

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

VALTEMIRO JOSÉ LOURENÇO

Bioestimulantes no crescimento de mudas de citros sobre dois porta-enxertos e seu uso associado a inseticidas sistêmicos para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)

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

Orientador: Dr. Eduardo Augusto Girardi

**Araraquara
Outubro 2017**

VALTEMIRO JOSÉ LOURENÇO

Bioestimulantes no crescimento de mudas de citros sobre dois porta-enxertos e seu uso associado a inseticidas sistêmicos para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)

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

Orientador: Dr. Eduardo Augusto Girardi

**Araraquara
Outubro 2017**

L892b

Lourenço, Valtemiro José

Bioestimulantes no crescimento de mudas de citros sobre dois porta-enxertos e seu uso associado a inseticidas sistêmicos para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) / Valtemiro José Lourenço, 2017.
30 f.

Orientador: Eduardo Augusto Girardi

Dissertação (Mestrado) – Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, 2017.

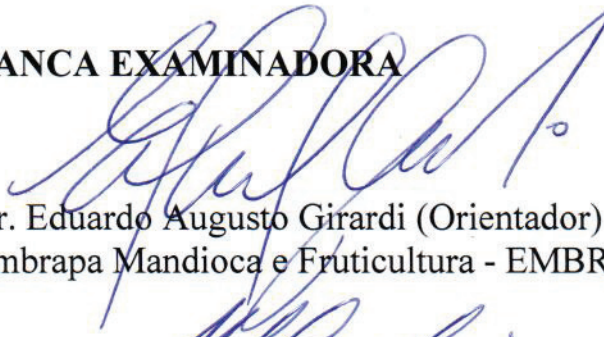
1. *Citrus spp.* 2. Inseticidas sistêmicos 3. Produção de mudas 4. Psilídeo dos citros 5. Reguladores de crescimento
I. Título

VALTEMIRO JOSÉ LOURENÇO


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

Araraquara, 18 de outubro de 2017.

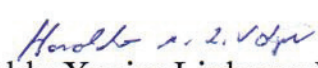
BANCA EXAMINADORA



Dr. Eduardo Augusto Girardi (Orientador)
Embrapa Mandioca e Fruticultura - EMBRAPA, Cruz das Almas/BA



Dr. Eduardo Sanches Stuchi
Embrapa Mandioca e Fruticultura - EMBRAPA, Cruz das Almas/BA



Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe
Fundo de Defesa da Citricultura – Fundecitrus, Araraquara/SP

DEDICO

À MINHA FAMÍLIA,
À MINHA ESPOSA PAULA
AO MEU FILHO JOAQUIM

AGRADECIMENTOS

A Deus por essa oportunidade e proporcionar minha existência;

À minha Família, minha mãe (Laci) e irmãos (Roger e Eutides), que sempre acreditaram em mim, a minha esposa (Paula) pelo companheirismo e apoio e ao meu filho (Joaquim).

Ao professor e orientador Dr. Eduardo Augusto Girardi pelo apoio, paciência, compreensão e todo o suporte para a obtenção de êxito nesse projeto.

Ao Dr. Marcelo Pedreira de Miranda, pelo apoio nesse projeto.

A todos os professores do 5º ciclo do Mestrado Profissional do Fundecitrus.

Aos colegas de turma do 5º ciclo do Mestrado Profissional.

À Empresa Syngenta Proteção de Cultivos, Dhiego Duvaresch e José Alexandre por todo o suporte nesse período de aprendizagem.

À Amanda Cristina Gonçalves de Oliveira, secretária do curso de mestrado, e a Moacir Célio Vizoni e Haroldo Volpe pelo suporte no desenvolvimento desse trabalho.

Bioestimulantes no crescimento de mudas de citros sobre dois porta-enxertos e seu uso associado a inseticidas sistêmicos para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)

Autor: Valtemiro José Lourenço

Orientador: Eduardo Augusto Girardi

Resumo

O huanglongbing é uma doença que ameaça a citricultura brasileira e, entre as medidas de controle, se incluem o uso de mudas sadias produzidas em viveiro protegido e o controle químico do vetor, o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Neste trabalho, avaliou-se o efeito de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal sobre o crescimento de porta-enxertos limoeiro Cravo e citrumelo Swingle e de mudas enxertadas com laranjeira Valência, bem como se investigou sua aplicação em pré-plantio em mistura com inseticidas sistêmicos visando o controle de *D. citri*. Os bioestimulantes comerciais Isabion e Brasibion foram aplicados nas concentrações de 0; 1,25; 2,5; 5 e 10 mL L⁻¹ em quatro momentos: após o raleio nos tubetes, após o transplântio dos porta-enxertos em sacolas plásticas, no momento da enxertia e na sacola um dia antes do transplântio para o campo. Os neonicotinoides utilizados na fase de campo foram thiamethoxam, imidacloprid e thiamethoxam + chlorantraniliprole nas concentrações comerciais recomendadas, aplicados com e sem mistura com o bioestimulante Brasibion a 1,25 mL L⁻¹. Avaliou-se a mortalidade de adultos de *D. citri* confinados nas mudas a cada 21 dias após a aplicação em drench feito na sacola 1 dia antes do transplântio no campo. O crescimento vegetativo e a composição de nutrientes minerais de mudas de laranjeira Valência foram influenciados pela variedade de porta-enxerto, sendo, em geral superior para limoeiro Cravo em relação ao citrumelo Swingle. Os bioestimulantes Brasibion e Isabion aplicados na faixa de concentração de 1,25 a 10 mL L⁻¹ não influenciaram no desenvolvimento de porta-enxertos de limoeiro Cravo e citrumelo Swingle nem no crescimento e nas concentrações foliares de macro e micronutrientes em mudas enxertadas de laranjeira Valência. Os inseticidas thiamethoxam + chlorantraniliprole e thiamethoxam apresentaram controle acima de 80% de adultos de *D. citri* até 148 dias após a aplicação via *drench* nas mudas antes do plantio. A aplicação isolada de Brasibion não controlou adultos de *D. citri*, nem afetou a performance de thiamethoxam em mistura, porém inicialmente reduziu o controle obtido pelo imidacloprid.

Palavras-chave: *Citrus* spp., inseticidas sistêmicos, produção de mudas, psilídeo dos citros, reguladores de crescimento.

Biostimulants on the growth of citrus nurse trees grafted onto two rootstocks and their use in association with systemic insecticides for the control of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)

Author: Valtemiro José Lourenço

Adviser: Eduardo Augusto Girardi

Abstract

Huanglongbing is a disease that threatens the Brazilian citrus industry and major control measures include the use of healthy screened nursery trees and chemical control of the vector, the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). In this work we evaluated the effect of biostimulants based on animal-derived amino acids on the growth of citrus rootstocks Rangpur lime and Swingle citrumelo, and nursery trees of Valencia sweet orange in screen house. Other objective was investigating these substances as drench application prior to transplanting in mixture with systemic insecticides for *D. citri* control. The commercial biostimulants Isabion and Brasibion were applied in the screen house both at concentrations of 0, 1.25, 2.5, 5.0 and 10.0 mL L⁻¹. There were four applications: after rootstock roguing in leaching tubes; after rootstock transplanting into plastic bags; at budding; and one day before transplanting to the field. Evaluated neonicotinoids in the field test were thiamethoxam, imidacloprid and thiamethoxam + chlorantraniliprole at commercial rates, applied with and without Brasibion at 1.25 mL L⁻¹. The mortality of adults of *D. citri* was counted in voil on plants every 21 days after application. The plant growth and the mineral nutrients composition of Valencia sweet orange nursery trees were influenced by the rootstock variety, being in general higher for Rangpur lime in relation to Swingle citrumelo. The biostimulants Brasibion and Isabion applied at 1.25 to 10 mL L⁻¹ did not influence the development of rootstocks or the growth and leaf micro and macronutrients concentrations of grafted Valencia sweet orange trees. Thiamethoxam + chlorantraniliprole and thiamethoxam resulted in control rates of *D. citri* higher than 80% until 148 days after drench application in nursery trees prior to planting. The isolated application of Brasibion did not control adults of *D. citri*, neither influenced the performance of thiamethoxam in mixture, even though it was observed an initial reduced control with the mixture with imidacloprid.

