIONAL EM FITOSSANIDADE DOS CITROS

ORLANDO LUCATO NETO

**Impacto da temperatura local e época do ano no desenvolvimento de brotos,
emergência de *Diaphorina citri* e multiplicação de *Candidatus Liberibacter
asiaticus* em citros**

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

Orientador: Dr. Silvio Aparecido Lopes

Coorientador: Dr. Juan Camilo Cifuentes-Arenas

Araraquara – SP

Maio 2024

ORLANDO LUCATO NETO

**Impacto da temperatura local e época do ano no desenvolvimento de brotos,
emergência de *Diaphorina citri* e multiplicação de *Candidatus Liberibacter
asiaticus* em citros**

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

Orientador: Dr. Silvio Aparecido Lopes

Coorientador: Dr. Juan Camilo Cifuentes-Arenas

Araraquara – SP

Mai 2024

ORLANDO LUCATO NETO

Impacto da temperatura local e época do ano no desenvolvimento de brotos, emergência de *Diaphorina citri* e multiplicação de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em citros

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

Araraquara, 27 de maio de 2024.

BANCA EXAMINADORA

DocuSigned by:
Silvio Aparecido Lopes
D3586FBB416E49A...

Dr. Silvio Aparecido Lopes (Orientador)
Fundo de Defesa da Citricultura – Fundecitrus, Araraquara – SP

DocuSigned by:
Eduardo Augusto Girardi
FCD442F04AC6460...

Dr. Eduardo Augusto Girardi
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas – BA

DocuSigned by:
Laudecir Lemos Raiol Júnior
1D2B713CC38640E...

Dr. Laudecir Lemos Raiol Júnior
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/Unesp, Jaboticabal - SP.

Dedico

Aos meus amados avós “Zé Turquinho”, Orlando e Helena Lucato e querida amiga Tayane Negro, que já partiram deste mundo, mas deixaram um legado de amor, alegria, luz e ótimas lembranças. Para sempre morarão em meu coração.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me dado saúde, sabedoria e forças para vencer este desafio.

Ao meu orientador Dr. Silvio Aparecido Lopes e coorientador Dr. Juan Camilo Cifuentes-Arenas por me guiarem e me ensinarem tanto, por toda a ajuda em todas as etapas do projeto, pela paciência, acolhimento e amizade.

Aos membros da banca examinadora Dr. Eduardo Augusto Girardi e Dr. Laudecir Lemos Raiol Junior e da banca de qualificação Dr. Renato Beozzo Bassanezi e Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe pela disposição em contribuir para a melhoria deste trabalho.

Ao Fundecitrus e à empresa Agro Nishi pela única e excelente oportunidade.

À toda equipe envolvida no projeto: Cleide Antonio, Diego Tiesi, Fernanda Benedito, Wellington Santos, Yugo Nagoshi, Jacqueline Amaral e Jaine Almeida por toda a dedicação, parceria e amizade.

Ao colega de turma Fabio Okuno, sr. Paulo Gomes, Theodoro Plinio, Universidade de Araraquara (UNIARA) e Citrusuco por cederem as áreas e/ou materiais para que o experimento fosse feito.

Ao Dr. Nik Cunniffe e Dr. Wellington Ivo Eduardo pela ajuda com os dados e estatísticas.

A todos os pesquisadores do Fundecitrus pela ajuda em minha pesquisa e por tudo que me ensinaram durante as aulas.

Ao Dr. Geraldo José Silva Júnior e Gabriela Crescenio por conduzirem tão bem e com tanta dedicação o programa de mestrado.

A todos os colegas da Turma 8 pela troca de experiências, amizade e bons momentos

Aos companheiros de equipe Adinan Martins e Leandro Costta por terem dado suporte à empresa nos momentos em que tive que me ausentar.

À Dra. Liliane Severino da Silva por ter colaborado tanto com meu background, facilitando muito este trabalho.

Aos meus pais João e Nadia Lucato por terem me dado toda a base e suporte necessários para que eu chegasse até aqui. Sem vocês eu não seria nada.

À minha namorada Juliana Nishi pelo amor, carinho, parceria e acalento durante essa jornada.

Aos meus sogros Joaquim e Julieta Nishi pela oportunidade de trabalho e de fazer o mestrado, por cuidarem tão bem de mim e me ensinarem tanto.

À minha avó Augusta Felicio, meus irmãos Agatha Bechara e Davi Lucato e cunhados Roberto Bechara, Ligia Lucato, Larissa Yukawa, Karina e Natalia Nishi, Leandro Costta e Bruno Ratti por sempre me incentivarem e apoiarem em todos os meus projetos.

Ao amigo Leonardo Trento pelos bons momentos e por me prover estadia durante minhas viagens a Araraquara.

À Adriana Prado, Cristina Machado, Yuri Nishi por todo o suporte e “obentôs” preparados com tanto carinho para minhas viagens.

Aos amigos Rodrigo Souza, Hans Krauss Neto e Kawan Saito por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e compartilhando bons momentos.

Aos nenéns Jun Nishi e Sunny, por fazer meus dias mais felizes, leves e ensolarados.

Josué 1:9

“Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”

Impacto da temperatura local e época do ano no desenvolvimento de brotos, emergência de *Diaphorina citri* e multiplicação de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em citros

Autor: Orlando Lucato Neto

Orientador: Dr. Silvio Aparecido Lopes

Coorientador: Dr. Juan Camilo Cifuentes-Arenas

Resumo

Huanglongbing (HLB) é a doença mais destrutiva da citricultura mundial, com incidência irregular no cinturão citrícola brasileiro (São Paulo e Triângulo Mineiro), maior no centro e menor nos extremos norte e sul. O contraste climático regional pode ser a causa, conforme indicam pesquisas já conduzidas. Informações adicionais sobre o tema são necessárias para melhor entender o sistema e aprimorar o manejo da doença. No presente trabalho, de jul/22 a out/23, mudas de mesmo lote de laranja Valência/citrumelo Swingle, afetadas por HLB (CLas+) e sadias (CLas-), foram transferidas para Capão Bonito, SP (CB) (extremo sul do cinturão, frio e úmido), Frutal, MG (FR) (extremo norte, quente e seco) e Araraquara, SP (ARA) (centro, situação intermediária) e mantidas irrigadas e fertirrigadas a céu aberto. A cada 21 dias, 10 mudas CLas- e 4 CLas+ eram podadas no topo. Nas CLas-, casais de psilídeos adultos foram confinados em brotos jovens (V2). Nessas mudas se avaliou o número de insetos emergidos (F1) além do tempo de maturação, comprimento final e taxa de crescimento dos brotos. Nas CLas+, brotos V3 foram analisados por qPCR e calculado o título bacteriano. CB foi mais frio que ARA ou FR (médias de 21,5, 22,8 e 23,8 °C), tão chuvoso quanto ARA (1718 e 1847 mm) e mais chuvoso que FR (1430 mm). Em FR os brotos maturaram mais rápido (43,8 dias) que em ARA (47,8) ou CB (57,7), cresceram mais rápido e produziram maior número de psilídeos (6,0 mm/dia; 49,8 F1) que em CB (4,9 mm/dia e 34,6 F1). Em CB ocorreu maior número de psilídeos de set/22 a mar/23. O comprimento final dos brotos foi similar (175,7 a 180,1 mm) e de maior tamanho de junho a setembro nos três ambientes. Os brotos amadureceram mais rápido de set/22 a abr/23 em CB e ARA, e mais constantemente em todo o período em FR. Em CB o título de CLas foi menor (3,2 log CLas g⁻¹) do que em ARA ou FR (3,7 log cada). O tempo de maturação e comprimento dos brotos e o número de psilídeos F1 se correlacionaram mais fortemente com o número de horas de exposição (NHE) à faixa de 15 a 19 °C (R² de 69,8 %, 24,8 % e -28,3 %); a taxa de crescimento pelo NHE <15 °C (R² = -29,5 %), e o título de CLas pelo NHE de 20 a 24 °C e 25 a 29 °C (R²= 17,3 e 17,1 %). Análise dos resultados e de dados do Sistema de Alerta do Fundecitrus permitem sugerir que (i) no sul do cinturão as pulverizações contra o psilídeo devam ser mais constantes ao longo do ano (as plantas passam mais tempo vegetando), com intervalos mais longos entre si (os brotos crescem mais lentamente), intervalos esses a serem definidos; e (ii) no norte as pulverizações podem ser mais concentradas durante os picos de brotação, com intervalos mais curtos entre si (os brotos crescem mais rápido e livres de inseticidas). Conclui-se que a menor disponibilidade de brotos no norte (condição que pode ser alterada por podas e irrigação mais constantes) e as temperaturas mais baixas do sul afetam negativamente a biologia do psilídeo e, conseqüentemente, a disseminação e incidência de HLB nessas regiões.

Palavras-chave: HLB, greening, psilídeo, cinturão citrícola, ambiente, plantio e pulverização.

Impact of local temperature and time of year on shoot development, emergence of *Diaphorina citri* and multiplication of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in citrus

Author: Orlando Lucato Neto

Advisor: Dr. Silvio Aparecido Lopes

Co-advisor: Dr. Juan Camilo Cifuentes-Arenas

Abstract

Huanglongbing (HLB) is the most destructive disease in the world's citrus industry, with an irregular incidence in the Brazilian citrus belt (São Paulo and Triângulo Mineiro), higher in the center and lower in the extreme north and south. Regional climate contrast may be the cause, as research already conducted indicates. Additional information on the topic is necessary to better understand the system and improve disease management. In the present work, from Jul/22 to Oct/23, seedlings of Valencia orange/citrumelo Swingle from the same batch, affected by HLB (CLas+) and healthy (CLas-), were transferred to Capão Bonito, SP (CB) (extreme south of the belt, cold and humid), Frutal, MG (FR) (far north, hot and dry) and Araraquara, SP (ARA) (center, intermediate situation), kept irrigated and fertirrigated in an open environment. Every 21 days, 10 CLas- and 4 CLas+ seedlings were pruned at the top. In CLas-, pairs of adult psyllids were confined on young shoots (V2) and the number of emerged insects (F1) was evaluated, in addition to the maturation time, final length and growth rate of the shoots. In the CLas+ seedlings, V3 shoots were analyzed by qPCR and the bacterial titer was calculated. CB was colder than ARA or FR (averages of 21.5, 22.8 and 23.8 °C), as rainy as ARA (1718 and 1847 mm), but rainier than FR (1430 mm). In FR the shoots matured faster (43.8 days) than in ARA (47.8) or CB (57.7), grew faster and produced a greater number of psyllids (6.0 mm/day; 49.8 F1) than in CB (4.9 mm/day and 34.6 F1). In CB there was a greater number of psyllids from Sep/22 to Mar/23. The final shoot length averages were similar in size (175.7 to 180.1 mm), but greater from June to September in all 3 environments. The shoots matured faster from Sep/22 to Apr/23 in CB and ARA, and more constantly in the evaluated period in FR. In CB, CLas titer was lower (3.2 log CLas g⁻¹) than in ARA or FR (3.7 log each). The maturation time and length of the shoots and the number of F1 psyllids correlated more strongly with the number of exposure hours (NEH) in the range of 15 to 19 °C (R² of 69.8 %, 24.8 % and -28.3 %); the growth rate by NEH <15 °C (R² = -29.5 %), and the CLas titer by NEH from 20 to 24 °C and 25 to 29 °C (R² = 17.3 and 17.1 %). Analysis of the results and data from the Fundecitrus Alert System allows to suggest that (i) in the south of the citrus belt, spraying against the psyllid should be carried out more constantly throughout the year (plants spend more time vegetating), with longer intervals between them (the shoots grow more slowly), with such intervals still to be defined; and (ii) in the north, spraying can be carried out preferably during the flushing peaks and at shorter intervals between them (the shoots grow faster and free of insecticides). We conclude that the lower availability of shoots in the north (a condition that can be changed with more constant pruning and irrigation) and the lower temperatures in the south affect negatively the biology of the psyllid and, consequently, the spread and incidence of HLB in these regions.

Keywords: HLB, greening, psyllid, citrus belt, environment, planting and spraying.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
2.1. Caracterização e localização das áreas experimentais	9
2.1.1. Ambiente de Capão Bonito - SP.....	9
2.1.2. Ambiente de Araraquara - SP.....	10
2.1.3. Ambiente de Frutal – MG.....	11
2.2. Condução dos experimentos.....	12
2.3. Delineamento experimental.....	15
2.4. Avaliações	15
2.4.1. Associação entre clima e desenvolvimento de brotos em plantas CLas-	15
2.4.2. Associação entre clima e emergência de psilídeos em plantas CLas-.....	16
2.4.3. Associação entre clima e título de CLas em plantas CLas+.....	16
2.5. Análise estatística dos dados	16
3. RESULTADOS	17
3.1. Clima	17
3.2. Tempo de maturação do broto.....	22
3.3. Comprimento final do broto.....	24
3.4. Taxa de crescimento do broto	24
3.5. Emergência de <i>Diaphorina citri</i>	25
3.6. Título de <i>Ca. L. asiaticus</i>	27
3.7. Associação entre clima e desenvolvimento de brotações, emergência de <i>Diaphorina citri</i> e título de <i>Ca. L. asiaticus</i>	28
4. DISCUSSÃO	30
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

A citricultura tem grande peso na balança comercial brasileira, com um valor de produção de aproximadamente R\$ 18 bilhões (IBGE, 2022). O Brasil se destaca como o maior produtor de laranja e maior produtor e exportador de seu suco do mundo. Na safra 2023/24 o país produziu 307,22 milhões de caixas de 40,8 Kg (FUNDECITRUS, 2024) e em 2022/23 produziu e exportou 1,12 e 1,05 milhões de toneladas de suco congelado concentrado, respectivamente (USDA, 2024).

Com seu primeiro relato no Brasil em março de 2004 no município de Araraquara - SP (COLETTA-FILHO et al., 2004), o Greening ou Huanglongbing (HLB) tem ameaçado a viabilidade do setor cítrico, pois é a doença mais destrutiva das plantas cítricas (BOVÉ, 2006). A doença tem grande impacto econômico, sendo uma das principais responsáveis pela redução da área plantada e saída de produtores da atividade nos últimos anos (ADAMI; MIRANDA; BARROS, 2014). Além do estado de São Paulo, o HLB está presente nos estados de Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso do Sul e Santa Catarina (COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 2023).

No Brasil, os agentes associados ao HLB são as bactérias '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (CLas) e '*Ca. L. americanus*', estando a primeira atualmente presente em mais de 99,9 % do total de plantas com HLB no cinturão cítrico brasileiro (estado de São Paulo e Triângulo Mineiro) (BASSANEZI et al., 2020). A bactéria coloniza o floema de todos os citros, obstruindo o fluxo de seiva elaborada e causando sintomas de amarelecimento assimétrico do limbo foliar (mosqueado), engrossamento e clareamento das nervuras, desfolha, seca de ramos, abortamento de sementes e deformação, queda e diminuição do tamanho dos frutos. Ocorre também redução da qualidade do suco decorrente da diminuição da concentração de sólidos solúveis e aumento da acidez e amargor (ATIHE JUNIOR et al., 2005; PAULA, 2017).

O HLB não tem cura e afeta todas as variedades de citros de importância comercial, independentemente do porta-enxerto, evoluindo rapidamente na copa das plantas e no pomar. O inseto vetor (o psíldeo *Diaphorina citri*) é extremamente eficiente na transmissão da bactéria (LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021). O psíldeo está presente nas principais regiões produtoras do país (BASSANEZI et al., 2020), pode voar a distâncias relativamente longas (até 2 Km) (LEWIS-ROSENBLUM et al., 2015; TOMASETO; KRUGNER; LOPES, 2016), tem um período de ovo a adulto curto que, sob condições ambientais favoráveis, pode ser de apenas 14

dias (LIU; TSAI, 2000), e sobrevive por períodos de 3 a 4 meses apto a disseminar a bactéria do HLB (JESUS JUNIOR et al., 2008). Sob condições laboratoriais favoráveis (24 a 28 °C), um único inseto é o suficiente para transmitir CLAs para uma planta sadia (LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021). A forte agressividade do patógeno, o ciclo biológico curto e a facilidade de movimentação de seu vetor, aliadas à abundância de hospedeiros susceptíveis (todos os tipos de citros) em ampla continuidade espacial (muitos pomares muito próximos entre si) e temporal (perenidade da cultura) propiciaram rápida disseminação da doença no cinturão citrícola (JESUS JUNIOR et al., 2008).

O manejo da doença consiste no plantio de mudas sadias, eliminação das plantas sintomáticas e controle do psíldeo (BELASQUE JUNIOR et al., 2009). Com o avanço da pesquisa e experiência dos produtores do cinturão citrícola chegou-se à conclusão de que a adoção das práticas de manejo não devem se restringir apenas à área interna da propriedade, mas também às áreas externas e em nível regional, levando-se em consideração variações na população do vetor, presença de fluxos vegetativos e ocorrência de plantas doentes não comerciais próximas aos pomares comerciais (BASSANEZI et al., 2020). Mesmo com a adoção das práticas supracitadas por um número considerável de produtores, a incidência do HLB continua aumentando. Isso se deve principalmente à abundância de fontes de inóculo, tanto dentro quanto fora das propriedades, e às altas populações do psíldeo. Além da existência de pomares abandonados, parte dos produtores e detentores de plantas cítricas domésticas não têm eliminado suas plantas sintomáticas. Somado a isso, a qualidade das pulverizações tem sido em geral baixa, causada pelo uso de doses inadequadas de inseticida, falhas de cobertura da copa, intervalos longos de aplicação (principalmente durante os períodos de fluxo vegetativo), não sincronização dos momentos de pulverização com os vizinhos e não rotação de inseticidas de diferentes grupos químicos. Tem havido excessiva repetição do uso de piretróides, neonicotinóides e organofosforados, o que tem levado à seleção de populações de psíldeo resistentes a esses grupos químicos e à consequente deficiência no controle do vetor por tais grupos (FUNDECITRUS, 2021, 2023^a; BASSANEZI et al., 2023).

Os componentes do patossistema envolvidos na epidemia do HLB são a bactéria CLAs, seu vetor *D. citri*, e as brotações das plantas cítricas, locais preferidos do psíldeo para se alimentar e se reproduzir e por onde a bactéria é inoculada na planta (BOVÉ, 2006). O ciclo primário da doença tem início com a entrada de psíldeos infectivos no pomar, oriundos de áreas externas, principalmente na primavera e verão (LEWIS-ROSENBLUM et al., 2015). Ao se alimentar dos

brotos das plantas saudáveis, ocorre a inoculação da bactéria. Em pouco tempo essas plantas irão se tornar fontes da bactéria para outras plantas do pomar. O ciclo de disseminação se repete quando as plantas infectadas servem de fontes de alimento para as novas ninfas e adultos do psilídeo, dando início ao chamado ciclo secundário da doença (GOTTWALD, 2010). A aquisição da bactéria por ninfas é mais eficiente do que por adultos. Assim, a transmissão é mais eficiente no caso dos insetos que adquiriram a bactéria enquanto ninfas do que aqueles que a adquiriram já quando adultos. Transmissão transovariana da bactéria pode ocorrer em psilídeos, porém em níveis reduzidos (máximo 6 %) (PELZ-STELINSKI et al. 2010).

A aquisição de CLas pelo psilídeo pode ocorrer durante períodos de apenas 15 a 30 minutos de alimentação em plantas infectadas (CAPOOR; RAO; VISWANATH, 1974), com a eficiência aumentando com o aumento no tempo de alimentação (PELZ-STELINSKI et al., 2010; LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021). No caso em que a aquisição é feita por insetos já adultos, após a aquisição, são necessários, em média, de 16 a 18 dias para que o inseto se torne infectivo, ou seja, seja capaz de transmitir a bactéria (CANALE et al., 2017), podendo, após esse período, transmiti-la para uma planta sadia após um período de apenas 15 minutos de alimentação (CAPOOR; RAO; VISWANATH, 1974). Cerca de 15 dias após ser inoculada, a planta já se torna fonte de inóculo (LEE et al., 2015). Esse período é muito inferior aos cerca de 2 a 4 meses necessários para que a planta infectada exiba os primeiros sintomas da doença (LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021). Este longo período, aliado à dificuldade de reconhecimento dos sintomas iniciais, é um fator que dificulta consideravelmente a identificação das plantas infectadas que precisam ser erradicadas e, conseqüentemente, o sucesso do manejo.

Em plantas cítricas jovens, o período de brotação ocorre quase que de forma contínua, não sendo tão definido como em plantas adultas, que exibem de 2 a 4 fluxos vegetativos ao longo do ano, principalmente na primavera e verão. Porém, sob condições tropicais de altas temperaturas e chuvas frequentes, a ocorrência de brotações tende a ser constante, mesmo em plantas adultas (PRIMO-MILLO; AGUSTÍ, 2020). Os brotos variam em aparência e textura à medida em que crescem. Cifuentes-Arenas et al. (2018) criaram a escala descritiva que divide os brotos em 6 fases: emergência (V1), desenvolvimento (V2 e V3), maturação (V4 e V5) e dormência (V6). Eles não são igualmente favoráveis ao inseto ou à infecção por CLas (CIFUENTES-ARENAS et al., 2018; LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021). Por conta de estímulos visuais e olfativos, o psilídeo é mais atraído por brotos novos e tenros do que por ramos maduros (SULE et al., 2012; SÉTAMOU

et al., 2014). Apesar de as fêmeas colocarem ovos nos estádios de V1 a V5, os estádios de V1 a V3 são os mais propícios para a postura, desenvolvimento de ninfas e consequente emergência de adultos (CIFUENTES-ARENAS et al., 2018). Os estádios V1 a V4 são os preferidos como fontes de alimento para adultos de ambos os sexos e os que tornam as plantas cítricas mais vulneráveis à infecção por CLAs (LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021).

Os brotos podem se desenvolver rapidamente reduzindo a efetividade das pulverizações, pois os novos tecidos que surgem se desenvolvem livres da camada de inseticida que os iriam proteger do acesso do psilídeo (DE CARLI et al., 2018). A taxa de crescimento dos brotos varia dependendo da disponibilidade de água no solo e temperatura do ar. Sob condições experimentais sem deficiência hídrica, Cifuentes-Arenas (2017) verificou que brotos expostos à 30,3 °C se desenvolveram mais rápido e atingiram maiores tamanhos do que aqueles expostos à 24,4 °C ou 14,8 °C. Complementarmente, Conchal (2016) verificou que nas propriedades do Triângulo mineiro, as plantas passaram menos tempo vegetando (4 meses para Comendador Gomes e 3,5 meses para Frutal) e tiveram menos psilídeos capturados (0 para Comendador Gomes e 10 para Frutal) do que em Capão Bonito - SP (6 meses vegetando e 67 psilídeos) em um mesmo período avaliado. Tal dinâmica pode ser explicada pelo contraste de temperatura e disponibilidade hídrica entre as áreas. As temperaturas mais amenas e a maior disponibilidade hídrica de Capão Bonito fazem com que os fluxos vegetativos se prolonguem por maior tempo, o que, por sua vez, aumenta sua exposição ao inseto.

O psilídeo tolera situações ambientais adversas, podendo sobreviver a temperaturas de -7 a 45 °C (AUBERT, 1990). Sob temperaturas médias diárias abaixo de 10 °C ou acima de 33 °C, o psilídeo não se reproduz de forma adequada (LIU; TSAI, 2000), tendo bom desenvolvimento e reprodução quando exposto a temperaturas de 18 a 30 °C, situação em que a viabilidade de ovos e ninfas chega a 81,6 e 70 %, respectivamente (NAVA et al., 2007). Finalmente, a faixa de temperatura ótima à reprodução e desenvolvimento do psilídeo é de 25 a 28 °C. A 28 °C uma única fêmea produziu 748 ovos e sobreviveu por 52 dias (LIU; TSAI, 2000). Umidade relativa (UR) entre 70 e 85 % também favorece a reprodução e desenvolvimento do inseto (PARRA et al., 2010).

Com o uso de um Sistema de Informação Geográfica (SIG) aliado às exigências térmicas e higrométricas do inseto, Gómez Torres (2009) desenvolveu um modelo de zoneamento agroecológico para o psilídeo em todo o estado de São Paulo. A autora estimou que o inseto pode ter de 3 a 13 gerações por ano a depender do ambiente em que se encontra. O número de gerações

varia, por exemplo, de 6 a 9 em Itapetininga (sul, frio), 9 a 11 em Araraquara (centro, temperaturas amenas), e 11 a 13 em Jales (norte, quente) (Fig. 1). Dessa forma, ao se levar em conta somente as exigências térmicas e higrométricas do psilídeo, os ambientes mais quentes do noroeste do Estado teriam um maior número de ciclos reprodutivos do inseto, o que resultaria em uma maior população do mesmo e propiciaria uma maior incidência de HLB neste local. Contudo, isto não ocorre. Segundo dados do Alerta Fitossanitário do Fundecitrus, a captura de psilídeos em armadilhas adesivas na macrorregião de Itapetininga foi maior do que em Jales no período de outubro de 2018 a novembro de 2022 (máximos de 0,47 psilídeo / armadilha em Itapetininga em setembro de 2020 e 0,1 psilídeo / armadilha em Jales em janeiro de 2021), por exemplo. Além disso, o levantamento anual de HLB do Fundecitrus conduzido em 2023 (FUNDECITRUS, 2023c), mostrou que a incidência de HLB na macrorregião de Itapetininga e Votuporanga, que engloba Jales, foram de 11,47 e 1,77 %, respectivamente.

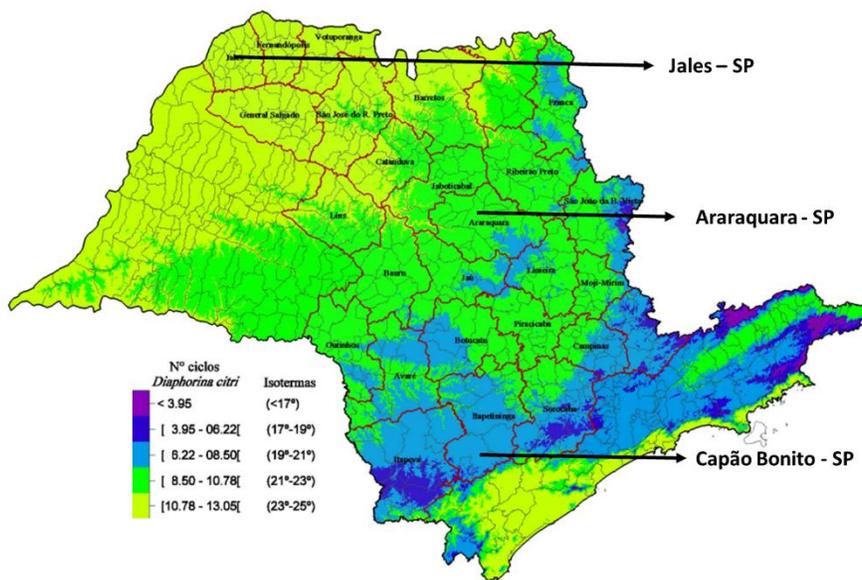


Figura 1. Mapa de isotermas anuais para o estado de São Paulo mostrando o número de gerações anuais (período de ovo a adulto, incluindo pré-oviposição) de *D. citri* nos intervalos de < 17 °C; 17 a 19 °C; 19 a 21 °C; 21 a 23 °C; e 23 a 25 °C (adaptado de GÓMEZ TORRES, 2009).

A temperatura do ar à que as plantas são expostas também influencia de forma significativa a população de CLas na planta. Raiol-Junior et al. (2021) enxertaram gemas infectadas por CLas em uma de duas hastes mantidas em mudas cítricas saudáveis e as submeteram, em câmara de crescimento, a regimes diários de temperatura do ar que variaram de 8 a 20 °C (frio),

18 a 30 °C (intermediário) e 24 a 38 °C (calor). Após 7 meses de exposição, a bactéria não foi detectada na haste oposta não inoculada das mudas expostas ao frio, mas esteve presente em 70 % das hastes das mudas expostas ao regime intermediário e presente em 25 % das mudas expostas ao calor. Os autores verificaram também que 25,7 °C é a temperatura ótima para que CLas colonize uma planta cítrica, havendo decréscimo exponencial com o aumento ou diminuição da temperatura.

Ao comparar o título bacteriano de CLas em brotos coletados em três diferentes ambientes (Analândia - SP, Comendador Gomes - MG e Frutal - MG), Lopes et al. (2017) verificaram que os brotos provenientes de Comendador Gomes apresentaram menor título bacteriano do que os provenientes dos outros dois ambientes. Análise de correlação revelou que quanto maior o número de horas abaixo de 15 °C e maior o volume de chuvas nos últimos 7 a 15 dias antes da data em que os brotos foram analisados por qPCR, maior o título bacteriano, e menor quanto maior o número de horas acima de 32 °C. De fato, foi observado que Comendador Gomes apresentou um menor número de horas abaixo de 15 °C, um maior número de horas acima de 30 °C e uma menor precipitação do que as outras duas localidades durante o período estudado (setembro 2012 a setembro de 2014). Adicionalmente, Lopes et al. (2013) expuseram mudas de laranjeira a três diferentes regimes de temperatura (12 a 24, 18 a 30 e 24 a 38 °C) por 30 dias em câmaras de crescimento. Após esse período, as mudas foram transferidas para uma sala a 26 ± 2 °C, onde psilídeos foram aprisionados nos brotos em crescimento por 48 horas para que se alimentassem. Ao submeter os brotos e psilídeos a qPCR, observou-se que nas plantas submetidas às faixas de 12 a 24 e 18 a 30 °C os títulos bacterianos (6,08 e 6,17 log CLas / g tecido, respectivamente) e as porcentagens de aquisição da bactéria pelos psilídeos (52 e 28 %, respectivamente) foram maiores do que nas plantas expostas à faixa de 24 a 38 °C (título de 3,18 log CLas / g tecido e 2 % de aquisição pelos psilídeos).

De acordo com o levantamento anual de HLB do Fundecitrus (FUNDECITRUS, 2023c), em 2023 a incidência estimada de plantas com HLB no cinturão citrícola paulista e na região do Triângulo Mineiro foi de 38,06 %, um aumento de 124,9 e 55,8 % em relação às incidências de 2016 (16,92 %) e 2022 (24,42 %), respectivamente. A grande variação na incidência entre as diferentes regiões observada em 2023 (Fig. 2) foi similar à observada nos anos anteriores. No geral, as regiões centrais do cinturão são as mais afetadas, com a incidência diminuindo gradualmente à medida que se distancia em direção ao norte e ao sul. Na região de Matão,

representativa do centro do cinturão citrícola, em 2023 a incidência foi de 17,42 %, apresentando uma diminuição de 1,02 % e um aumento de 95,73 % em relação às incidências de 2016 (17,6 %) e 2022 (8,90 %), respectivamente. No mesmo ano, no Triângulo Mineiro a incidência foi de 0,35 %, representando uma diminuição de 67,29 % e aumento de 3400 % em relação às incidências de 2016 (1,07 %) e 2022 (0,01 %), respectivamente. Em Itapetininga, por sua vez, em 2023 a incidência foi de 11,47 %, um aumento de 659,60 % e 60,42 % com relação às incidências de 2016 (1,51 %) e 2022 (7,15 %), respectivamente.