Keywords: *Citrus* spp., systemic insecticide, nursery tree production, Asian citrus psyllid, plant growth regulators.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Função fisiológica de alguns aminoácidos (AA) utilizados em composição de bioestimulantes vegetais (adaptado de Castro & Carvalho, 2014).....	11
Quadro 2. Descrição da composição dos bioestimulantes comerciais utilizados nesse estudo.	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos dos produtos aplicados em <i>drench</i> para controle de <i>D. citri</i> no experimento. A aplicação ocorreu um dia antes do transplântio no campo.....	18
Tabela 2. Variáveis de crescimento vegetativo de porta-enxertos de citros tratados com diferentes concentrações de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal, no momento da transplântação para sacolas, 90 dias após a semeadura.....	19
Tabela 3. Variáveis de crescimento vegetativo de mudas de laranjeira Valência enxertada em dois porta-enxertos e tratadas com diferentes concentrações de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal, 90 dias após a enxertia.....	20
Tabela 4. Concentração foliar nutrientes de mudas de laranjeira Valência enxertadas em dois porta-enxertos e tratadas com diferentes concentrações de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal, no momento da transplântação para campo, 90 dias após a enxertia.....	21
Tabela 5. Número médio de psilídeos adultos vivos de <i>Diaphorina citri</i> em diferentes períodos após a aplicação de inseticidas sistêmicos, associados ou não ao bioestimulante Brasibion, via <i>drench</i> um dia antes do transplântio de mudas de citros ao campo.....	22
Tabela 6. Variáveis de crescimento de plantas 188 dias após a aplicação de inseticidas sistêmicos, associados ou não ao bioestimulante Brasibion, via <i>drench</i> um dia antes do transplântio de mudas de citros ao campo.....	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1 Importância econômica dos citros.....	04
2.2 <i>Diaphorina citri</i> e Huanglongbing (HLB).....	05
2.3 Sistema de produção de mudas protegidas.....	07
2.4 Utilização de bioestimulantes à base de aminoácidos na agricultura.....	09
2.5 Relações entre aminoácidos e insetos vetores e seu controle.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Avaliação de crescimento de porta-enxertos e mudas de citros.....	14
3.2 Avaliação de aplicação associada a inseticidas sistêmicos.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Avaliação de crescimento de porta-enxertos e mudas de citros.....	19
4.2 Avaliação de aplicação associada a inseticidas sistêmicos.....	22
5 CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

Uma das atividades agrícolas de grande importância no Brasil é a citricultura, tendo o estado de São Paulo como maior produtor de citros do país. A muda é fundamental para a formação de um pomar com alta produtividade e longevidade. A qualidade da muda se dá pela genética escolhida, combinando-se o porta-enxerto e a variedade copa que juntamente sejam mais adaptados ao local, bem como pelos tratamentos culturais aplicados ao novo pomar.

A longevidade dos pomares na atualidade vem sendo comprometida devido à rapidez com que a doença huanglongbing (HLB) vem se disseminando no parque citrícola brasileiro. As medidas atualmente aplicadas vêm sendo direcionadas principalmente para o controle do inseto vetor, o psílideo *Diaphorina citri* Kuwayma (Hemiptera: Liviidae). Este inseto transmite as bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Ca. L. americanus*, associadas ao HLB, que são classificadas como gram-negativas e são restritas ao floema (Bové, 2006). *D. citri* se alimenta exclusivamente em plantas pertencentes à família Rutaceae, sendo constatado no Brasil em 1940 por Ângelo da Costa Lima (Costa Lima, 1942), considerada como praga secundária de menor importância até a constatação do HLB em 2004.

O manejo do HLB deve ser realizado com o plantio de mudas sadias e inspeção e erradicação frequentes de plantas sintomáticas. Além disso, programas integrados de pragas foram desenvolvidos para o controle de *D. citri*, empregando métodos de monitoramento com cartões adesivos amarelos, rotação de grupos químicos de inseticidas para evitar resistência, e a utilização de inseticidas seletivos para a presença de inimigos naturais (Grafton-Cardwell et al, 2013). Outros elementos que integram o MIP (Manejo Integrado de pragas) direcionado ao HLB incluem: instalação de novos pomares em áreas de menor risco e com formatação planejada para facilitar o controle do vetor; emprego de um programa nutricional adequado para o desenvolvimento das plantas; manejo mais intensificado nas bordas das fazendas e dos talhões, pois são nessas em que ocorre maior incidência de plantas doentes; estabelecimento de parcerias com os vizinhos visando manejo regional da doença e do vetor, eliminando fontes de inóculo externas; utilização de inimigos naturais como *Tamarixia radiata* em áreas onde não ocorrem aplicações frequentes de inseticidas; participação no programa Alerta Fitossanitário do Fundecitrus para que as medidas mencionadas se tornem mais eficazes (Fundo de Defesa da Citricultura, 2015).

O controle químico do vetor é a medida mais importante no MIP do HLB, sendo realizado com uso de inseticidas sistêmicos e de contato que reduzem sua ação na infecção de

plantas em pomares em formação e em produção (Fundo de Defesa da Citricultura, 2007). Os inseticidas sistêmicos são importante para as plantas jovens que vegetam quase continuamente e, portanto, exigem proteção constante. O método de aplicação mais eficaz para o controle de *D. citri* nessa fase é a aplicação em drench no solo. A aplicação de inseticidas sistêmicos no solo tem como principal grupo químico os neonicotinoídeos, portanto, se faz necessário empregar diferentes modos de ação aplicados via foliar para reduzir a seleção de resistência.

Com a intensificação das aplicações de inseticidas visando o controle de *D. citri*, algumas misturas estão sendo utilizadas junto com a aplicação de inseticidas para otimizar custos e trazer benefícios à planta sem afetar o desempenho dos inseticidas aplicados. Essas substâncias são de variadas fontes, que possuem ações positivas nas plantas como promoção do crescimento de raiz, aumento da qualidade de frutos e, principalmente, tolerância ao estresse ambiental. São denominadas de forma generalizada como bioestimulantes, que podem ser de origem natural ou sintética, e compreendem em sua composição a presença de aminoácidos e peptídeos obtidos através de hidrólise de proteínas, a partir de reações enzimáticas de subprodutos agroindustriais de fontes vegetais e resíduos de colheitas e de animais, como tecidos epiteliais (du Jardin, 2012; Calvo et al., 2014).

Os bioestimulantes vêm sendo utilizados com a função de estimular processos naturais para melhorar e beneficiar a absorção de nutrientes, mas não possuem ação direta contra pragas, não se enquadrando como pesticidas, pois seus efeitos estão mais relacionados ao crescimento das plantas e tolerância a estresses. Os biostimulantes estão baseados em oito categorias: substâncias húmicas, complexos orgânicos, elementos químicos benéficos, sais inorgânicos (incluindo fosfito), extratos de algas marinhas, derivados de quitina e quitosana, aminoácidos livres e substâncias contendo nitrogênio (Calvo et al., 2014). Bioestimulantes a base de aminoácidos têm sido usados de modo crescente em citros também, depois de demonstrar bons resultados sobre crescimento de outras plantas. Dessa forma, seu uso em viveiro ou plantas novas de citros é uma das alternativas utilizadas por produtores para estimular o desenvolvimento das mudas, embora existam poucos trabalhos publicados.

Além disso, os aminoácidos aplicados em plantas novas de citros podem interferir no manejo de *D. citri* de diferentes formas: 1) aumentando o crescimento da planta, o que pode interferir na distribuição dos inseticidas nos tecidos da planta; 2) os aminoácidos são importantes na nutrição de insetos sugadores e, assim, podem beneficiar ou não *D. citri* de acordo com sua disponibilidade; 3) efeito sinérgico com as moléculas de inseticidas alterando sua translocação na planta; 4) efeitos sobre alívio de estresses ambientais e de pragas que indiretamente interferem na síntese de aminoácidos endógenos. Portanto, o uso de

bioestimulantes ricos nessas substâncias também deve ser estudado no que se refere a seu potencial de interferência no controle de *D. citri*.

A seiva do floema é rica em açúcares e baixa em aminoácidos. Os açúcares compõem cerca de 95% de todos os compostos encontrados no floema. A prolina, a asparagina, o ácido aspártico e o ácido glutâmico são os aminoácidos mais abundantes. Em plantas de citros infectados com *Ca. L. asiaticus*, valina, alanina, serina, glutamina, glicina e os ácidos orgânicos estão presentes em menores concentrações quando comparados com plantas saudáveis (Hijaz et al., 2016).

Os aminoácidos podem promover ou impedir a alimentação de insetos específicos. Alterações nos níveis de aminoácidos podem afetar os níveis de poliaminas nas vias metabólicas, pois alguns aminoácidos atuam como precursores para a síntese desses compostos em plantas que, por sua vez, podem afetar diretamente o crescimento e a metamorfose dos insetos. As espécies de insetos podem mostrar diferenças consideráveis em sua preferência pelo mesmo aminoácido, embora a prolina seja considerada um componente de dieta preferida de muitos insetos. Estresses bióticos e abióticos induzem o aumento das concentrações de aminoácidos, notadamente de prolina. Assim, estresses diversos podem indiretamente atrair ou deter diferentes insetos e, portanto, são fatores potencialmente importantes na concepção de estratégias efetivas para o manejo do HLB e de seu vetor (Malik et al., 2014; Sétamou et al 2017).

Neste trabalho, avaliou-se o efeito de concentrações de dois bioestimulantes aplicados na formação de porta-enxertos e de mudas enxertadas de citros em viveiro telado, com o intuito de contribuir para o aprimoramento da produção de mudas, um dos pilares do manejo do HLB. Além disso, partindo da premissa que a aplicação de inseticidas sistêmicos via *drench* é a mais eficiente no controle de *D. citri*, comparamos a eficiência de três inseticidas neonicotinoides, misturados ou não com um bioestimulante, aplicados nas mudas em pré-plantio, sobre o controle de insetos adultos do psílideo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância socioeconômica dos citros no Brasil

Registros apontam que a laranja é originária do sul asiático, provavelmente da China, com primeiros cultivos por volta de 4.000 anos atrás (Donadio et al., 2005). Os comércios entre as nações e as guerras ajudaram a expandir o cultivo dos citros, de modo que, na Idade Média, a laranja foi levada pelos árabes para a Europa. Nos anos de 1500, na expedição de Cristóvão Colombo, mudas de frutas cítricas foram trazidas para o continente americano. Introduzida no Brasil logo no início da colonização, a laranja encontrou no país melhores condições para vegetar e produzir do que nas próprias regiões de origem, expandindo-se por todo o território nacional.

A citricultura destacou-se em vários Estados, porém, foi a partir da década de 1920 que se criou o primeiro núcleo citrícola nacional nos arredores de Nova Iguaçu no Estado do Rio de Janeiro. Esse núcleo abastecia as cidades do Rio de Janeiro e de São Paulo, além de iniciar as exportações de laranjas para a Argentina, Inglaterra e alguns outros países europeus. Após essa fase, a citricultura seguiu os caminhos da cafeicultura, que sofria uma significativa retração da área plantada em função da geada em 1918, da crise financeira mundial, da seca na década de 1920 e da infestação com nematoides. Diante desses problemas, o cultivo foi expandindo para a região do Vale do Paraíba no interior paulista na década de 1940, tornando-se uma opção para substituir o café na região de Limeira – SP, chegando posteriormente a Araraquara em 1950 e em Bebedouro ao final dessa década, ganhando cada vez mais espaço nas novas fronteiras ao norte e noroeste do estado de São Paulo.

O Brasil detém atualmente mais da metade da produção mundial de suco de laranja e exporta 98% da sua produção (Neves et al., 2010). De cada cinco copos de suco de laranja consumidos no mundo, três são produzidos no Brasil. Na indústria processadora, o suco também pode ser de dois tipos: suco concentrado e congelado (FCOJ – Frozen Concentrated Orange Juice), cuja água é retirada do suco natural; ou não-concentrado (NFC – Not From Concentrate), suco pasteurizado sem a retirada de água. Além do suco, existem alguns componentes da laranja que, não sendo utilizados na produção, são aproveitados pela indústria como subprodutos, que também podem ser exportados (Neves et al., 2010).

Atualmente a área de produção é de 415.585 ha no cinturão citrícola que inclui o estado de São Paulo e Triângulo Mineiro, seguida de limas ácidas e limões, com 27.938 ha, e as tangerinas com 10.070 ha, gerando somente na safra 2016/2017 aproximadamente 45.000

postos de emprego voltado para o cultivo da laranja (Fundo de Defesa da Citricultura, 2016, 2017; Neves & Trombin, 2017). Aproximadamente 84% do cinturão citrícola é formado por quatro variedades: Pera Rio com 34%, Valência com 29%, Hamlin com 11% e Natal com 10%. A indústria processou 240 milhões de caixa, que resultou em 815 mil toneladas de FCOJ-equivalente em 2015 (FNP Consultoria & Comércio, 2015) e na safra 2016/2017 aumentou-se a produção para 385 milhões de caixas de 40,8 kg (Fundo de Defesa da Citricultura, 2017). Apesar da sua alta importância socioeconômica, ainda existe a necessidade de solucionar alguns problemas inerentes à citricultura, como por exemplo, diversificação de porta-enxertos e o controle de doenças que resultam em perda de produção e aumento de custos, com destaque para o huanglongbing (HLB) (Neves et al., 2010; Neves & Trombin, 2017).

2.2. *Diaphorina citri* e Huanglongbing (HLB)

O psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) é o inseto vetor das bactérias associadas ao huanglongbing (HLB), a principal doença que afeta a citricultura do estado de São Paulo e das principais regiões produtoras das Américas, África e Ásia. Ele utiliza como hospedeiro plantas da família Rutaceae, principalmente murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack.] e laranjas doces [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. Originário do continente asiático, o inseto foi identificado durante a década de 1940 no Brasil como uma praga secundária (Costa Lima, 1942). Hoje está presente nas principais regiões produtoras de citros do país. São encontrados na face inferior de folhas, com preferência por brotações novas onde fazem a oviposição e as ninfas se desenvolvem. Quando adulto, o inseto mede de 2 a 3 mm de comprimento, possui asas transparentes com bordas escuras (Yamamoto & Miranda, 2009).

O psílideo permanece inclinado na folha ao ângulo de 45° e seu ciclo dura entre 15 e 40 dias, dependendo de temperatura e umidade. As fêmeas têm a capacidade de colocar até 800 ovos (Sanches et al., 2009). As ninfas são achatadas de coloração amarelo-alaranjado e pernas curtas. Alimentam-se exclusivamente nos brotos e caminham lentamente. Durante a alimentação, eliminam substâncias açucaradas e brancas em grande quantidade denominada honeydew. Os ovos são depositados em brotações e apresentam forma alongada e afilada na extremidade e coloração amarelo-alaranjado. Os danos diretos causados pelo inseto, devido à sucção contínua de seiva, não representam prejuízos a planta de citros. Contudo, o inseto é de fato uma grande ameaça ao setor por transmitir as bactérias *Ca Liberibacter asiaticus* e *Ca*

Liberibacter americanus, associadas ao HLB (Sanches et al., 2009). O único vetor do HLB no Estado de São Paulo é *D. citri*, (Yamamoto et al., 2009).

Ca. L. spp. são bactérias gram-negativas, restritas ao floema e não cultiváveis. O tempo mínimo para *D. citri* adquirir a bactéria pode variar de 15 a 30 minutos para. O HLB é uma doença sem medidas curativas e também não tem resistência genética em variedades comerciais (Bové, 2006). Seus sintomas incluem depauperamento da planta, amarelecimento de ramos e de folhas com mosqueado, frutos deformados, com sementes abortadas, ácidos, pequenos e que caem prematuramente. Plantas assintomáticas também são fonte de inóculo das bactérias. Por essas características, as medidas atuais de controle da doença se baseiam em plantio de mudas saudáveis, erradicação de plantas doentes e controle do psíldeo (vetor), notadamente com uso de inseticidas (Belasque et al., 2010).