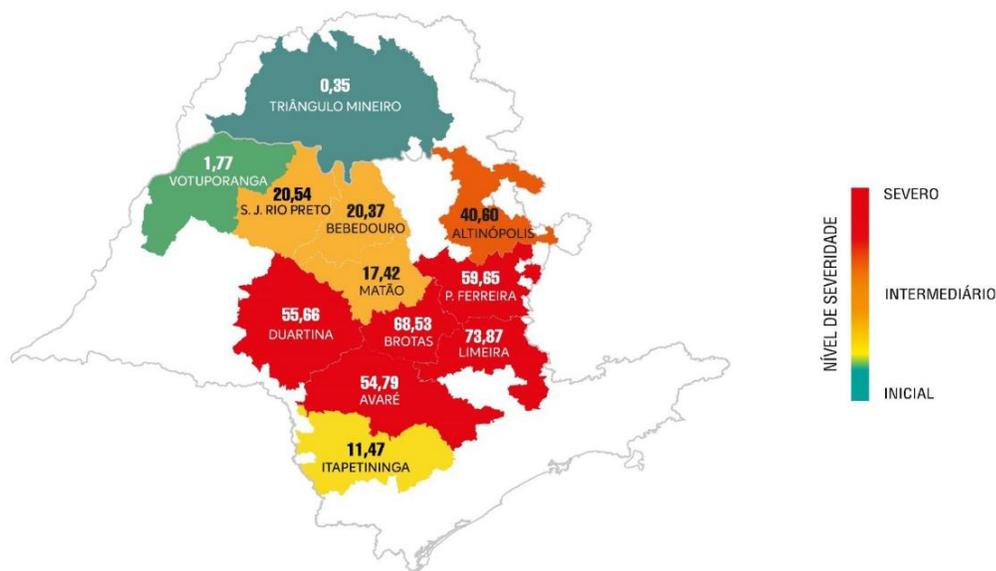


Figura 2. Incidência de plantas cítricas com sintomas de HLB nas diferentes macrorregiões do parque citrícola brasileiro no ano de 2023 (FUNDECITRUS, 2023c)

Apesar de fatores como densidade e tamanho de propriedades, idade dos pomares, tipo de manejo adotado, erradicação ou não de plantas sintomáticas, resistência do psilídeo à inseticidas, qualidade das pulverizações e realização ou não de poda e irrigação serem fatores de extrema importância na epidemia do HLB, do ponto de vista climático, acredita-se que a menor incidência da doença no extremo norte esteja associada às maiores temperaturas e à maior restrição hídrica, com chuvas concentradas na primavera e verão, resultando em um menor número de picos vegetativos nas plantas cítricas. Tais picos têm duração curta, pois os brotos emitidos se desenvolvem e amadurecem mais rápido do que nas demais regiões, estando por menos tempo expostos à alimentação e reprodução do psilídeo. Tais condições ambientais também devem prejudicar a multiplicação e a movimentação da bactéria em plantas infectadas (RAIOL-JUNIOR

et al., 2021), o que dificulta sua aquisição e disseminação pelo psilídeo. Já no extremo sul, o que pode estar afetando a disseminação da bactéria do HLB são as temperaturas mais baixas do outono e inverno, retardando o desenvolvimento do psilídeo, tendo em vista que as chuvas frequentes contribuem para ocorrência de brotos (fontes de alimento) na maior parte do tempo (FUNDECITRUS, 2023c).

O impacto das condições ambientais sobre o hospedeiro, vetor e patógeno ajudam a explicar o contraste da incidência do HLB no parque citrícola. Um melhor entendimento de tal impacto poderia servir de base para o aprimoramento regional do manejo, bem como para a decisão de onde iniciar novos plantios, uma vez que a migração de produtores para regiões menos afetadas, dentro e fora do atual parque citrícola, tem sido crescente nos últimos anos. Vários estudos já foram conduzidos com o objetivo de se entender o impacto do clima sobre o patossistema HLB, porém, os estudos têm abrangido principalmente a região central do parque citrícola. Para regiões com maiores contrastes climáticos, como o extremo norte e sul do cinturão, onde o plantio de citros se encontra em franca expansão em decorrência da menor incidência de HLB em relação à região central, há pouca informação disponível. De acordo com o Inventário de Árvores do Fundecitrus de 2023, a área cultivada com laranja da região de Matão, Triângulo Mineiro e Itapetininga na safra de 2015/16 era de 47459, 25750 e 17746 hectares (ha), respectivamente, ao passo que na safra 2023/24 a área da região de Matão reduziu para 35688 ha (9,2 % da área cultivada com laranja do cinturão citrícola) e as áreas do Triângulo Mineiro e Itapetininga aumentaram para 28239 (7,3 %) e 24928 ha (6,4 %), respectivamente. Dessa forma, o aumento da importância das regiões no extremo norte e sul do cinturão citrícola se faz nítido. Contudo, não está claro em que intensidade o clima é responsável pela baixa incidência de HLB no extremo norte ou se há outros fatores que contribuam para tal, como a menor área de cultivo de citrus nessas regiões, resultando em um certo isolamento espacial entre as propriedades.

A fim de trazer mais informações sobre o impacto do ambiente sobre os três componentes do patossistema HLB, o objetivo deste trabalho foi comparar a influência do clima de diferentes épocas e das regiões de Capão Bonito - SP (extremo sul), Araraquara - SP (região central) e Frutal - MG (extremo norte) sobre (i) o desenvolvimento de brotações em mudas CLas-, (ii) emergência de adultos F1 em brotos de mudas CLas-, e (iii) multiplicação de CLas em brotos de mudas CLas+.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Caracterização e localização das áreas experimentais

O experimento foi conduzido em três diferentes ambientes: Capão Bonito - SP, Araraquara - SP e Frutal - MG. As plantas foram mantidas a no máximo 40 cm do solo, sobre pallets ou vasos e foram distribuídas de maneira inteiramente casualizada nas áreas experimentais, uma vez que as condições ambientais dentro de cada área experimental eram uniformes. Em todos os ambientes, as plantas foram mantidas a céu aberto, sendo expostas às condições climáticas prevalentes, ou seja, às variações de temperatura do ar, UR e pluviosidade. Como as plantas eram irrigadas no mínimo três vezes por semana, não foi avaliado qualquer efeito da deficiência hídrica. A localização aproximada dos ambientes é apresentada na Fig. 3.

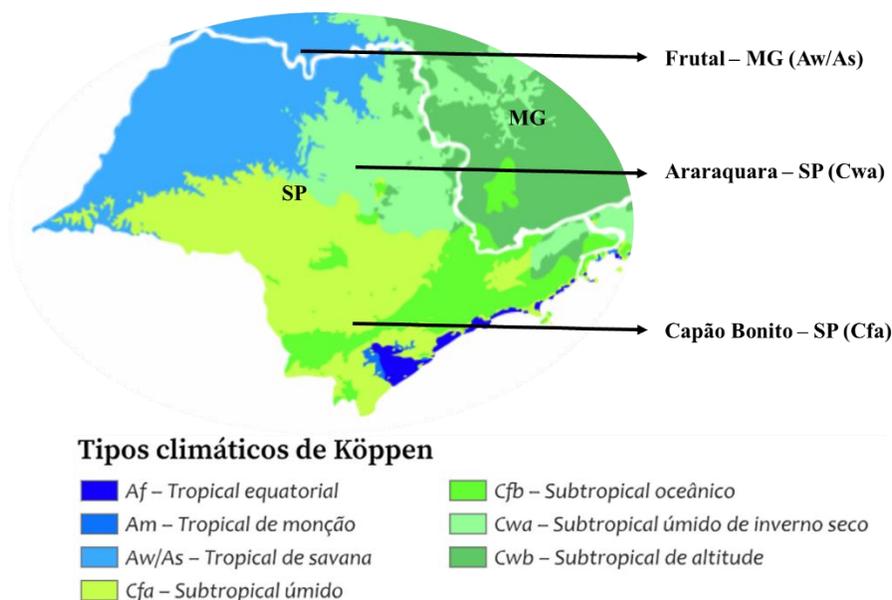


Figura 3. Localização aproximada dos ambientes aos quais as plantas usadas neste estudo foram expostas durante o período de julho de 2022 a outubro de 2023 para avaliação do impacto do clima sobre o desenvolvimento de brotações e emergência de psilídeos F1 em plantas cítricas CLas-, e multiplicação de CLas em plantas cítricas afetadas por Huanglongbing. Os ambientes foram identificados sobre o mapa dos estados de São Paulo e Minas Gerais mostrando cores indicativas de diferentes tipos de climas, categorizados com base na classificação de Köppen - Geiger (adaptado de ALVARES et al., 2013 apud HUNTER, 2020).

2.1.1. Ambiente de Capão Bonito - SP

As mudas foram colocadas em um ambiente externo localizado na área urbana do município de Capão Bonito - SP (Fig. 4), na posição geográfica 24°00'42,8"S e 48°20'53,5"O, à

altitude de 695 m acima do nível do mar. O clima da região é do tipo Cfa (subtropical úmido), com verões quentes e invernos amenos. O município não possui estação seca expressiva, pois as chuvas são distribuídas ao longo do ano (ALVARES et al., 2013; KÖPPEN; GEIGER, 1928), com média no período de 1993 a 2023 de 1510 mm anuais, variando de 51 mm no mês mais seco (agosto) e 257 mm no mês mais úmido (janeiro). A temperatura média dos meses mais quentes foi de 27 °C (janeiro e fevereiro) e a dos meses mais frios de 12 °C (junho, julho e agosto) (CLIMATEMPO, 2023).



Figura 4. Área experimental em Capão Bonito - SP.

2.1.2. Ambiente de Araraquara - SP

Em Araraquara, as mudas foram alocadas no Campo Experimental da Universidade de Araraquara (UNIARA) (Fig. 5), na posição geográfica 21°42'55,3"S 48°12'05,8"O e altitude de 692 m acima do nível do mar. De acordo com o sistema Köppen-Geiger (1928) o clima da região é do tipo Cwa (subtropical úmido de inverno seco), caracterizado por verões quentes e úmidos e invernos amenos e secos. De 1993 a 2023, a média anual de acumulado pluviométrico foi de 1528 mm, variando de 27 mm no mês mais seco (julho) a 280 mm no mês mais úmido (janeiro). As médias diárias de temperatura do ar do mês mais quente (fevereiro, outubro e novembro) e mais frio (junho e julho) foram de 30 e 14 °C, respectivamente (CLIMATEMPO, 2023).



Figura 5. Área experimental em Araraquara - SP.

2.1.3. Ambiente de Frutal – MG

As mudas foram alocadas no Sítio Bentinho (Fig. 6), localizado no município de Frutal – MG, na posição geográfica 20°03'44,7"S 48°56'55,4"O e altitude de 480 m acima do nível do mar. O clima da região é do tipo Aw (tropical de savana), com verões quentes e úmidos e invernos amenos e secos (ALVARES et al., 2013; KÖPPEN; GEIGER, 1928). De 1993 a 2023, a média anual de acumulado pluviométrico foi de 1516 mm, variando de 13 mm no mês mais seco (julho) a 284 mm no mês mais úmido (janeiro). As médias diárias de temperatura dos meses mais quentes (setembro e outubro) e mais frios (junho e julho) foram de 31 e 16 °C, respectivamente (CLIMATEMPO, 2023).



Figura 6. Área experimental em Frutal - MG.

2.2. Condução dos experimentos

Para a realização do estudo foram utilizados dois grupos homogêneos de plantas: CLas- (experimento 1) e outro CLas+ e sintomático (experimento 2). Ambos os grupos são compostos por mudas de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, cultivadas em sacolas de plástico de 4 L, com substrato orgânico comercial composto por casca de pinheiro. As plantas CLas+ haviam sido inoculadas com CLas há pelo menos um ano antes de serem usadas. A inoculação foi feita por meio do confinamento de psilídeos infectivos em brotações jovens (LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021) ou por enxertia de segmentos de ramos infectados por CLas no caule (LOPES; FRARE, 2007). No experimento 1 foram avaliados o desenvolvimento do broto e a emergência de psilídeos F1, e no experimento 2 o título de CLas em brotações. O experimento foi iniciado em julho de 2022 em Capão Bonito e Araraquara e em agosto de 2022 em Frutal, e encerrado em outubro de 2023 em todos os ambientes. A cada 21 dias um lote de 10 mudas CLas- e 4 mudas CLas+ era transportado da sede do Fundecitrus até os ambientes indicados, onde eram podados simultaneamente.

No experimento 1, as mudas CLas- eram podadas a uma altura de 30 cm acima do ponto de enxertia. No momento das podas, a fim de induzir a emissão de novos brotos, removiam-se as quatro folhas localizadas logo abaixo do corte, mantendo-se as demais. Os brotos emitidos eram classificados de acordo com a escala descritiva desenvolvida por Cifuentes-Arenas et al. (2018)

(Fig. 7). Quando a maioria dos brotos emitidos atingia o estágio fenológico V2, selecionava-se o broto apical V2 mais vigoroso (broto principal) e os demais eram removidos manualmente. O broto principal era então envolto por saco de voil, para o interior do qual eram transferidos 2 machos e 2 fêmeas de psilídeo, que eram mantidos confinados por 7 dias para propiciar acasalamento e oviposição. Após esse período os insetos eram coletados e sacrificados, mantendo-se o voil a fim de se manter aprisionada a prole resultante. Avaliava-se semanalmente o estágio fenológico do broto principal e dos demais brotos que surgiam dentro do voil (secundários), bem como a contagem e descarte dos psilídeos filhos (F1) resultantes da cópula dos pais. Quando o surgimento de novos psilídeos F1 cessava e os brotos se tornavam maduros (estádio V6), media-se o comprimento do broto principal, finalizava-se as observações e contagens, e procedia-se o descarte das plantas.



Figura 7. Escala descritiva fenológica desenvolvida por Cifuentes-Arenas et al. (2018). Estádio V1: do inchaço da gema (A) até a emergência do broto com menos de 2 mm (B). Estádio V2: elongação inicial do broto com separação entre os pecíolos basais (C), mas com as margens do limbo foliar ainda fechadas (D). Estádio V3: da expansão inicial do limbo foliar e seu destacamento da brotação (E) com as margens das folhas basais abrindo (F) até a emissão de novas folhas cessar. Estádio V4: da abertura de todas as folhas (G) e o número de final de folhas definido (H) até a clorose do ápice do broto. Estádio V5: folhas totalmente expandidas, com coloração verde - amareladas claras, com um gradual endurecimento das folhas da base para o topo (I) e clorose ou abscisão do ápice do broto. Estádio V6: broto totalmente maduro com folhas totalmente endurecidas verde escuras (K) e com gemas dormentes (L). Comparação entre folhas do estágio V5 e V6 (M).

As populações de psilídeo utilizadas foram produzidas em plantas sadias de murta (*Murraya paniculata* (L.)) e tinham, no momento do confinamento, de 20 a 30 dias de idade. Em

decorrência da indisponibilidade de psílídeos, foi necessário usar nos experimentos insetos de diferentes procedências. No período de 04/07/2022 a 20/03/2023 foi usada a população do Fundecitrus; de 10/04/2023 a 29/05/2023 da Fazenda São Carlos da Citrosuco (Nova Europa – SP); em 26/06/2023 da Fazenda Monte Verde da Citrosuco (Itapetininga – SP); em 14/07/2023 da Fazenda Nova Era da Citrosuco (Casa Branca – SP); e em 07/08/2023 novamente do Fundecitrus.