Atualmente, existem várias moléculas de inseticidas com registro para controle de *D. citri* (Yamamoto et al, 2009). Os inseticidas podem ser aplicados via foliar nas plantas de citros visando o contato tópico do inseticida sobre *D. citri* ou por contaminação tarsal onde o inseto entra em contato com o inseticida já depositado sobre as folhas de citros. Outro método é via “*drench*” onde o inseticida é aplicado no tronco ou diretamente nas raízes das plantas de citros sobre a projeção da copa. O inseticida entra na composição da seiva da planta de citros ficando disponível por toda a planta principalmente nas brotações novas onde a *D. citri* se alimenta da seiva presente no floema e se contamina (Yamamoto et al, 2009; Belasque et al., 2010). Porém, inseticidas utilizados preferencialmente para aplicação via “*drench*” são os neonicotinoides, que foram desenvolvidos comercialmente a partir dos anos 1990, possuem registro para um amplo número de culturas e são muito eficazes contra insetos sugadores.

Os neonicotinoides atuam como agonistas de receptores nicotínicos de acetilcolina (Annelize, 2014). As principais moléculas registradas para o controle de *D. citri* são thiamethoxam e imidacloprid. Os neonicotinoides são utilizados como sistêmicos em pomares em formação até o terceiro ano de idade e as aplicações ocorrem no período em que o solo tem umidade suficiente para que ocorra a absorção e translocação do inseticida na planta, em geral na primavera e verão (Sanches et al., 2009; Tonhão, 2013). Em pomares adultos, podem ser usados como inseticidas de contato (Yamamoto & Miranda, 2009).

O conhecimento das características biológicas de cada estágio da vida do vetor torna-se essencial para obter sucesso em seu manejo e controle, pois seu alto potencial reprodutivo aliado a condições climáticas favoráveis e disponibilidade de alimentos fez com que a praga se espalhasse rapidamente pelo parque citrícola. Uma compreensão completa sobre a biologia e a dinâmica da população é essencial para desenvolvimento de uma previsão confiável da

população da praga e desenvolver sistema e estratégias de gestão para diminuir a infecção de pomares com HLB. Portanto, conhecer as características de *D. citri* como desenvolvimento, reprodução e longevidade é relevante para seu manejo (Tsai et al., 2000).

2.3. Sistema de produção de mudas protegidas

Plantas cítricas podem ser propagadas por diversas técnicas, porém o principal método comercial é a enxertia (Carvalho et al., 2005). A enxertia é uma associação entre dois indivíduos geneticamente diferentes, que devem passar a viver em estreito relacionamento, mutuamente benéfico, para que a nova planta seja produtiva e longa (Carvalho et al., 2005). A combinação entre enxerto e porta-enxerto exerce papel determinante na produtividade e na qualidade da fruta cítrica. Assim, o sistema produtivo adotado, as condições climáticas da região, as pragas e as doenças existentes e potenciais e o mercado a que se destinam as frutas são pontos fundamentais a serem considerados no momento de planejamento do pomar para a escolha das combinações copa e porta-enxerto (Pompeu Júnior, 2005). De maneira geral, os porta-enxertos mais vigorosos no viveiro são os mais vigorosos no campo e os que conferem maior produção às cultivares de copa. No entanto, normalmente os porta-enxertos mais vigorosos não proporcionam melhor qualidade aos frutos.

A muda é considerada a base da citricultura, sendo a qualidade genética e sanitária importante para o início de um empreendimento de sucesso. O potencial máximo de produtividade e de qualidade das frutas do novo pomar somente será revelado seis a oito anos após o plantio e a longevidade das plantas só será conhecida em um intervalo de tempo ainda maior (Carvalho et al., 2005).

Um dos fatores apontados como responsáveis por favorecer a disseminação e a incidência de doenças nos pomares brasileiros nas décadas passadas foi o emprego de mudas produzidas a céu aberto, dada à impossibilidade de se produzir material propagativo seguramente isento de patógenos transmitidos por insetos vetores, como a bactéria *Xylella fastidiosa* Wells (Ordem: Xanthomonadales) transmitida por cigarrinhas (Yamamoto et al., 2002; Carvalho et al., 2005). O plantio de mudas produzidas em ambiente protegido, por outro lado, é prática universal na citricultura após a constatação de doenças transmitidas por vetores (Roistacher, 1996; Bové, 2006), resultando em cultivos produtivos e sadios nas mais diversas regiões do mundo. Atualmente, a produção de mudas cítricas é regulamentada em nível federal pela IN 48 de 24/09/2013 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003).

Com relação aos porta-enxertos, também há domínio praticamente de uma única variedade, o limoeiro Cravo (*Citrus limonia* Osbeck). Este porta-enxerto ainda representa 70% do parque citrícola brasileiro, sendo preferido devido à sua tolerância ao vírus da Tristeza dos citros (CTV), à deficiência hídrica e à precocidade da produção (Pompeu Júnior, 2005). Devido à elevada susceptibilidade do limoeiro ‘Cravo’ a doenças como morte súbita dos citros (MSC), gomose de *Phytophthora* spp. e declínio dos citros, outros porta-enxertos surgiram visando maior diversificação dos pomares. Dentre as alternativas, o destaque é o citrumelo Swingle [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf x *Citrus paradisi* Macf], porta-enxerto obtido nos EUA e que induz melhor qualidade à fruta, além de apresentar tolerância à MSC, CTV, declínio, gomose de colo de *Phytophthora* spp. e nematoides dos citros (Pompeu Júnior, 2005). Como desvantagens, esse porta-enxerto é mais sensível à alcalinidade do solo e à seca.

O sistema de produção praticado no estado de São Paulo, consolidado há 14 anos, consiste basicamente na sementeira do porta-enxerto em recipientes contendo substrato. Após a emergência e crescimento inicial, o clone nucelar mais vigoroso é selecionado visualmente. Após alguns meses, o porta-enxerto é transplantado para sacola de capacidade maior, para permitir a continuação do seu crescimento. Quando a planta atinge um diâmetro de colo de aproximadamente 1 cm, é realizada a enxertia, em geral por borbúlia em T-invertido. A brotação do enxerto se inicia cerca de 20 dias depois. Após um ou dois fluxos de brotação, a muda atinge tamanho adequado para transplante no campo, como muda tipo “palito”. O ciclo total de produção dura de 9 a 14 meses, conforme as variedades cultivadas (Carvalho et al., 2005).

De acordo com as atuais normas de produção de mudas cítricas, exige-se o uso de substratos livres de patógenos, pragas e plantas infestantes aos citros, preferencialmente sem solos na sua constituição (Coordenadoria de Defesa Agropecuária, 2005). A produção de mudas é uma atividade dependente de substratos apropriados, cujas características e manejo interferem diretamente sobre o sucesso da atividade (Furlani et al., 2002). No sistema de produção de mudas cítricas em ambiente fechado, as plantas são cultivadas em recipientes, e novas técnicas de manejo são requeridas para a otimização do processo produtivo, incluindo-se tratamentos culturais como método de condução de enxertia, nutrição mineral e adubação, emprego de reguladores vegetais etc (Bernardi et al., 2000; Boaventura et al., 2004; Carvalho et al., 2005; Girardi et al., 2010).

2.4. Utilização de bioestimulantes à base de aminoácidos na agricultura

Aminoácidos são as unidades estruturais básicas que compõem os peptídeos e proteínas, sendo também precursores de outras moléculas como hormônios, coenzimas, nucleotídeos, polímeros de paredes celulares, entre outras. Os aminoácidos figuram entre os componentes mais importantes do metabolismo dos organismos vivos, sendo sintetizados a partir de moléculas de glicose produzidas pelas plantas por meio da fotossíntese ou em menor escala por alguns fungos e bactérias (Berdejo, 2010). As plantas são capazes de sintetizar todos os aminoácidos, tanto os proteicos quanto os não proteicos, utilizando como fonte o nitrogênio (função estrutural) na forma de amônio ou nitrato que é fornecido via solo ou via aplicações foliares. Quando a planta passa por deficiências de nitrogênio ou algum tipo de estresse, ela tende a uma redução na produção de aminoácidos e, como consequência, redução na produção de proteínas, alterando profundamente seu desenvolvimento. Da mesma maneira, nos momentos críticos do ciclo, como germinação e florescimento, existe uma demanda energética elevada por parte do vegetal deixando o mesmo mais suscetível a doenças, por exemplo, podendo ocorrer perdas significativas de produção caso o aporte de carboidratos e de aminoácidos seja insuficiente (Berdejo, 2010).