No experimento 2 as plantas CLas+ foram podadas 30 cm acima do ponto de enxertia, de forma a se manter três pernadas. As quatro folhas logo abaixo de cada corte eram desbastadas para estimular a brotação de suas gemas axilares. Quando os novos brotos que surgiam atingiam o estágio V3, coletava-se 5 brotos por planta e os enviava, em recipientes de isopor com gelo, para o laboratório do Fundecitrus, a fim de se realizar a extração do DNA (MURRAY; THOMPSON, 1980; TEIXEIRA et al., 2005) e estimar o título bacteriano a partir dos valores de Ct resultante da Reação em Cadeia da DNA Polimerase (qPCR) (LI; LEVY; HARTUNG, 2009). Todas as mudas CLas+ foram mantidas recobertas por sacos de voil durante todo o tempo para evitar riscos de disseminação de CLas para as plantas não experimentais eventualmente presentes nas vizinhanças.

Para não sofrerem os efeitos de déficit hídrico ou nutricional, semanalmente, as plantas eram irrigadas duas vezes e fertirrigadas uma vez com solução contendo, por 100 litros, 65 g de nitrato de cálcio, 10 g de nitrato de potássio, 60 g de sulfato de magnésio, 4 g de MAP, 3 mL de ácido fosfórico, 2,5 g de “Conmicros Standard”, 1,5 g de ferro quelato e 1,8 g de cobre quelato.

As condições climáticas temperatura do ar e umidade relativa (UR) foram registradas com o uso de registradores automáticos Log Box RHT LCD (Porto Alegre - RS) e a pluviosidade por meio de pluviômetros. Além disso, dados de estações meteorológicas do Sistema de Alerta Fitossanitário do Fundecitrus, localizadas o mais próximo possível das áreas experimentais, foram comparados com os dados das áreas experimentais. A estação meteorológica de Capão Bonito se encontra na coordenada geográfica 24°04'57.9"S 48°14'20.0"S, a 13,6 Km a sudeste da área experimental daquele município; e a de Araraquara na coordenada 21°44'42.5"S 48°14'26.5"O, a 5,2 Km a sudoeste da área experimental. Para o experimento localizado em Frutal foi utilizada a estação de Colômbia, na coordenada 20°11'00.6"S 48°44'06.2"O, localizada a 26,1 Km a sudeste da área experimental.

2.3. Delineamento experimental

O experimento 1 (plantas CLas-) e 2 (plantas CLas+) foram submetidos a 57 tratamentos, que consistiram de 3 ambientes (Capão Bonito, Araraquara e Frutal) x 19 datas de poda. Cada uma das 10 plantas CLas- e 4 plantas CLas+ podadas em cada ambiente e data de poda foi considerada uma repetição, no seu respectivo experimento.

2.4. Avaliações

2.4.1. Associação entre clima e desenvolvimento de brotos em plantas CLas-

No experimento 1, avaliou-se a potencial influência das variáveis climáticas temperatura e UR do ar de cada ambiente e data de poda sobre o tempo de maturação, comprimento final e taxa de crescimento dos brotos das plantas CLas-. As 10 plantas CLas- de cada lote eram podadas em todos os ambientes na mesma data para que emitissem brotações. Quando a maior parte dos brotos atingia o estágio fenológico V2, o broto V2 apical mais vigoroso (broto principal) era selecionado para que os dois casais de psilídeos fossem aprisionados nele para propiciar a cópula, e os demais brotos eram desbastados. Mesmo após o desbaste, a planta, em geral, voltava a emitir novos brotos (brotos secundários). Dessa forma, o **tempo de maturação** é dado pela contagem do número de dias decorridos entre o dia da seleção do broto principal e o dia em que mais de 50 % dos brotos atingiam o estágio V6 (broto principal e brotos secundários). Para a minoria das plantas que não emitiram brotos secundários (emitiram apenas o broto principal), o tempo de maturação foi da data de poda ao dia em que o broto principal se tornou V6. Para se determinar o **comprimento final do broto**, media-se, com régua, a extensão do broto principal quando este atingia o estágio fenológico V6. Para se determinar a **taxa de crescimento**, dividiu-se o comprimento final do broto principal pelo tempo em que mais de 50 % dos brotos atingiram o estágio fenológico V5, uma vez que o broto paralisa o crescimento longitudinal quando atinge o V5. O tempo a V5 é dado pela contagem do número de dias decorridos entre o dia da seleção do broto principal e o dia em que mais de 50 % dos brotos atingiam o estágio V5 (broto principal e brotos secundários). Para a minoria das plantas que não emitiram brotos secundários (contaram só com o broto principal), o tempo a V5 foi da data de poda ao dia em que o broto principal se tornou V5.

2.4.2. Associação entre clima e emergência de psilídeos em plantas CLas-

No experimento 1 avaliou-se também o nível de associação entre a temperatura e UR do ar e pluviosidade de cada ambiente e data de poda com o número de psilídeos F1, ou seja, os psilídeos que chegaram à fase adulta que foram gerados pela cópula dos psilídeos parentais confinados.

2.4.3. Associação entre clima e título de CLas em plantas CLas+

No experimento 2 avaliou-se o nível de associação entre a temperatura e UR do ar de cada ambiente e data de poda com o título de CLas nos brotos das mudas CLas+. Foi adotado como limite máximo de detecção e quantificação de CLas o valor de *cycle threshold* (Ct) de 34,0 (LOPES; LUIZ, 2013).

2.5. Análise estatística dos dados

Análise de variância e comparação de médias. Os dados dos dois experimentos foram submetidos à análise de variância, com médias comparadas pelo teste de Tukey e Skott-Knott, com significância de 5 % de probabilidade. As comparações foram feitas entre ambientes (Tukey) e entre datas de poda dentro de cada ambiente (Scott-Knott) com o uso dos softwares “Statgraphics” versão 19.6.03 (STATGRAPHICS TECHNOLOGIES, 2020) e “RStudio” versão 2022.02.2+485 (R CORE TEAM, 2022). Para o cálculo da média geral de cada variável resposta em cada ambiente levou-se em consideração somente os dados das datas de poda existentes em todos os ambientes, ou seja, dados inexistentes não avaliados (N.A.) não foram utilizados no cálculo da média geral de cada ambiente e nem na comparação de médias entre ambientes. No caso dos dados referentes à emergência de psilídeos F1, a comparação entre diferentes ambientes foi feita levando-se em conta todas as populações de psilídeo utilizadas ao longo do experimento, ao passo que para comparação de diferentes datas de poda dentro de cada ambiente e na análise de correlação para determinação de associação entre variáveis climáticas e psilídeos F1, foram usados somente os dados do período de 18/07/2022 a 20/03/2023, pois este foi o maior período em que todos os psilídeos usados nos experimentos tiveram uma única origem.

Análise de correlação. Para avaliar o impacto das variáveis climáticas (independentes) sobre as variáveis respostas (dependentes), os dados foram submetidos à análise de correlação. As variáveis climáticas usadas foram a pluviosidade acumulada (apenas para psilídeos F1) e tempo de exposição a diferentes faixas de temperatura e UR. As faixas de temperatura e UR foram as mesmas para todas as variáveis respostas. Para temperatura, as faixas foram: número de horas abaixo de 15 °C; entre 15 e 19 °C; entre 20 e 24 °C; entre 25 e 29 °C; entre 30 e 34 °C; e acima de 34 °C. Para UR, as faixas foram: número de horas abaixo de 30 %; entre 30 e 80 %; e acima de 80 %. Com relação ao tempo de exposição, este variou dependendo da variável resposta. Para o **tempo de maturação**, o tempo de exposição foi ele próprio, ou seja, o tempo em dias até que o broto atingisse o estágio V6; para o **comprimento final** e **taxa de crescimento** o tempo de exposição foi o tempo em dias até que o broto atingisse o estágio V5; para o **número de psilídeos F1** o tempo de exposição foi tempo entre a data de confinamento dos psilídeos parentais e a data de emergência de 50 % dos psilídeos F1; e para o **título de CLas**, o tempo de exposição foi de quinze dias antes da coleta dos brotos para análise por qPCR.

3. RESULTADOS

3.1. Clima

Na Tabela 1 são apresentados valores médios de temperatura do ar, UR e acumulado de pluviosidade do período de agosto de 2022 a outubro de 2023 registrados nos data loggers e pluviômetros dos ambientes experimentais (Capão Bonito – SP, Araraquara – SP, Frutal – MG), e nas estações meteorológicas do Sistema de Alerta Fitossanitário do Fundecitrus, localizadas o mais próximo possível das áreas experimentais, a fim de representar os dados climáticos ‘regionais’.

Tabela 1. Variáveis climáticas registradas de agosto de 2022 a outubro de 2023 nas áreas experimentais e em estações meteorológicas do Sistema de Alerta do Fundecitrus (representando os dados ‘regionais’) de Capão Bonito - SP, Araraquara - SP e Frutal – MG (representado pela estação meteorológica de Colômbia – SP).

Variável climática	Local	Município		
		Capão Bonito	Araraquara	Frutal
Temperatura média (°C)	Experimento	21,47	22,75	23,79
	Regional	18,31	21,62	24,18
Temperatura mínima (°C)	Experimento	16,69	17,17	17,71
	Regional	14,81	15,76	18,53
Temperatura máxima (°C)	Experimento	28,53	30,70	32,14
	Regional	23,65	29,15	31,80
UR média (%)	Experimento	74,61	75,56	69,64
	Regional	91,49	78,15	74,78
UR mínima (%)	Experimento	54,88	51,83	48,79
	Regional	70,56	48,24	46,41
UR máxima (%)	Experimento	85,58	90,24	83,02
	Regional	99,85	98,23	95,72
Pluviosidade (mm)	Experimento	1717,65	1846,80	1430,00
	Regional	N.A.	N.A.	N.A.

Na área experimental de Capão Bonito, a temperatura média foi de 21,5 °C, o menor valor quando comparado aos 22,8 e 23,8 °C de Araraquara e Frutal, respectivamente. A temperatura média registrada na área experimental de Capão Bonito (21,5 °C) foi maior do que a regional, registrada na estação meteorológica (18,3 °C), ao passo essas temperaturas foram similares para Araraquara (22,8 e 21,6 °C, respectivamente) e Frutal (23,8 e 24,2 °C, respectivamente).

Na área experimental de Capão Bonito, as temperaturas mínimas também foram as menores, com média de 16,7 °C, frente aos 17,2 e 17,7 °C de Araraquara e Frutal, respectivamente. Em Capão Bonito e em Araraquara, as temperaturas mínimas médias registradas no experimento (16,7 e 17,2 °C, respectivamente) foram maiores do que as regionais (14,8 e 15,8 °C, respectivamente), ao passo que em Frutal a média experimental foi ligeiramente menor do que a regional (17,7 e 18,5 °C, respectivamente).

A área experimental de Capão Bonito registrou temperatura máxima média de 28,5 °C, o menor valor frente aos 30,7 e 32,1 °C registrados em Araraquara e Frutal, respectivamente. Em

Capão Bonito, a temperatura máxima média registrada no experimento (28,5 °C) foi significativamente maior do que a regional (23,7 °C). Em Araraquara e Frutal as temperaturas máximas médias registradas no experimento (30,7 e 32,1 °C, respectivamente) foram pouco maiores do que as registradas nas estações meteorológicas (29,2 e 30,1 °C, respectivamente).

Na área experimental de Frutal, a UR média foi de 69,6 %, o menor valor frente aos 74,6 e 75,6 % de Capão Bonito e Araraquara, respectivamente. As URs médias dos ambientes experimentais foram menores do que as regionais (91,5, 78,2 e 74,8 % para Capão Bonito, Araraquara e Frutal, respectivamente), com destaque para Capão Bonito, que apresentou uma diferença de 16,9 %.

A UR mínima média da área experimental de Frutal foi de 48,8 %, o menor valor quando comparado com os 51,8 e 54,9 % de Araraquara e Capão Bonito, respectivamente. Em Capão Bonito a UR mínima média registrada no experimento (54,9 %) foi menor do que a regional (70,6 %), ao passo que em Araraquara e Frutal as médias experimentais (51,8 e 48,8 %, respectivamente) foram ligeiramente maiores do que as regionais (48,2 e 46,4 %, respectivamente).

A UR máxima média da área experimental de Frutal foi de 83,0 %, o menor valor frente aos 85,6 e 90,3 % de Capão Bonito e Araraquara, respectivamente. As URs máximas médias dos ambientes experimentais foram menores do que as regionais (99,9, 98,2 e 95,7 % para Capão Bonito, Araraquara e Frutal, respectivamente).

No período de agosto de 2022 a outubro de 2023, a pluviosidade acumulada de Frutal foi de 1430 mm, o menor valor comparado aos 1718 e 1847 mm de Capão Bonito e Araraquara, respectivamente.

Na figura 8 são apresentados os valores absolutos diários de temperatura e UR mínimas e máximas registrados nas áreas experimentais de Capão Bonito, Araraquara e Frutal de julho de 2022 a outubro de 2023.

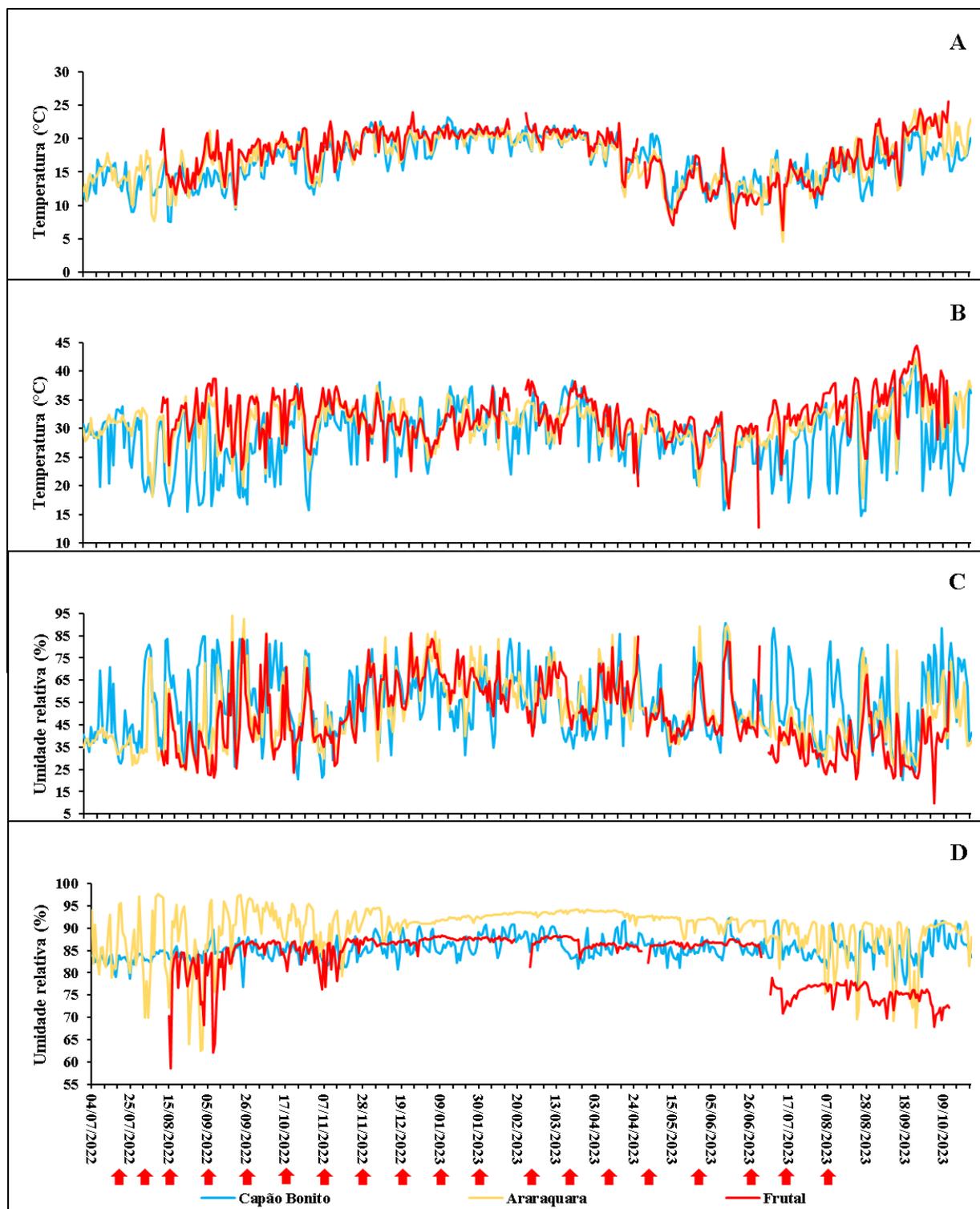


Figura 8. Temperatura mínima (A) e máxima (B) e UR mínima (C) e máxima (D) diárias, registradas de julho de 2022 a outubro de 2023 nas áreas experimentais de Capão Bonito, Araraquara e Frutal. As setas vermelhas indicam a data de poda e início de um novo lote de plantas CLas- e CLas+.