Os aminoácidos podem ser utilizados em todo ciclo do vegetal tendo, portanto, várias funções tais como: nutritiva na germinação (o embrião consome os aminoácidos procedentes de proteínas armazenadas no endosperma); são precursores de fitohormônios (auxinas, etileno, citocininas e poliaminas); atuam regulando o balanço hídrico quando as plantas estão sob condição de estresse hídrico; atuam como agente quelante natural (chamados nesse caso de complexos) quando em contato com cátions; na formação de proteínas; e ainda são fonte direta de energia para as plantas, entre outras funções (Quadro 1).

Os aminoácidos têm grande permeabilidade na cutícula via pulverização foliar aumentando a eficiência da absorção foliar, e junto com os fosfitos, apresentam diversas vantagens como rápida absorção e assimilação pelas plantas e maior absorção de Ca, B, Zn, Mn, Mo, K e outros elementos aplicados conjuntamente (por serem excelentes complexantes). Ainda apresentam a possibilidade de atuarem como ativadores de resistência das plantas por meio do estímulo da produção de algumas fitoalexinas (Dario et al., 2014).

Desta forma, a utilização de aminoácidos proteicos via solo ou via foliar (aporte exógeno), além de fornecer à planta uma fonte direta para que esta sintetize as proteínas, fornece energia adicional necessária para suprir as demandas nos momentos críticos dos ciclos vegetativo e reprodutivo, razão pela qual se atribui a designação genérica de

bioestimulantes a esses produtos. Uma vez absorvidos, os aminoácidos são transportados rapidamente para todas as partes da planta, principalmente os órgãos de crescimento (Berdejo, 2010). Outras substâncias, como reguladores vegetais e mesmo microrganismos, também podem compor os bioestimulantes, que de modo geral têm efeito regulador do metabolismo vegetal e estimulam seu crescimento (Calvo et al., 2014). No caso dos aminoácidos usados em tais produtos, sua origem pode ser vegetal ou animal, em geral a partir de hidrolisados de proteínas, sendo a origem animal a menos utilizada, apesar de sua aplicação ter sido eficaz e segura em diversos testes em comparação aos padrões de origem vegetal (du Jardin, 2015).

Existem muitos tipos de biostimulantes naturais, como extrato de levedura, extrato de algas e partes de plantas que podem ser usadas em aplicação foliar em frutíferas (Khan et al., 2009). Os benefícios das substâncias bioestimulantes podem ser devido ao seu conteúdo de diferentes nutrientes, aminoácidos, reguladores de crescimento naturais, proteínas e vitaminas que desempenham um papel fundamental na melhoria do crescimento e no controle do estresse. Conseqüentemente, sua aplicação está associada ao aumento da fotossíntese, floração, frutificação e melhoria na qualidade das frutas em geral. Em termos de mercado, reporta-se um crescimento expressivo na comercialização desse tipo de produto em anos recentes, com perspectivas de aumento ainda maior nas próximas décadas à medida que se busca maior retorno econômico da agricultura (du Jardin, 2015).

A aplicação de bioestimulantes à base de aminoácidos é relatada em diversas culturas anuais e perenes (Sberse, 2013; Calvo et al., 2014; Castro & Carvalho, 2014; du Jardin, 2015), mas em citros há poucos relatos, sendo a maioria dos estudos com bioestimulantes de outra natureza, notadamente reguladores vegetais ou misturas desses com fertilizantes diversos (Khalid, 2007; El-Shazly & Mustafa, 2015). Com a descoberta dos efeitos dos reguladores vegetais sobre as plantas cultivadas e os benefícios promovidos por estas substâncias, muitos compostos e combinações desses produtos têm sido pesquisados com a finalidade de resolver problemas do sistema de produção e melhorar qualitativa e quantitativamente a produtividade (Vieira & Castro, 2001).

Os bioestimulantes têm sido utilizados na citricultura principalmente com os objetivos de regulação da floração, aumento da qualidade do fruto e controle sobre sua maturação, redução de estresses abióticos e promoção do crescimento de mudas (Santana et al., 2006; Spann & Little, 2010; Souza et al., 2013; El-Boray et al., 2015). Em se tratando de uma tecnologia relativamente recente, há expectativa de que a aplicação de bioestimulantes seja cada vez mais estudada e incorporada ao sistema de produção de citros.

Quadro 1. Função fisiológica de alguns aminoácidos (AA) utilizados em composição de bioestimulantes vegetais (adaptado de Castro & Carvalho, 2014).

Aminoácido	Função fisiológica
Prolina	<ul style="list-style-type: none"> Regulador do equilíbrio de água, efeito anti-senescência e antiestresse hídrico.
Glicina	<ul style="list-style-type: none"> Agente quelante forte; Precursor de clorofila; Ajuda o crescimento do broto e folhas; Participa no sistema de resistência de plantas com a lisina.
Alanina	<ul style="list-style-type: none"> Ajuda a síntese de clorofila; Desempenha um papel importante no metabolismo de hormônios e nos mecanismos de resistência a vírus.
Ácido Glutâmico	<ul style="list-style-type: none"> Precursor de síntese de outros AA (reserva de nitrogênio orgânico para formar outro aminoácido, ácidos e proteínas por meio de reações de transaminase); Estimula o crescimento das plantas; Participa no sistema de resistência das plantas; Melhora a germinação do pólen e alongamento do tubo polínico.
Leucina	<ul style="list-style-type: none"> Ajuda na síntese de ácidos graxos.
Fenilalanina	<ul style="list-style-type: none"> Precursor de formação de lignina (formação de tecidos da madeira e ramos mais fortes).
Arginina	<ul style="list-style-type: none"> Estimula o crescimento da raiz; Envolvida na síntese da clorofila; Efeito anti-senescência (rejuvenecedor); Precursor de poliamina (muito importante para iniciar a multiplicação celular); AA mais comuns na translocação do floema; AA mais comuns (com glutâmico e ácido aspártico) na rizosfera; Melhora a solubilidade de nutrientes e assimilação.
Serina	<ul style="list-style-type: none"> Regulador do equilíbrio de água; Muito importante para a síntese da clorofila.
Lisina	<ul style="list-style-type: none"> Auxilia na síntese de ácidos graxos.
Ácido aspártico	<ul style="list-style-type: none"> Precursor de formação de lignina (formação de tecidos da madeira e ramos mais fortes).

2.5. Relações entre aminoácidos e insetos vetores e seu controle

Os aminoácidos livres no floema são fundamentais para o comportamento alimentar e o desenvolvimento dos insetos que se alimentam no floema (Cole, 1997). Além disso, a sinalização de alguns aminoácidos pode influenciar na produção de voláteis que regulam interações com insetos, podendo, assim, alterar as defesas diretas e indiretas das plantas (Smart et al., 2013). O psilídeo *D. citri* se adapta fisiologicamente a uma dieta contendo

ampla faixa de concentrações de sacarose e aminoácidos, conforme demonstrado em estudo para desenvolvimento de alimentação a base de dieta artificial. Isso fornece parâmetros para se comparar a quantidade de aminoácidos presentes floema da planta e quais são os preferenciais na alimentação de *D. citri* (Russell et al., 2015).

A prolina é o aminoácido mais abundante encontrado em folhas de citros, sendo que o nível deste aminoácido aumenta em resposta à alimentação de *D. citri* e ao estresse hídrico. Assim, uma maior disponibilidade desse aminoácido pode favorecer a alimentação dos insetos. A concentração de outros aminoácidos, como leucina e metionina, aumentou para ambos os tipos de estresse, enquanto a de serina, histidina e arginina aumenta apenas em resposta à infestação por *D. citri*. Esta mudança nos perfis de aminoácidos pode resultar em atração ou repelência ao vetor, embora as interações hospedeiro-planta sejam mais complexas do que a simples disponibilidade de alimento ou grupos de aminoácidos (Malik et al., 2014).

Os efeitos conjuntos de estresses bióticos e abióticos podem alterar os níveis de aminoácidos e poliaminas em folhas de citros e, assim, ser mais atrativos para *D. citri*. Níveis de aminoácidos livres totais são mais elevados em folhas com alta infestação de *D. citri*. Os níveis de histidina, metionina, asparagina, arginina, serina e leucina aumentam nas folhas infestadas, mas em folhas estressadas por seca apenas há aumento para leucina, metionina e treonina. Já as concentrações de tirosina, isoleucina, fenilalanina, ácido glutâmico e alanina diminuem em folhas infestadas com *D. citri*. Sob o estresse hídrico, asparagina, fenilalanina, serina e histidina também diminuiriam. Essas alterações associadas a *D. citri* e à seca são relevantes, pois alguns aminoácidos podem ser utilizados como alimentação ou convertidos em metabolitos secundários para defesa da planta (Malik et al., 2014).

Os aspectos fisiológicos das plantas e a nutrição estão relacionados à expressão da resistência sistêmica adquirida contra agentes patogênicos, diferente da estratégia de inseticidas. Seu caráter nutricional e bioregulador pode complementar e aperfeiçoar programas específicos de inseticidas na agricultura integrada. Novas estratégias considerando a possível sinergia entre nutrientes minerais específicos e alguns aminoácidos poderiam favorecer o controle de doenças das plantas, reduzindo assim a quantidade de inseticidas aplicados (Garcia-Mina, 2006).

Para minimizar o excesso de uso de inseticidas que pode resultar em contaminação de solo e água, o processo de aplicação e absorção da planta precisa ser avaliado. A distribuição dos inseticidas de contato em plantas é altamente relevante, principalmente a aplicação homogênea dos ingredientes ativos de uma formulação. Em contraste com inseticidas de contato, substâncias de atuação sistêmica são incorporadas na planta através das raízes ou via

foliar e a absorção é distribuída em cada parte da planta para estabelecer uma proteção interna contra pragas. Um inseticida de ação sistêmica, sendo aplicado em drench no solo próximo à base da planta, pode ser observado após um longo período de sua aplicação distribuído uniformemente nas folhas das plantas tratadas. O metabolismo do ingrediente pode influenciar na proteção e sua eficiência. As plantas podem eliminar alguns inseticidas através de gutação de fluídos, no entanto, isso não se aplica a todos os inseticidas. O comportamento de novas formulações e sua distribuição na planta precisam ser conhecidos visando aperfeiçoar o transporte de substâncias para diferentes partes da planta (Gerbig et al., 2015).

O desenvolvimento de um novo inseticida é demorado e caro, por isso existem estratégias de modificação estrutural e de mistura com aminoácidos com inseticidas já existentes visando modificar seu modo de ação e movimentação dentro da planta. Em comparação com os grupos funcionais de aminoácidos e glicose, os ésteres de aminoácidos são mais lipofílicos, o que pode levar a uma difusão mais fácil no tecido do floema devido seu potencial de ligação com membranas. A formação de ésteres também pode promover a mobilidade dentro do xilema, resultando em maior sistematicidade do ingrediente ativo original. Contudo, se de um lado a mistura com aminoácidos pode aumentar a translocação de alguns inseticidas, já se observou a diminuição da sua efetividade tóxica (Yao et al., 2017).

Embora o uso de bioestimulantes esteja relacionado com a translocação de diversos elementos pelo floema, influenciando na absorção e assimilação de substâncias como nutrientes (Almeida & Soratto, 2014), há poucos relatos sobre sua interação com a aplicação conjunta a inseticidas sistêmicos em plantas perenes ou em suas mudas (Melo & Maciel, 2014). Além disso, sua composição pode incluir aminoácidos diversos e, portanto, diretamente influenciar na alimentação e bioogia dos insetos sugadores.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal na formação de porta-enxertos e mudas de citros, e sua compatibilidade com inseticidas neonicotinoides para o controle de *D. citri* em pré-plantio de mudas. Pretende-se com isso contribuir para otimizar a produção de mudas de citros bem como o controle do vetor do HLB, duas das medidas centrais para o manejo dessa doença.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Avaliação de crescimento de porta-enxertos e mudas de citros

O experimento foi conduzido em viveiro protegido com 28 m de frente e 54 m de comprimento, totalizando uma área de 1512 m² de área coberta com cobertura plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD), telado branco horizontal de transparência à irradiação solar de 80%, telado branco lateral anti-afídeo (malha 0,87 x 0,30 mm), localizado no Viveiro do Sítio Alecrim, no município de Taquaral, SP (21° 12 55,6" S, 47° 52 32,9" W, 614 m). De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cwa (clima subtropical de montanha com estação seca), com temperatura média anual do ar de 21,7 °C (ambiente descoberto) e precipitação anual média de 1.344 mm, concentrada entre setembro e abril e umidade relativa do ar média de 68%. Os porta-enxertos avaliados foram o limoeiro Cravo (*C. limonia* Osbeck) e citrumelo Swingle [*C. paradisi* Macfad. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]. A variedade copa foi a laranjeira Valência [*C. sinensis* L. Osbeck]. A semeadura foi realizada em 13/03/2015, utilizando duas sementes descascadas por tubete plástico de 75 ml, contendo substrato à base de casca de “Pinus” decomposta (Tropstrato, Vida Verde, Mogi Mirim, São Paulo), a uma profundidade de 1,5 cm. A bancada estava a 1,5 m de altura com fios metálicos sobre os quais se depositaram as bandejas plásticas de 288 células em que se inserem os tubetes.

Após a emergência e crescimento inicial, em 27/04/2015, 44 dias após a semeadura (DAS), o clone nucelar mais vigoroso foi selecionado visualmente, realizando-se o raleio das demais plantas. Os porta-enxertos foram fertilizados seis vezes por semana, com o adubo Master NPK na concentração (16-06-18), uma vez por semana junto com Brexil (produto a base de nutrientes Ca; Mg, B, Mo) e hidróxido de ferro, além de uma aplicação semanal de sulfato de cobre, uma aplicação por semana de Calcinite + Mg, uma aplicação por semana de Ureia + Mg e uma aplicação por semana de MAP, conforme programa nutricional usado pelo viveiro. A irrigação foi manual e diária.

Foram aplicados separadamente via *drench* os bioestimulantes comerciais à base de aminoácidos de origem animal Isabion e Brasibion (Quadro 2), ambos nas concentrações de 0; 1,25; 2,5; 5,0 e 10 mL L⁻¹. As aplicações foram realizadas em três momentos: após o raleio nos tubetes em 28/04/2015 (44 DAS), logo após o transplante dos porta-enxertos em sacolas plásticas, em 12/06/2015 (90 DAS), e no momento da enxertia em 25/10/2015 para o porta-enxerto limoeiro Cravo e em 10/11/2015 para o citrumelo Swingle (230 e 140 dias em média

após a semeadura e o transplântio, respectivamente, sendo que citrumelo Swingle precisou de mais tempo para ponto de enxertia). As aplicações foram manuais, usando um volume de calda de 50 ml por recipiente em cada aplicação. O tratamento controle também recebeu um volume de 50 ml de água por recipiente no dia de cada aplicação dos tratamentos. Não houve alteração de lote dos bioestimulantes durante a condução do experimento.

As plantas foram conduzidas em haste única, retirando-se as brotações laterais semanalmente. Os porta-enxertos foram conduzidos até atingir cerca de 20 cm de altura, quando foram destinados ao transplântio em sacolas para enxertia, sobre bancadas de concreto a 0,60 m de altura. O controle de pragas e doenças foi preventivo, com pulverização foliar periódica de inseticidas, acaricidas e fungicidas a cada 15 dias conforme programa usual do viveiro. Todos os recipientes foram desinfestados antes do seu uso, com solução de hipoclorito de sódio a 2%, para controle preventivo de doenças fúngicas.