Todas as variáveis climáticas variaram entre os ambientes e em cada um deles. A tendência de menores valores de temperaturas mínimas em Capão Bonito ocorreu durante quase todo o período estudado, com exceção do período de abril a junho de 2023, quando os menores valores ocorreram em Frutal. A temperatura máxima apresentou maior variação do que a mínima entre os ambientes e em cada um deles. As temperaturas máximas de Capão Bonito foram inferiores do que os demais ambientes durante todo o período estudado. Em Capão Bonito, o mês mais frio e mais quente foram setembro de 2022 (temp. média = 17,5 °C) e março de 2023 (temp. média = 25,4 °C), respectivamente; em Araraquara foram junho de 2023 (18,0 °C) e setembro de 2023 (26,0 °C), respectivamente; e em Frutal foram junho de 2023 (18,5 °C) e outubro de 2023 (27,5 °C).

No período de dezembro de 2022 a julho de 2023, as URs mínimas de todos os ambientes se mostraram similares, com a de Capão Bonito se mostrando um pouco menor, enquanto no período de julho a dezembro de 2022 e de julho a outubro de 2023, a UR mínima de Capão Bonito se apresentou significativamente maior do que as demais. No período de agosto a novembro de 2022 e julho a outubro de 2023, a média da UR máxima de Araraquara apresentou grande oscilação, ao passo que de novembro de 2022 a junho de 2023 apresentou uma maior estabilidade entre os 85 a 95 %. Em Capão Bonito, a UR máxima apresentou a menor oscilação durante o período estudado, registrando valores entre 80 e 90 % durante a maior parte do tempo. Em Frutal houve oscilações significativas em agosto e setembro de 2022, passando por um período de estabilidade similar ao de Capão Bonito de setembro de 2022 a julho de 2023, quando apresentou uma queda significativa e se manteve entre 70 e 80 % até outubro de 2023.

Na figura 9 é apresentada a pluviosidade semanal acumulada registrada em cada área experimental de julho de 2022 a outubro de 2023.

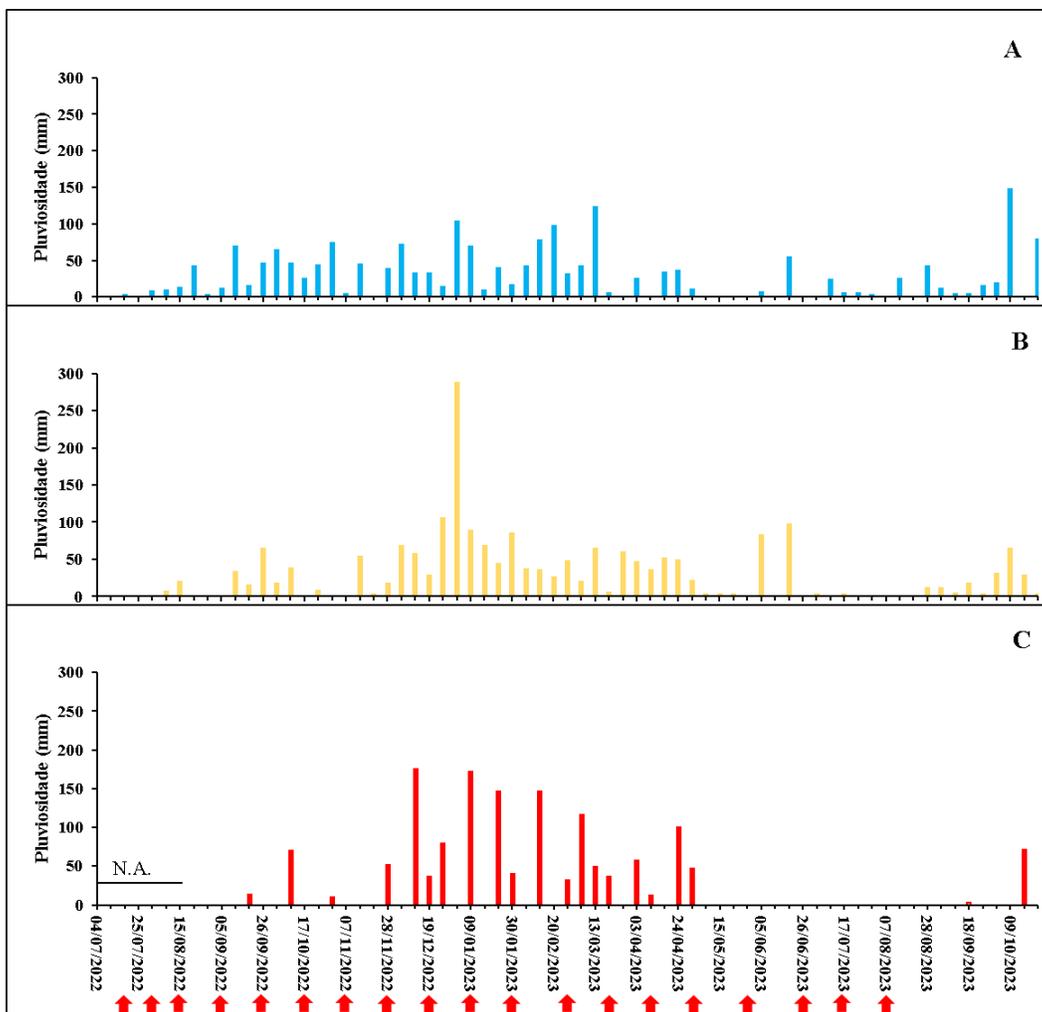


Figura 9. Pluviosidade semanal registradas de julho de 2022 a outubro de 2023 em Capão Bonito (A), Araraquara (B) e Frutal (C). As setas vermelhas indicam a data de poda e início de um novo lote de plantas CLas- e CLas+.

Em Araraquara e Frutal, as chuvas se concentraram no período de novembro de 2022 a abril de 2023, com destaque para Frutal que passou de abril a setembro de 2023 sem chuvas. Capão Bonito foi o ambiente que apresentou a maior uniformidade na distribuição do regime hídrico durante o período estudado.

3.2. Tempo de maturação do broto

O tempo de maturação dos brotos das mudas CLas- variou nos diferentes ambientes ($n = 454$, $F = 69,21$ e $p < 0,0001$) e nas diferentes épocas em cada ambiente ($n = 162$ e $F = 17,36$ para Capão Bonito; $n = 163$ e $F = 49,07$ para Araraquara; $n = 166$ e $F = 21,99$ para Frutal; e $p < 0,0001$ para todos os ambientes) (Fig. 10). Os brotos amadureceram mais rápido em Frutal (43,8 dias),

seguido de Araraquara e Capão Bonito (47,8 e 57,7 dias, respectivamente). Em Frutal os brotos amadureceram mais rápido de 01/08/2022 a 02/05/2023 e em 26/06/2023, e mais lentamente em 29/05/2023, 14/07/2023 e 07/08/2023; em Araraquara os brotos amadureceram mais rápido de 18/07/2022 a 10/04/2023, 26/06/2023 e 07/08/2023 e mais lentamente em 02/05/2023, 29/05/2023 e 14/07/2023; e em Capão Bonito os brotos amadureceram mais rápido em 05/09/2022, de 17/10/2022 a 10/04/2023, 14/07/2023 e 07/08/2023 e mais lentamente de 18/07/2022 a 15/08/2022, em 26/09/2022 e de 02/05/2023 a 26/06/2023. A data em que os brotos amadureceram mais lentamente foi 02/05/2023 em Capão Bonito e 14/07/2023 em Araraquara e Frutal.

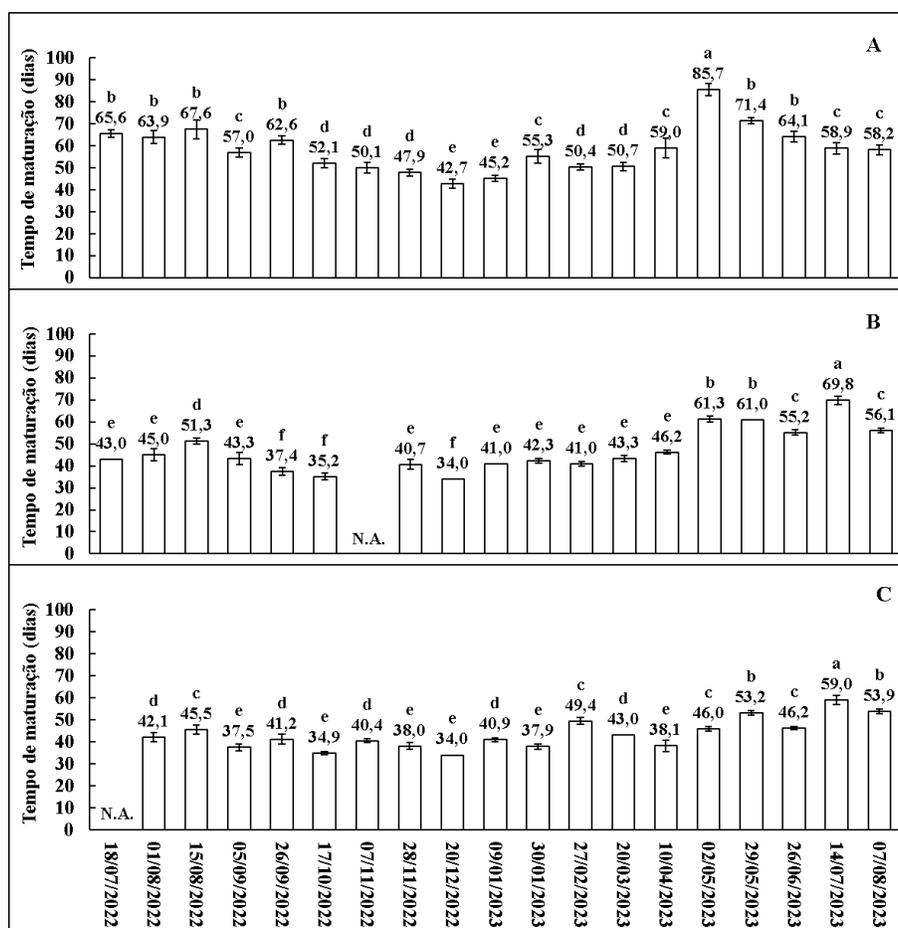


Figura 10. Médias do tempo de maturação (dias) dos brotos de mudas CLas- de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, podadas em diferentes datas de julho de 2022 a agosto de 2023 em Capão Bonito (A), Araraquara (B) e Frutal (C). Médias seguidas pela mesma letra minúscula (comparação de diferentes datas em um mesmo ambiente) não diferem entre si pelo teste Scott Knott ($p = 0,05$).

3.3. Comprimento final do broto

O comprimento final dos brotos das mudas CLAs- não variou nos diferentes ambientes ($n = 410$, $F = 0,24$ e $p = 0,79$), mas variou nas diferentes épocas em cada ambiente ($p < 0,0001$) (Fig. 11). Em Capão Bonito, os brotos cresceram mais de 18/07/2022 a 15/08/2022, em 26/09/2022, 26/06/2023 e 07/08/2023. Em Araraquara, os brotos cresceram mais em 26/09/2022 e em 14/07/2023. Em Frutal, os brotos cresceram mais em 15/08/2022 e em 14/07/2023.

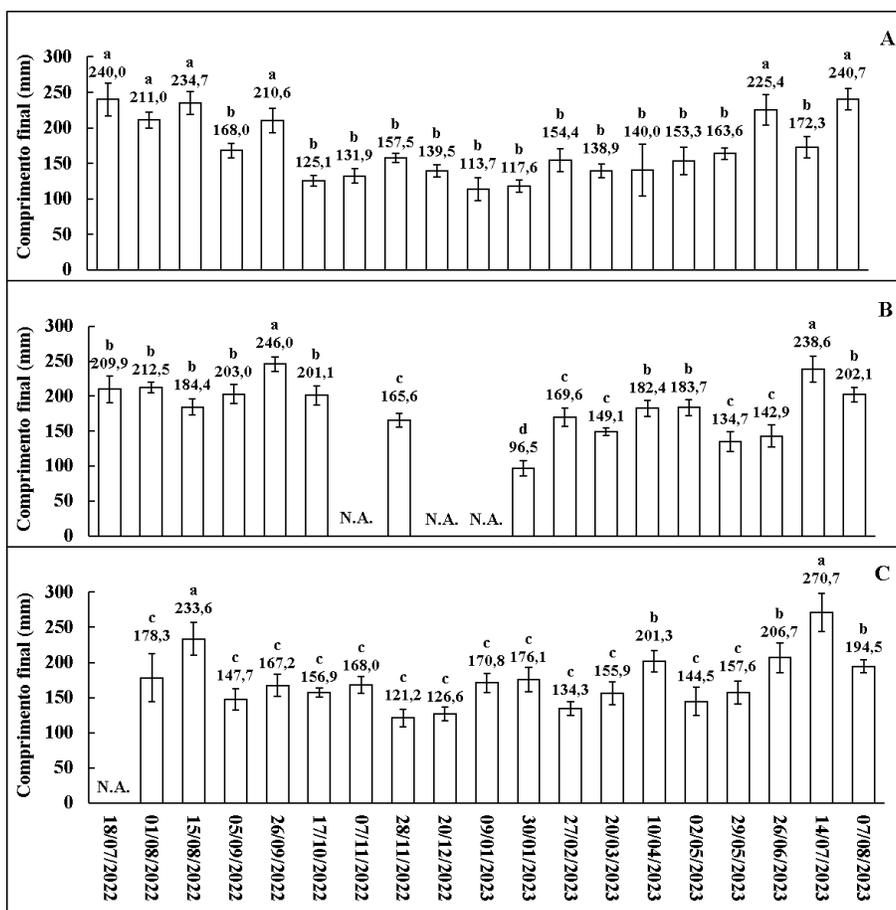


Figura 11. Médias do comprimento final (mm) dos brotos de mudas CLAs- de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, podadas em diferentes datas de julho de 2022 a agosto de 2023 em Capão Bonito (A), Araraquara (B) e Frutal (C). Médias seguidas pela mesma letra minúscula (comparação de diferentes datas em um mesmo ambiente) não diferem entre si pelo teste Scott Knott ($p = 0,05$).

3.4. Taxa de crescimento do broto

A taxa de crescimento dos brotos das mudas CLAs- variou nos diferentes ambientes ($n = 382$, $F = 6,49$ e $p = 0,0017$) e nas diferentes épocas em cada ambiente ($n = 162$, $F = 3,70$ e $p < 0,0001$ para Capão Bonito; $n = 143$, $F = 4,28$ e $p < 0,0001$ para Araraquara; e $n = 172$, $F = 2,19$ e

$p = 0,0065$ para Frutal) (Fig. 12). Os brotos cresceram mais rápido em Frutal (6,0 mm/dia) do que em Capão Bonito (4,9 mm/dia). A taxa de crescimento em Araraquara (5,5 mm/dia) não diferiu estatisticamente da taxa de crescimento em Capão Bonito ou Frutal. Apesar de não haver diferença estatística de outras datas dentro de cada ambiente, o mês de maio de 2023 registrou as menores taxas para todos os ambientes.

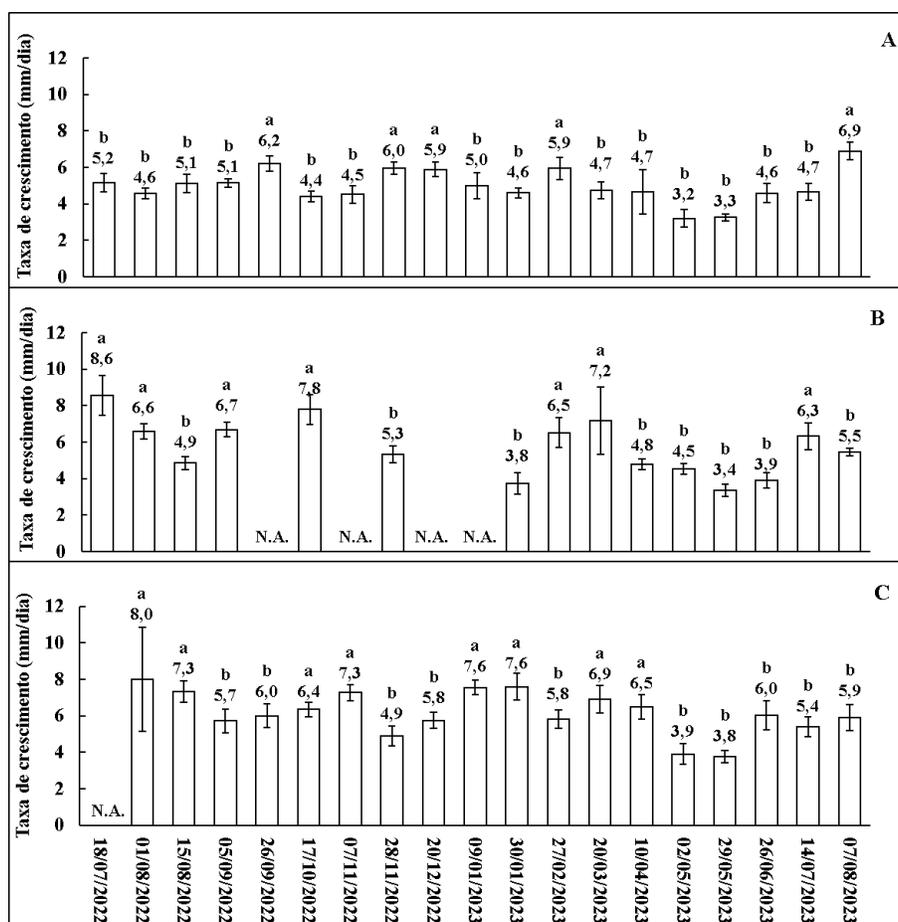


Figura 12. Médias da taxa de crescimento (mm/dia) dos brotos de mudas CLas- de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, podadas em diferentes datas de julho de 2022 a agosto de 2023 em Capão Bonito (A), Araraquara (B) e Frutal (C). Médias seguidas pela mesma letra minúscula (comparação de diferentes datas em um mesmo ambiente) não diferem entre si pelo teste Scott Knott ($p = 0,05$).

3.5. Emergência de *Diaphorina citri*

A comparação estatística da emergência de psilídeos F1 de diferentes datas de poda dentro de cada local só foi feita de 18/07/2022 a 20/03/2023, como detalhado no item 2.5. A emergência de psilídeos F1 variou entre os diferentes ambientes ($n = 424$, $F = 3,88$ e $p = 0,0215$) e nas

diferentes épocas em Capão Bonito e Araraquara ($n = 114$, $F = 10,27$ e $p < 0,0001$ para Capão Bonito; $n = 108$, $F = 3,37$ e $p = 0,0006$ para Araraquara) (Fig. 13), mas não em Frutal ($n = 105$, $F = 1,73$ e $p = 0,08$). Em Frutal houve maior emergência de psilídeos F1 do que em Capão Bonito (49,8 e 34,6 psilídeos F1, respectivamente). A emergência de psilídeos F1 de Araraquara (38,9) não diferiu estatisticamente da emergência observada em Capão Bonito ou Frutal. Em Capão Bonito, a maior quantidade de psilídeos foi contabilizada em 26/09/2022, 28/11/2022, 09/01/2023 e 27/02/2023, e em Araraquara em 26/09/2022, 17/10/2022 e 20/12/2022.

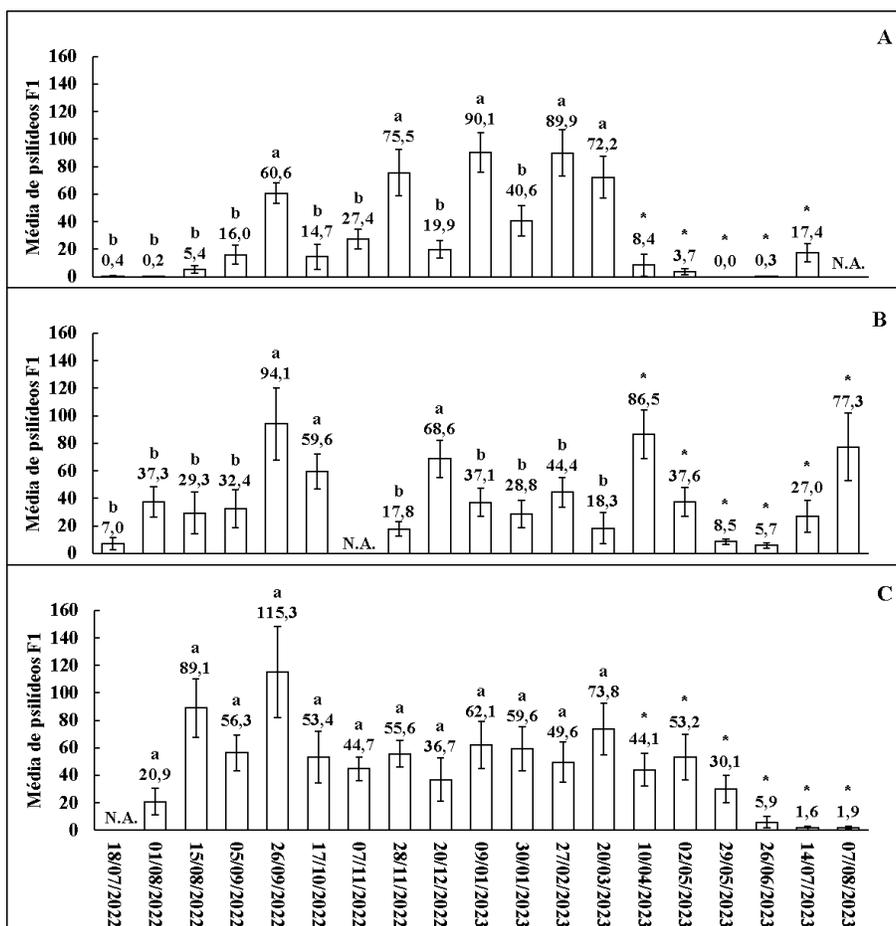


Figura 13. Médias do número de psilídeos F1 gerados pelo aprisionamento de 2 casais de psilídeos parentais por 7 dias em brotos de mudas CLAs- de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, podadas em diferentes datas de julho de 2022 a agosto de 2023 em Capão Bonito (A), Araraquara (B) e Frutal (C). No período de 18/07/2022 a 20/03/2023, médias seguidas pela mesma letra minúscula (comparação de diferentes datas de poda em um mesmo ambiente) não diferem entre si pelo teste Scott Knott ($p = 0,05$). Médias com asterisco (*) não foram comparadas, pois a origem das populações parentais variou.

3.6. Título de *Ca. L. asiaticus*

Para o título bacteriano, foram consideradas para a análise somente as plantas que obtiveram resultados positivos no qPCR (Tabela 2). O título diferiu entre ambientes ($n = 152$, $F = 9,81$ e $p = 0,0001$) e entre datas de poda dentro de cada ambiente ($n = 40$, $F = 4,87$ e $p = 0,0003$ para Capão Bonito; $n = 43$, $F = 3,98$ e $p = 0,0013$ para Araraquara; e $n = 70$, $F = 6,81$ e $p < 0,0001$ para Frutal) (Fig. 14). A maior média de plantas que testaram positivo no qPCR foi a de Frutal (98,6 %), seguida de Araraquara (89,5 %) e Capão Bonito (83,8 %). O título foi menor em Capão Bonito ($3,2 \log \text{Las g}^{-1}$) do que em Araraquara ou Frutal, onde as médias foram iguais ($3,8 \log \text{Las g}^{-1}$). Em Capão Bonito, o título foi maior em 04/07/2022 e de 27/02/2023 a 07/08/2023; em Araraquara em 28/11/2022 e 30/01/2023; e em Frutal houve uma tendência de detecção de maiores títulos nos meses mais quentes: 26/09/2022, 07/11/2022 a 30/01/2023 e 10/04/2023.

Tabela 2. Porcentagem de mudas de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, previamente infectadas por CLAs, que tiveram pelo menos um dos cinco brotos enviados para qPCR com resultado positivo para CLAs. As podas e coletas ocorreram em Capão Bonito - SP, Araraquara - SP e Frutal - MG de julho de 2022 a agosto de 2023.

Ambiente			
Data	Capão Bonito	Araraquara	Frutal
04/07/2022	100,0	100,0	N.A.
01/08/2022	100,0	100,0	100,0
15/08/2022	100,0	50,0	75,0
05/09/2022	50,0	50,0	100,0
26/09/2022	N.A.	100,0	100,0
17/10/2022	75,0	100,0	100,0
07/11/2022	75,0	50,0	100,0
28/11/2022	N.A.	100,0	100,0
20/12/2022	50,0	100,0	100,0
09/01/2023	50,0	100,0	100,0
30/01/2023	100,0	100,0	100,0
27/02/2023	75,0	100,0	100,0
20/03/2023	100,0	100,0	100,0
10/04/2023	100,0	100,0	100,0
02/05/2023	100,0	100,0	100,0
29/05/2023	75,0	50,0	100,0
26/06/2023	75,0	100,0	100,0
14/07/2023	100,0	100,0	100,0
07/08/2023	100,0	100,0	100,0
Média	83,8	89,5	98,6

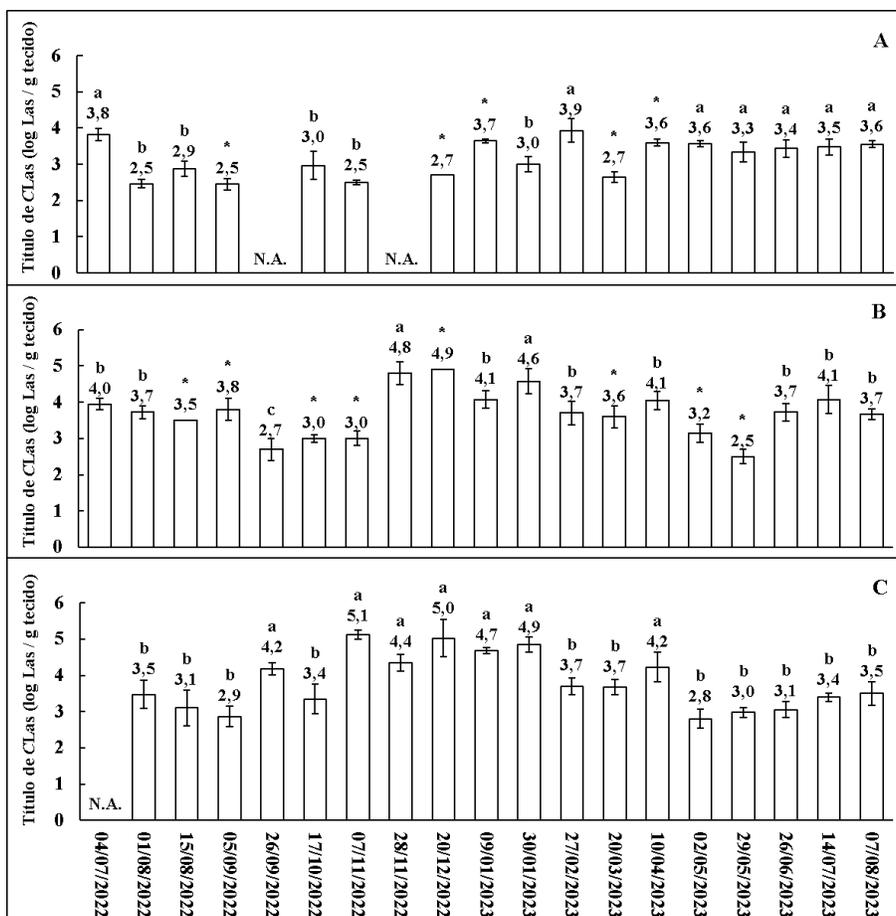


Figura 14. Médias do título de CLas em brotos de mudas de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade, previamente infectadas pela bactéria e podadas em diferentes datas de julho de 2022 a agosto de 2023 em Capão Bonito (A), Araraquara (B) e Frutal (C). Barras sem erro padrão são constituídas por apenas uma planta (repetição). Médias seguidas pela mesma letra minúscula (comparação de diferentes datas em um mesmo ambiente) não diferem entre si pelo teste Scott Knott ($p = 0,05$). Médias com asterisco (*) não foram comparadas, pois o número de repetições foi menor do que 3.

3.7. Associação entre clima e desenvolvimento de brotações, emergência de *Diaphorina citri* e título de *Ca. L. asiaticus*

A Tabela 3 mostra os coeficientes de determinação (R^2) das análises de correlação entre as variáveis resposta (dependentes) e as variáveis climáticas (independentes). As variáveis resposta são tempo de maturação, comprimento final e taxa de crescimento de brotos de mudas CLas-, número de psilídeos F1 gerados em brotos de mudas CLas- e título de CLas em brotos de muda CLas+. As variáveis climáticas são pluviosidade acumulada e horas em diferentes faixas de temperatura e UR. Valores de R^2 maiores ou menores que 0 indicam se associação entre variável dependente e independente é positiva ou negativa.