As variáveis avaliadas incluíram altura da planta na inserção da última folha, diâmetro de colo do porta-enxerto e do enxerto, taxa de brotação do enxerto 60 dias após a enxertia e volume do sistema radicular, medido por deslocamento de água (Bernardi et al., 2000), com avaliações em 27/06/2015, 60 dias após a 1ª aplicação de biostimulantes e em 23/01/2016, cerca de 90 dias após a enxertia, quando as mudas estavam aptas para plantio no campo. A massa seca de raiz e de folhas dos porta-enxertos também foi medida no momento do transplântio para sacolas, utilizando-se 10 plantas por parcela, após a secagem em estufa a 65°C por 72 h. Nas mudas enxertadas foi determinada a concentração foliar de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Fe, Mn, Zn e Cu), coletando-se aleatoriamente 30 folhas maduras totalmente expandidas por parcela e posteriormente enviadas para laboratório credenciado para realizar a análise química.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 2 x 5 (2 porta-enxertos x 2 bioestimulantes x 5 concentrações), sendo que as parcelas do tratamento controle foram as mesmas para comparação dos dois bioestimulantes. Houve 20 tratamentos com três repetições e 72 porta-enxertos na parcela distribuídos em quatro fileiras de 18 tubetes. Na fase de muda enxertada, houve três repetições com 10 mudas na parcela com os dois porta-enxertos distribuídos em separado na mesma bancada, sendo avaliadas três plantas enxertadas para volume de raiz. Os resultados foram submetidos à análise de variância ($P \leq 0,01$) e de regressão para definição da melhor concentração com auxílio dos programas EXCEL, SISVAR e SIGMA.

Quadro 2. Descrição da composição dos bioestimulantes comerciais utilizados nesse estudo.
(adaptado de Isabion book SICIT 2000 Products for Agriculture and Syngenta)

<i>Parâmetros</i>	<i>Isabion</i> %	<i>Brasibion</i> %
Total nitrogênio	2,5	1,3
Carbono orgânico	33,2	30,2
Aminoácidos e peptídeos	51,4	49,7
Aminoácidos livres	11,0	4,7
Densidade (20°C)	1,27	1,28
Solubilidade em água	100%	100%
<i>Metais Pesados</i>	<i>mg/kg</i>	<i>mg/kg</i>
Arsênio (Ar)	5,3	1,7
Cádmium (Cd)	<0,4	<0,4
Chumbo (Pb)	<0,3	<3,0
Cromo (Cr)	<0,3	75
Mercúrio (Me)	<1,0	<1,0
Selênio (Se)	1,9	6,4
Níquel (Ni)	12,0	18,9
<i>Aminoácidos totais</i>	<i>% p/p</i>	<i>% p/p</i>
Ácido aspártico	2,89	3,95
Ácido glutâmico	7,03	6,79
Alanina	7,49	6,04
Arginina	0,83	1,72
Fenilalanina	1,42	1,37
Glicina	14,52	11,97
Histidina	0,33	0,42
Isoleucina	0,73	0,83
Leucina	2,17	2,08
Lisina	2,11	2,39
Prolina	9,40	8,93
Serina	0,23	0,78
Tirosina	0,42	0,46
Treonina	0,12	0,26
Valina	1,76	1,59
Total	51,46	49,6
<i>Aminoácidos livres</i>	<i>% p/p</i>	<i>% p/p</i>
Ácido aspártico	0,41	0,19
Ácido glutâmico	0,30	0,13
Alanina	2,03	0,84
Arginina	0,04	0,02
Fenilalanina	0,06	0,03
Glicina	0,27	0,10
Histidina	4,69	1,99
Isoleucina	0,04	0,02
Leucina	0,55	0,25
Lisina	0,18	0,06
Prolina	0,20	0,11
Serina	0,30	0,13
Tirosina	1,53	0,61
Treonina	0,13	0,08
Valina	0,15	0,04
<i>Total</i>	<i>11%</i>	<i>4,7%</i>

%p/p – peso por peso

3.2. Avaliação de aplicação associada a inseticidas sistêmicos

O experimento foi conduzido entre os meses de março e dezembro de 2016 na Estação Experimental da APTA Polo Regional Centro Leste, localizada no município de Ribeirão Preto, SP, com as coordenadas geográficas 21°12'57,2" S e 47°52'31,1" W. O solo da área experimental é um latossolo vermelho escuro argiloso.

Nessa fase escolhemos o porta-enxerto Swingle devido seu uso crescente na formação de novos pomares paulistas por apresentar diversos atributos agrônômicos de interesse (Pompeu Junior et al., 2005). Mudanças de laranjeira Valência enxertada em citrumelo Swingle foram plantadas no espaçamento de 2,0 m x 1,5 m, tendo sido obtidas do Viveiro do Sítio Alecrim, no município de Taquaral, SP. As mudas possuíam 12 meses de idade, aproximadamente, a partir da sementeira do citrumelo Swingle. As plantas foram tratadas com os tratamentos ainda no viveiro, via *drench*, um dia antes do transplante, em 17/03/2016. Após o plantio, os tratamentos culturais incluíram capina manual irrigação suplementar por aspersão e adubação em cobertura com fertilizante nitrogenado.

Os inseticidas utilizados no experimento foram thiamethoxam (Actara 250 WG, TITULAR DO REGISTRO: Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. Av. das Nações Unidas 18001, CEP: 04795-900, São Paulo, SP, CNPJ: 60.744.463/0001-90, Fone: (11) 5643-2322, Fax: (11) 5643-2353 – Indústria Brasileira – Cadastro na SAA/CDA/ SP sob nº 001), imidacloprid (Provado 200 SC, TITULAR DO REGISTRO: Bayer S.A. Rua Domingos Jorge, 1.100 - CEP: 04779-900 - São Paulo/SP - CNPJ: 18.459.628/0001-15 Registrada na Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo sob nº 663) e thiamethoxam + chlorantraniliprole (Durivo, TITULAR DO REGISTRO: Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. Av. das Nações Unidas 18001, CEP: 04795-900, São Paulo, SP, CNPJ: 60.744.463/0001-90, Fone: (11) 5643-2322, Fax: (11) 5643-2353 – Indústria Brasileira – Cadastro na SAA/CDA/ SP sob nº 001). Durivo foi incluído nesse experimento por ser um novo produto com potencial para contribuir no controle de *D. citri* e no manejo do HLB na formação de novos pomares. O bioestimulante Brasibion foi avaliado na concentração mínima avaliada no viveiro (1,25 mL L⁻¹). Como Brasibion apresentou em geral desempenho superior ao Isabion na fase de viveiro, optou-se apenas pelo seu uso na fase de campo. Esses produtos foram aplicados via *drench* na sacola com um volume de 50 mL planta⁻¹ para controle de *D. citri* (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos aplicados em drench para controle de *D. citri* no experimento. A aplicação ocorreu no viveiro um dia antes do transplântio no campo.

Produto	Ingrediente ativo (i.a.)	Concentração (g/L ou g/Kg)	g i.a. / planta
Água	-	-	-
Brasibion	Aminoácidos	127	0,16
Actara 250 WG	Thiamethoxam	250	0,25
Provado 200 SC	Imidacloprid	200	0,35
Actara 250 WG + Brasibion	Thiamethoxam + aminoácidos	250 + 127	0,25 + 0,16
Provado 200 SC + Brasibion	Imidacloprid + aminoácidos	200 + 127	0,35 + 0,16
Durivo	Thiamethoxam + Chlorantraniliprole	200 + 100	0,25 + 0,1

*(g i.a) Gramas de Ingrediente Ativo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com sete tratamentos e seis repetições para confinamento de psilídeos, sendo cada repetição composta por três plantas, sendo a central utilizada para os confinamentos. Esses foram escalonados a cada 21 dias, sendo que o primeiro confinamento ocorreu 23 dias após o transplântio das mudas em campo. Foram confinados 10 adultos de psilídeos por planta e por data de avaliação, utilizando-se um voil para confinar os insetos nas plantas. A avaliação de mortalidade ocorreu sete dias após cada confinamento, contando-se o número de insetos mortos em cada confinamento até que a mortalidade fosse inferior a 80%. O psilídeo que não apresentava nenhuma movimentação, mesmo estimulado, era considerado morto. Os adultos de psilídeos não infectivos foram fornecidos pelo Fundecitrus com idade média de 14 dias.