Tabela 3. Coeficientes de determinação (R^2) entre tempo de maturação, comprimento final, taxa de crescimento de brotos e emergência de psilídeos F1 em brotos de mudas CLas- e título de CLas em mudas CLas+ em brotos de laranjeiras doces ‘Valência’ enxertadas em citrumeleiro ‘Swingle’, com 2 a 3 anos de idade (variáveis dependentes) e horas em diferentes faixas de temperatura e UR e pluviosidade acumulada (variáveis independentes) registradas no período de julho de 2022 a outubro de 2023 em Capão Bonito - SP, Araraquara - SP e Frutal - MG.

Var. resposta	Var. climática	Temperatura					Umidade relativa			Pluviosidade acumulada (mm)	
		Horas abaixo de 15 °C	Horas entre 15 e 19 °C	Horas entre 20 e 24 °C	Horas entre 25 e 29 °C	Horas entre 30 e 34 °C	Horas acima de 34 °C	Horas abaixo de 30%	Horas entre 30 e 80%		Horas acima de 80%
Tempo de maturação broto		47,7**	69,8**	N.S.	13,0**	N.S.	N.S.	N.S.	48,1**	21,1**	N.A.
Comprimento Final broto		N.S.	24,8**	-10,3*	N.S.	N.S.	N.S.	20,5**	29,6**	N.S.	N.A.
Taxa de Crescimento broto		-29,4**	-17,6**	N.S.	-21,1**	12,5*	N.S.	N.S.	N.S.	-21,6**	N.A.
Psilídeos f1		-27,7**	-28,3**	N.S.	N.S.	10,6*	22,9**	N.S.	N.S.	-14,8*	N.S.
Título de CLas		-15,2**	-9,6**	17,1**	17,3**	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	6,5*	N.A.

* $0,01 < p < 0,05$

** $p < 0,01$

N.S. = não significativo ($p > 0,05$)

N.A. = não avaliado

A quantidade de horas abaixo de 15 °C, entre 15 e 19 °C e UR entre 30 e 80 % se associaram positivamente com o tempo de maturação do broto ($R^2 = 47,7$, $69,8$ e $48,1$ %, respectivamente). A quantidade de horas entre 15 e 19 °C e UR entre 30 e 80 % foram as variáveis climáticas que tiveram maior associação (positiva) com o comprimento final do broto ($R^2 = 24,8$ e $29,6$ %, respectivamente). Horas abaixo de 15 °C apresentou a maior associação (negativa) com a taxa de crescimento do broto ($R^2 = 29,4$). A quantidade de horas com temperaturas abaixo de 15 °C e entre 15 e 19 °C tiveram as maiores associações negativas com o número de psilídeos F1 ($R^2 = 27,7$ e $28,3$ %, respectivamente), ao passo que a quantidade de horas acima de 34 °C teve a maior associação positiva ($R^2 = 22,9$ %). Todas as variáveis climáticas tiveram baixa associação com o título de CLas: horas abaixo de 15 °C apresentaram a maior associação negativa ($R^2 = 15,2$ %), ao passo que horas entre 20 e 24 °C e entre 25 e 29 °C apresentaram as maiores associações positivas ($R^2 = 17,1$ e $17,3$ %, respectivamente). Mesmo com associações baixas, observa-se uma tendência de menor multiplicação bacteriana em temperaturas inferiores a 15 °C e maior multiplicação em temperaturas entre 20 e 29 °C.

4. DISCUSSÃO

As temperaturas médias da média, mínima e máxima do ambiente experimental de Capão Bonito foram, respectivamente, 3,2, 1,9 e 4,9 °C superiores às temperaturas regionais, indicadas pelos dados registrados na estação meteorológica instalada em um pomar de cítrico comercial localizado a 13,6 Km a sudeste da área experimental. As médias das URs média, mínima e máxima do ambiente experimental de Capão Bonito foram, respectivamente, 16,9, 15,7 e 14,3 % menores do que as URs regionais. Já em Araraquara e Frutal as temperaturas e URs dos ambientes experimentais foram mais similares às registradas nas estações meteorológicas regionais, localizadas a 5,2 Km a sudoeste e 26,1 Km a sudeste das áreas experimentais, respectivamente. Em Capão Bonito o experimento ficou situado na área urbana, cercado por muros, e, em Araraquara e Frutal, em área rural aberta. Áreas urbanas tendem a ser mais quentes e secas que áreas rurais. Em contraste com o que se observa no ambiente onde a estação meteorológica está instalada, na área experimental de Capão Bonito, a presença de muros pode ter dificultado a circulação de ar e o resfriamento do local, e a ausência de vegetação nos arredores pode ter propiciado menores URs. Dessa forma, é possível que os valores das variáveis estudadas no ambiente experimental de Capão Bonito, a serem discutidas a seguir, fossem diferentes dos observados se o mesmo estudo tivesse sido conduzido no campo, com os impactos observados, principalmente das baixas temperatura, sendo mais acentuados em situação de campo do que no ambiente experimental.

Este estudo trouxe resultados que confirmam resultados já publicados indicando que quanto mais quente é o ambiente e a época do ano, mais rápido o broto amadurece. O tempo para a completa maturação foi menor em Frutal (43,8 dias), onde a temperatura média foi de 23,8 °C, do que em Araraquara (47,8 dias, 22,8 °C) e Capão Bonito (57,7 dias, 21,5 °C). Esses resultados corroboram os de Cifuentes-Arenas (2017) em câmaras de crescimento. Em seus estudos, as plantas expostas à temperatura média de 30,3 °C amadureceram mais rápido (41,4 dias), seguidas pelas plantas expostas a 24,4 °C e 14,8 °C (57,6 e 162,3 dias, respectivamente). Os resultados da análise de correlação indicam que o principal fator associado ao maior tempo de maturação é o frio, ou seja, temperaturas de até 19 °C. Como brotos nos estádios fenológicos V1 a V3 e V1 a V4 são mais favoráveis à reprodução do psilídeo (CIFUENTES-ARENAS et al., 2018) e à infecção por CLas (LOPES; CIFUENTES-ARENAS, 2021), respectivamente, conclui-se que, dos locais

estudados, Capão Bonito apresenta a maior janela de favorabilidade à infecção e reprodução do psilídeo e Frutal a menor. Apesar de nos meses de maio a agosto o tempo de maturação ter sido maior nos três ambientes estudados, dados do Sistema de Alerta Fitossanitário do Fundecitrus indicam que nesses meses quase não há brotações e psilídeos no campo. Tal ausência pode ser causada pelo maior déficit hídrico (mais evidente no norte do cinturão citrícola) e/ou menores temperaturas (mais evidente no sul do cinturão citrícola) observadas no campo nesses meses. Diferentemente da situação de campo, as plantas do presente estudo eram induzidas, por meio de poda e irrigações frequentes, a brotar em todas as épocas do ano. Dessa forma, tudo o que será discutido nos próximos parágrafos tem por premissa a presença constante de brotos nas plantas usadas neste experimento, ou seja, o fato de que as plantas foram induzidas a brotar em épocas que não brotariam naturalmente no campo.

O estudo também aponta que quanto mais quente é o ambiente, mais rápido o broto cresce, com taxas de crescimento maiores em Frutal do que em Capão Bonito. Se, por um lado, pelo maior tempo necessário para completa maturação dos brotos, a janela de exposição à infecção por CLas e reprodução do psilídeo de Capão Bonito é maior do que em Frutal, por outro, a efetividade das aplicações de inseticida em Capão Bonito tende a ser maior do que em Frutal, pois, após uma pulverização de inseticida, o broto irá ficar desprotegido mais lentamente, uma vez que ao crescer mais devagar, a emissão de tecido novo sem cobertura de inseticida também é mais lenta (DE CARLI et al., 2018). Assim, assumindo-se um mesmo intervalo de tempo entre pulverizações (de 7 dias, por exemplo), a área de tecido novo desprotegido entre as pulverizações tende a ser menor em plantas de pomares da região de Capão Bonito do que de plantas cultivadas em um local de temperaturas mais elevadas, como as verificadas no centro ou norte do cinturão. Por outro lado, as chuvas mais frequentes de Capão Bonito podem causar remoção, por lavagem, de maior quantidade do inseticida aplicado nos brotos, podendo comprometer a efetividade das pulverizações para o controle químico do psilídeo nessa região. Ao se levar em conta que no norte do cinturão citrícola há um menor número de picos de fluxo vegetativo de mais curta duração do que na região sul (CONCHAL, 2016; FUNDECITRUS, 2023a) afere-se que, em Frutal, o controle químico do psilídeo poderia ser conduzido em épocas mais definidas (momentos de brotação) e com menor intervalo entre as aplicações do que em Capão Bonito.

Dentro de cada ambiente, a taxa de crescimento dos brotos não variou tanto ao longo do ano, pois, apesar de amadurecerem mais rápido nos meses mais quentes, eles atingiram menores

tamanhos, o oposto do observado por Cifuentes-Arenas (2017). Contudo, no experimento de Cifuentes-Arenas (2017) apenas um broto foi mantido no topo de cada planta, atuando como único dreno de água, nutrientes e fotoassimilados, ao passo de que, no presente experimento, apesar de não quantificados, os vários brotos que surgiam eram mantidos nas plantas até a completa maturação do broto avaliado, atuando como drenos, competindo com o broto avaliado por água, nutrientes e fotoassimilados. Ademais, apesar de os brotos terem amadurecido mais rápido nos meses mais quentes do que nos meses mais frios, durante os meses mais quentes as plantas emitiram maior número de brotos do que nos meses mais frios. Assim, a similaridade nas taxas de crescimento dentro de cada ambiente se deve, possivelmente, à “compensação” dos valores que se obteve ao se dividir um menor comprimento de broto por um menor tempo de maturação nos meses mais quentes com os valores que se obteve ao se dividir um maior comprimento por um maior tempo de maturação nos meses mais frios. Em suma, nos meses mais quentes a água, nutrientes e fotoassimilados foram compartilhados por maior número de brotos (drenos) e, nos meses mais frios, por menor número, fazendo com que nesses meses tenha havido maior quantidade de água, nutrientes e fotoassimilados disponíveis para o crescimento do único broto selecionado para a medição.

A maior emergência de psilídeos nos meses mais quentes (setembro a março) observada em Capão Bonito se aproxima do que é geralmente observado no Sistema de Alerta Fitossanitário do Fundecitrus. Em Frutal, ambiente mais quente, houve maior emergência de psilídeos que em Capão Bonito, mais frio. De fato, a análise de correlação mostrou haver associação negativa entre o número de insetos e temperaturas menores que 19 °C, corroborando os resultados de Liu e Tsai (2000), onde as temperaturas entre 15 e 20 °C fizeram com que o ciclo reprodutivo do psilídeo fosse mais longo, com menores taxas de oviposição e de sobrevivência dos insetos nos estádios imaturos (ovos e ninfas). Os resultados observados neste estudo também corroboram os de Gómez Torres (2009), que estimou que quanto mais baixas são as temperaturas, menores serão o número de ciclos reprodutivos do psilídeo. Contudo, tanto este experimento quanto o trabalho de Gómez Torres (2009) não refletem o que se observa no campo, que mostra, com base no Sistema de Alerta do Fundecitrus, que na região de Araraquara se captura psilídeos em número consideravelmente maior do que na região de Frutal e Itapetininga (região que engloba Capão Bonito), onde o número de insetos capturados é baixo e similar (Itapetininga apresenta capturas ligeiramente maiores que Frutal). O maior número de psilídeos por armadilha adesiva já capturado na série histórica do

Sistema de Alerta são de 7,5 em Araraquara (segunda quinzena de agosto de 2023), 2,2 em Itapetininga (segunda quinzena de setembro de 2023) e 0,7 em Frutal (segunda quinzena de agosto de 2023).

Tais diferenças podem ser explicadas principalmente pelo fato de que tanto no trabalho de Gómez Torres (2009) quanto neste, a biologia dos psilídeos foi avaliada em uma situação alimentar “ideal”, ou seja, na presença constante de brotos, sem os efeitos negativos ocasionados pela falta de alimento no campo. O trabalho de Gómez Torres (2009) não levou em conta os efeitos que a dinâmica regional e sazonal de brotação exerce sobre o psilídeo, como a maior abundância de brotos em regiões e épocas mais úmidas (Capão Bonito e primavera / verão, por exemplo) e menor abundância de brotos em regiões e épocas mais secas (Frutal e outono / inverno, por exemplo) (CONCHAL, 2016; FUNDECITRUS, 2023a). No presente experimento ocorre de forma similar: as plantas foram induzidas à brotação por poda e irrigação, independentemente do ambiente ou época em que se encontravam. Já no campo, o psilídeo depende muito da presença de brotos para sua alimentação e reprodução (HUSAIN; NATH, 1927; CATLING, 1970, 1972; HUANG et al., 1990; CHAVAN et al., 1993) e tal presença em Frutal é mais escassa do que em Araraquara e Capão Bonito (CONCHAL, 2016; FUNDECITRUS, 2023a). Então, se não fosse pela escassez de brotos, provavelmente Frutal seria um ambiente mais favorável do que Araraquara e Capão Bonito para a reprodução do psilídeo. Apesar de o número de psilídeos F1 de Capão Bonito não diferir estatisticamente do de Araraquara, e de neste local haver maior abundância de brotos no campo (Sistema de Alerta e CONCHAL, 2016), as baixas temperaturas parecem ser o fator mais limitante à reprodução do psilídeo (FUNDECITRUS, 2023c), justificando as baixas taxas de captura nas armadilhas adesivas do Sistema de Alerta.

Nos últimos anos tem se verificado maior adensamento de plantas nos pomares do cinturão citrícola, que aumentou de 388 plantas/ha em 2000 para 523 plantas/ha em 2023. Como consequência, a poda lateral e de topo têm se tornado práticas cada vez mais utilizadas pelos citricultores, visando adequar o volume de copa e altura das plantas, a fim de se evitar prejuízo à efetividade de práticas culturais, como as pulverizações. Paralelamente, a irrigação também é outra prática cultural cada vez mais adotada, aumentando de 24,6 % da área dos pomares de laranja do cinturão citrícola em 2015 para 36,3 % em 2023 (FUNDECITRUS, 2022, 2023b). Com a adoção crescente de tais práticas, é possível prever que o padrão de brotação também se altere em nível regional, uma vez que podas e irrigação favorecem a emissão de novos brotos. Dessa forma, é de

se esperar que a abundância em brotos no cinturão citrícola aumente e regiões onde as populações de psíldeo parecem ser historicamente limitadas pela ausência de brotos, como é o caso do norte do cinturão, comecem a ser mais acometidas por HLB. Por outro lado, no caso da região sul, onde as chuvas frequentes já favorecem a emissão de brotos, com a população de psíldeos sendo aparentemente limitada pelas temperaturas mais baixas, é de se esperar que, em anos de condições climáticas atípicas, com temperaturas mais elevadas que o normal, as populações do inseto aumentem de forma não esperada, resultando no aumento da incidência do HLB. É importante considerar também que, assim como no norte, no sul, por conta das menores incidências de HLB, como forma de reduzir riscos de novos investimentos, tem havido grande expansão de novos plantios de citros que, se não manejados adequadamente, podem favorecer a expansão da doença.

Quanto ao título bacteriano, CLas atingiu maiores títulos em Frutal e Araraquara ($3,8 \log \text{CLas g}^{-1}$) do que em Capão Bonito ($3,2 \log \text{CLas g}^{-1}$). Além disso, em Capão Bonito, que foi mais frio, menor porcentagem de plantas apresentou resultado positivo no qPCR para CLas em seus brotos (83,8 %) quando comparado com Araraquara e Frutal (89,5 % e 98,6%, respectivamente). A análise de correlação indicou que temperaturas menores que $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ desfavoreceram a multiplicação da bactéria ($R^2 = -15,2 \%$), enquanto temperaturas entre 20 e $24 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 25 e $29 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($R^2 = 17,1$ e $17,3 \%$, respectivamente) a favoreceram. Talvez o menor título bacteriano e a menor proporção de plantas testadas positivas em Capão Bonito se deva à uma menor translocação de CLas no floema das plantas nesse local, ocasionado pelo frio, corroborando os resultados de Raiol-Junior et al. (2021) que, ao compararem o efeito de diferentes regimes de temperatura na translocação de CLas no floema de plantas cítricas, constataram translocação mais lenta no regime de frio (8 a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$) do que no regime quente (24 a $38 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ou intermediário (18 a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$), com $25,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$ sendo a temperatura onde a translocação foi mais rápida. Além disso, os autores constataram que, sob temperaturas menores que $25,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$, o impacto negativo na velocidade de translocação foi maior do que sob temperaturas mais altas do que $25,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

O fato de a multiplicação bacteriana ter sido menor em Capão Bonito do que em Frutal e Araraquara e de temperaturas inferiores a $18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ desfavorecerem CLas diferem dos resultados de Lopes et al. (2017) que constataram, em plantas cítricas adultas em campo nos municípios Analândia - SP, Comendador Gomes e Frutal - MG, que quanto maior o número de horas abaixo de $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e maior o volume de chuvas nos últimos 7 a 15 dias antes da data em que os brotos foram analisados por qPCR, maior era o título bacteriano. Aqui temos que considerar que, diferentemente

dos materiais e procedimentos adotados no presente trabalho, nos trabalhos de Lopes et al. (2017) as plantas eram adultas, cultivadas comercialmente no campo, inoculadas naturalmente por psilídeos, com níveis variáveis de sintomas nas copas e mantidas no interior de estruturas envoltas por tela antiafídicas, onde as temperaturas atingiram valores muito acima que os registrados a céu aberto. Assim, as diferentes condições experimentais mencionadas podem ser as causas da não concordância dos resultados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nesse trabalho conclui-se que o ambiente e épocas do ano impactam significativamente o desenvolvimento de brotações, a biologia do psilídeo e a multiplicação de CLas. Os dados gerados podem ser usados no aprimoramento do controle psilídeo e mitigação do HLB, embora mais informações experimentais sejam necessárias como, por exemplo, (i) a definição dos riscos que maiores ou menores populações do inseto vetor representam para a infecção das plantas e (ii) a definição de qual é a área máxima desprotegida aceitável de um broto afim de orientar a frequência e intervalo entre pulverizações.

As informações geradas sobre o impacto do ambiente no desenvolvimento dos brotos permitem sugerir que, para um melhor controle do psilídeo, mudanças regionais na frequência e intervalos entre pulverizações possam ser feitas. De forma geral, no sul do cinturão citrícola, em momentos de ausência de chuvas, as pulverizações de inseticidas poderiam ser conduzidas em intervalos maiores, uma vez que nesta região os brotos crescem mais devagar, o contrário da região norte do cinturão, onde as pulverizações poderiam ser concentradas em épocas de picos de brotação, com menores intervalos entre si, uma vez que, nessas regiões, as plantas passam menos tempo vegetando e os seus brotos crescem mais rápido.

Os resultados desse estudo também permitem concluir que o que limita, ao menos parcialmente, a progressão da epidemia de HLB no sul são as baixas temperaturas e no norte a escassez de brotações, neste caso ocasionada pela menor disponibilidade hídrica dessa região, ambas as situações afetando a biologia do psilídeo. Dessa forma, é possível aferir que regiões com características climáticas similares às do extremo norte e sul do cinturão citrícola devem oferecer menor risco a novos plantios de citros do que regiões de clima similar ao do centro do cinturão. Há que se considerar, no entanto, que esse padrão pode e vem sendo alterado nos últimos anos em

decorrência de mudanças nas práticas culturais, como a maior adoção da poda e irrigação, e da atuação de eventos climáticos como ‘La Niña’, ‘El Niño’ e aquecimento global. Consequentemente, regiões em que atualmente a incidência de HLB é baixa podem, no futuro, vir a ser acometidas por maiores incidências. Por isso é importante ressaltar que, independentemente da incidência e particularidades de cada local, os pilares do manejo do HLB devem ser seguidos rigorosamente em todos eles, o que inclui um cuidadoso planejamento do plantio, plantio de mudas saudáveis certificadas, erradicação de plantas infectadas dentro e fora das propriedades, eficiente controle do psíldeo em nível de propriedade e regional, por meio de correta rotação de inseticidas e adequada cobertura das copas, manejo intensificado nas bordas das propriedades e aceleração do crescimento e produtividade das plantas. Assim sendo, nenhuma das sugestões decorrentes deste estudo são permanentes, mas contribuem com o setor ao trazer aos citricultores informações adicionais importantes sobre os fatores envolvidos na disseminação de CLAs nos pomares, facilitando assim suas tomadas de decisão para um controle mais efetivo do HLB e na escolha de regiões menos arriscadas para início de novos plantios.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMI, A. C. DE O.; MIRANDA, S. H. G.; BARROS, G. S. DE C. **IMPACTO DO GREENING SOBRE O MERCADO INTERNACIONAL DE SUCO DE LARANJA.** Heterogeneidade e duas Implicações no Rural Brasileiro. **Anais...Goiânia-GO: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**, 27 jul. 2014. Disponível em: <<http://icongresso.itarget.com.br/tra/arquivos/ser.4/1/3658.pdf>>. Acesso em: 4 jul. 2022

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, ago. 2013.

ATIHE JUNIOR, J. et al. **INCIDÊNCIA DE HUANGLONGBING (HLB) (GREENING) EM CITROS NA REGIÃO DE ARARAQUARA.** Laranja. **Anais...Cordeirópolis-SP: 10 jun. 2005.** Disponível em: <<https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00001488.pdf>>. Acesso em: 1 jul. 2022

AUBERT, B. **Integrated activities for the control of Huanglongbing/Greening and its vector Diaphorina citri Kuwayama in Asia.** (B. Aubert, S. Tontyaporn, D. Buangsuwon, Eds.) Rehabilitation of Citrus Industry in Asia Pacific Region. **Anais...Chiang Mai, Tailândia: FAO-UNDP**, 4 fev. 1990. Disponível em: <<https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00001518.pdf>>. Acesso em: 2 jul. 2022

BASSANEZI, R. B. et al. Overview of citrus huanglongbing spread and management strategies in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, n. 3, p. 251–264, 2020.

BELASQUE JUNIOR, J. et al. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 3, p. 137–145, 2009.

BOVÉ, J. M. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, p. 7–37, 31 jan. 2006.

CANALE, M. C. et al. Latency and Persistence of “Candidatus Liberibacter asiaticus” in Its Psyllid Vector, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). 2017.

CAPOOR, S. P.; RAO, D. G.; VISWANATH, S. M. **Greening disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationship with the vector, Diaphorina citri Kuwayama.** International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010). **Anais...1974.**

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

CATLING, H. D. **Factors regulating populations of psyllid vectors of greening.** International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010). **Anais...1972.**

CHAVAN, V. M. et al. **Population dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw., in Maharashtra.** International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010). **Anais...**1993.

CIFUENTES-ARENAS, J. C. **HUANGLONGBING E *Diaphorina citri*: ESTUDOS DAS RELAÇÕES PATÓGENO-VETOR-HOSPEDEIRO.** Jaboticabal-SP: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017.

CIFUENTES-ARENAS, J. C. et al. Citrus flush shoot ontogeny modulates biotic potential of *Diaphorina citri*. **PLoS ONE**, v. 13, n. 1, 1 jan. 2018.

CLIMATEMPO. **Climatologia.** Disponível em: <<https://www.climatempo.com.br/climatologia/423/capaobonito-sp>>. Acesso em: 9 jul. 2023.

COLETTA-FILHO, H. D. et al. First Report of the Causal Agent of Huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”) in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, n. 12, p. 1382, 1 dez. 2004.

COLETTA-FILHO, H. D. et al. Temporal Progression of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” Infection in Citrus and Acquisition Efficiency by *Diaphorina citri*. 2014.

CONCHAL, R. R. **Influência do clima e fontes externas de inóculo na evolução de huanglongbing em três propriedades citrícolas.** Araraquara-SP: Fundecitrus, 2016.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Huanglongbing HLB, greening dos citros.** Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/informativo/defesa-agrosp-no-027-outubro2023/huanglongbing-hlb-greening-dos-citros/>>. Acesso em: 18 jun. 2024.

DE CARLI, L. F. et al. Leaf age affects the efficacy of insecticides to control Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 142, n. 7, p. 689–695, 1 ago. 2018.

FUNDECITRUS. **Citricultor.** 56. ed. Araraquara-SP: Fundecitrus, 2021.

FUNDECITRUS. **Tree Inventory and Orange Crop Forecast for the São Paulo and West-Southwest Minas Gerais Citrus Belt. 2022,** 2022. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2022_07_01_Tree_Inventory_and_Orange_Crop_Forecast_2022-2023.pdf>. Acesso em: 14 maio. 2024

FUNDECITRUS. **Alerta Fitossanitário.** Disponível em: <<http://alerta.fundecitrus.com.br/fundecitrus/wpgraficos.aspx>>. Acesso em: 30 ago. 2023a.

FUNDECITRUS. **Tree Inventory and Orange Crop Forecast for the São Paulo and West-Southwest Minas Gerais Citrus Belt. 2023**Fundecitrus Araraquara, SP, Brazil, 2023b. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2023_06_05_Tree_Inventory_and_Orange_Crop_Forecast_2023-2024.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2024

FUNDECITRUS. **Levantamento da incidência das doenças dos citros: greening, CVC e cancro cítrico.** Araraquara-SP: [s.n.]. Disponível em:

<https://www.fundecitrus.com.br/pdf/levantamentos/Levantamento_de_doencas_2023_completo.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2023c.

FUNDECITRUS. **Alerta: pesquisa confirma início da resistência do psilídeo a organofosforado.** Disponível em:

<<https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/alerta-pesquisa-confirma-inicio-da-resistencia-do-psilideo-a-organofosforado/1367>>. Acesso em: 10 maio. 2024d.

FUNDECITRUS. **Reestimativa da safra de laranja 2023/24 do Cinturão Citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro - cenário em abril/2024.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/0424_Fechamento_da_Safra_de_Laranja.pdf>. Acesso em: 28 maio. 2024.

GÓMEZ TORRES, M. L. **Estudos bioecológicos de Tamarixia radiata (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de Diaphorina citri Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae).** Piracicaba-SP: ESALQ/USP, 2009.

GOTTWALD, T. R. Current epidemiological understanding of citrus huanglongbing. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 119–139, 2010.

HUANG, C. H. et al. Incidence and spread of citrus likubin in relation to the population fluctuation of *Diaphorina citri*. 1990.

HUNTER, A. **Tipos climáticos da Região Sudeste do Brasil.** Disponível em: <https://pt.m.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Clima_da_Regi%C3%A3o_Sudeste_%28K%C3%B6ppen%29.svg>. Acesso em: 21 ago. 2023.

HUSAIN, M. A.; NATH, D. The Citrus Psylla (*Diaphorina citri*, Kuw.) Psyllidae: Homoptera. 1927.

IBGE. **Produção Agropecuária.** Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. Acesso em: 28 maio. 2024.

JESUS JUNIOR, W. C. DE et al. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as principais doenças de citros no Estado de São Paulo Capítulo 14. Em: GHINI, R.; HAMADA, E. (Eds.). **Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil.** 1. ed. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 235–256.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. *Klimate der erde.* Gotha: verlag justus perthes. **Wall-map 150cmx200cm**, p. 91–102, 1928.

LEE, J. A. et al. Asymptomatic spread of huanglongbing and implications for disease control. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 24, p. 7605–7610, 16 jun. 2015.

LEWIS-ROSENBLUM, H. et al. Seasonal Movement Patterns and Long-Range Dispersal of Asian Citrus Psyllid in Florida Citrus. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 1, p. 3–10, 1 fev. 2015.

LI, W.; LEVY, L.; HARTUNG, J. S. Quantitative Distribution of “Candidatus Liberibacter asiaticus” in Citrus Plants with Citrus Huanglongbing. v. 99, n. 2, p. 139, 2009.

LIU, Y. H.; TSAI, J. H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, v. 137, n. 3, p. 201–206, 13 jun. 2000.

LOPES, S. A. et al. ‘Candidatus Liberibacter asiaticus’ Titters in Citrus and Acquisition Rates by *Diaphorina citri* Are Decreased by Higher Temperature. **Plant Disease**, v. 97, n. 12, p. 1563–1570, 2013.

LOPES, S. A. et al. Seasonal variation of ‘Candidatus liberibacter asiaticus’ titers in new shoots of citrus in distinct environments. **Plant Disease**, v. 101, n. 4, p. 583–590, 1 abr. 2017.

LOPES, S. A.; CIFUENTES-ARENAS, J. C. Protocol for Successful Transmission of “Candidatus Liberibacter asiaticus” from Citrus to Citrus Using *Diaphorina citri*. **Phytopathology**, v. 111, n. 12, p. 2367–2374, 1 dez. 2021.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F. Graft Transmission and Cultivar Reaction of Citrus to ‘Candidatus Liberibacter americanus’. **Plant Disease**, v. 92, n. 1, p. 21–24, 11 dez. 2007.

LOPES, S. A.; LUIZ, F. **Candidatus Liberibacter asiaticus multiplication in *Diaphorina citri* is affected by temperature**. Proc. 19th Conf. Int. Org. Citrus Virol. Mpumalanga, South Africa. International Organization of Citrus Virologists, Riverside, CA. **Anais...**2013.

MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, v. 8, n. 19, p. 4321–4326, 10 out. 1980.

NAVA, D. E. et al. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9–10, p. 709–715, 1 dez. 2007.

PARRA, J. R. P. et al. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 37–51, 5 jul. 2010.

PAULA, B. M. D. **Efeitos do Huanglongbing (HLB) na composição química e características sensoriais de suco de laranja**. Belo Horizonte-MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

PELZ-STELINSKI, K. S. et al. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 5, p. 1531–1541, out. 2010.

PRIMO-MILLO, E.; AGUSTÍ, M. Chapter 10 - Vegetative growth. Em: TALON, M.; CARUSO, M.; GMITTER, F. G. (Eds.). **The Genus Citrus**. [s.l.] Woodhead Publishing, 2020. p. 193–217.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, 19 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 30 maio. 2024

RAIOL-JUNIOR, L. L. et al. Modeling ‘Candidatus Liberibacter asiaticus’ Movement Within Citrus Plants. **Phytopathology®**, v. 111, n. 10, p. 1711–1719, 16 mar. 2021.

SÉTAMOU, M. et al. Visual Responses of Adult Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Liviidae) to Colored Sticky Traps on Citrus Trees. **Journal of Insect Behavior**, v. 27, n. 4, p. 540–553, 2014.

STATGRAPHICS TECHNOLOGIES, INC. **Statgraphics Centurion 19**. The Plains, Virginia, EUA, 25 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.statgraphics.com/>>. Acesso em: 30 maio. 2024

SULE, H. et al. Response of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to volatiles emitted from leaves of two rutaceous plants. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 6, p. 152, 2012.

TEIXEIRA, D. D. C. et al. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the ‘Candidatus’ *Liberibacter* species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, n. 3, p. 173–179, 1 jun. 2005.

TOMASETO, A. F.; KRUGNER, R.; LOPES, J. R. S. Effect of plant barriers and citrus leaf age on dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 1–2, p. 91–102, 1 fev. 2016.

USDA. **Citrus: World Markets and Trade**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>>. Acesso em: 28 maio. 2024.