Após não se observar mais mortalidade acima de 80%, avaliou-se o crescimento das mudas, pela medição de altura das plantas, diâmetro do caule e da copa, e massa seca de raiz após arranquio das mudas logo após a secagem em estufa a 65 °C por 72 h. Todos os dados coletados foram submetidos à análise de variância, sendo que a percentagem de mortalidade de psilídeo por tratamento foi transformada por $\sqrt{x + 1}$, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$ para variável de mortalidade e $\leq 0,01$ para variáveis biométricas). Os softwares utilizados para análise de variância e teste de comparação das médias foram ASSISTAT (controle psilídeo) e SISVAR (demais variáveis).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação de crescimento de porta-enxertos e mudas de citros

Foram observadas diferenças estatísticas na altura, massa seca das folhas e no diâmetro do caule dos porta-enxertos, sendo que nos dois primeiros parâmetros, o limoeiro Cravo foi superior ao citrumelo Swingle (Tabela 2). Em relação ao volume e a massa seca da raiz, não foram observadas diferenças significativas, devido, provavelmente, ao fato dessas plantas terem sido cultivadas em tubetes de 75 ml cada, impedindo um maior crescimento das raízes. Esses dados corroboram com os relatados por Girardi et al. (2010), que observaram maior crescimento da parte aérea de limoeiro Cravo e diâmetro mais espesso de citrumelo Swingle em viveiro.

Com relação aos bioestimulantes, observou-se que o Brasibion resultou em maior média de altura e de massa seca de folha (Tabela 2). Para as demais variáveis não houve diferenças significativas entre os bioestimulantes avaliados. Não houve efeito significativo das concentrações de bioestimulantes avaliadas. Como nenhuma interação dupla foi significativa, as interações triplas não foram apresentadas.

Tabela 2. Variáveis de crescimento vegetativo de dois porta-enxertos de citros tratados com diferentes concentrações de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal, no momento da transplantação para sacolas, 90 dias após a semeadura.

Porta-enxerto (PE)	Altura (cm)	Volume raiz (ml)	Diâmetro caule (mm)	Massa seca de raiz (g)	Massa seca de folha (g)
Cravo	24,1 a	104,7 a	3,49 b	1,18 a	4,10 a
Swingle	20,2 b	104,7 a	4,08 a	1,10 a	3,43 b
Produto					
Isabion	21,4 b	104,6 a	3,74 a	1,04 a	3,46 b
Brasibion	22,9 a	104,8 a	3,83 a	1,24 a	4,08 a
CV (%)	6,94	0,62	4,19	27,53	19,6
Valores de F					
Porta-enxerto	99,1*	0,00 ns	202*	1,00 ns	12,2*
Produto	15,7*	0,99 ns	4,47 ns	6,08 ns	10,3*
Dose	2,2 ns	1,7 ns	2,50 ns	3,46 ns	2,51 ns
PE x Produto	1,5 ns	1,2 ns	0,02 ns	0,08 ns	0,67 ns
PE x Dose	1,9 ns	1,4 ns	0,10 ns	0,55 ns	0,54 ns
Produto x Dose	1,8 ns	0,9 ns	0,69 ns	1,06 ns	1,84 ns

* significativo a 1%; ns - não significativo.

Noventa dias após a enxertia da laranjeira Valência, a única diferença significativa observada entre os porta-enxertos foi na altura da planta, sendo maior sobre limoeiro Cravo (Tabela 3). Quanto às concentrações de Brasibion e de Isabion avaliadas, não houve diferença significativa em relação ao controle nas variáveis avaliadas em mudas enxertadas (Tabela 3). O pegamento de enxertia também só foi influenciado pelo fator porta-enxerto, sendo de 91% para citrumelo Swingle e de 86% para limoeiro Cravo ($P = 0,0070$; $F = 8,043$) (dados não apresentados).

Tabela 3. Variáveis de crescimento vegetativo de mudas de laranjeira Valência enxertada em dois porta-enxertos e tratadas com diferentes concentrações de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal, 90 dias após a enxertia.

Porta-enxerto	Altura da Copa (cm)	Volume de raiz (ml)	Diâmetro de Caule (mm)
Cravo	100,2 a	230 a	0,68 a
Swingle	85,21 b	226 a	0,70 a
Produto			
Isabion	91,8 a	227 a	0,69 a
Brasibion	93,6 a	228 a	0,69 a
CV (%)	3,67	3,36	8,87
Valores de F			
PE	291,1*	3,77 ns	1,79 ns
Produto	4,14 ns	0,34 ns	0,16 ns
Dose	0,91 ns	1,79 ns	1,36 ns
PE x Produto	0,63 ns	0,51 ns	0,34 ns
PE x Dose	0,62 ns	1,76 ns	0,20 ns
Produto x Dose	0,59 ns	0,96 ns	0,05 ns

* significativo a 1%, ns - não significativo.

Os porta-enxertos diferiram quanto às concentrações foliares na copa de laranjeira Valência nos nutrientes P, Ca, Mg, S, B e Mn, 90 dias após a enxertia, sendo que limoeiro Cravo resultou em maiores concentrações de Ca, B e Mn, enquanto o citrumelo Swingle levou a maiores concentrações foliares de P, Mg e S (Tabela 4). No geral, essas concentrações foliares estão coerentes com os padrões de referência para mudas cítricas em viveiros protegidos (Tabela 4; Bataglia et al., 2008). O efeito do porta-enxerto foi semelhante ao relatado anteriormente por Girardi et al. (2010). Ca, Cu e B (nesse último apenas para Cravo) apresentaram elevadas concentrações, enquanto S, Fe, Mn e Zn apresentaram menores concentrações em relação à referência, devido, provavelmente à composição do substrato e da fertirrigação ou às pulverizações foliares fitossanitárias. As concentrações dos dois bioestimulantes avaliados não influenciaram na nutrição mineral das mudas (Tabela 4).

Tabela 4. Concentração de nutrientes foliares de mudas de laranjeira Valência enxertadas em dois porta-enxertos e tratadas com diferentes concentrações de bioestimulantes à base de aminoácidos de origem animal, no momento da transplantação para campo, 90 dias após a enxertia.

Porta-enxerto (PE)	N ¹	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
Cravo	35,5 a	2,0 b	26,4 a	32,3 a	3,4 b	4,0 b	180 a	335 a	90 a	60 a	20 a
Swingle	35,8 a	2,2 a	27,0 a	28,3 b	4,8 a	5,1 a	105 b	332 a	89 a	43 b	19 a
Produto											
Isabion	35,8 a	2,1 a	26,8 a	30,5 a	4,1 a	4,62 a	142 a	330 a	90 a	52 a	20 a
Brasibion	35,5 a	2,1 a	26,5 a	30,2 a	4,1 a	4,58 a	143 a	337 a	88 a	51 a	19 a
CV (%)	4,67	5,37	4,82	5,15	4,23	8,89	14,45	16,04	11,55	11,64	13,08
Valores de F											
PE	0,64 ns	14,22*	3,44 ns	97,54*	1052*	103,0 ns	194,8*	0,06 ns	0,28 ns	115,1*	4,95 ns
Produto	0,36 ns	0,97 ns	0,90 ns	0,60 ns	0,00 ns	0,16 ns	0,01 ns	0,22 ns	0,46 ns	0,27 ns	0,29 ns
Dose	0,78 ns	0,96 ns	0,65 ns	4,09 ns	4,20 ns	1,50 ns	0,23 ns	0,25 ns	0,70 ns	1,39 ns	0,53 ns
PE x Produto	0,11 ns	0,97 ns	0,42 ns	0,04 ns	2,79 ns	0,06 ns	0,02 ns	1,16 ns	0,23 ns	0,03 ns	0,88 ns
PE x Dose	0,87 ns	1,51 ns	3,17 ns	1,30 ns	3,61 ns	0,17 ns	1,07 ns	0,57 ns	1,86 ns	0,48 ns	0,83 ns
Produto x Dose	0,11 ns	0,79 ns	0,75 ns	3,40 ns	2,01 ns	0,45 ns	2,45 ns	0,59 ns	0,96 ns	0,92 ns	2,65 ns
Valores de Referência ²	34,4-35,8	2,0-2,2	24,4-28,3	20,9-25,4	3,1-4,3	5,0-5,2	108-119	14,9-18,4	126-209	83-177	65,7-75,8

* significativo a 1%; ns - não significativo.

¹N, P, K, Ca, Mg, S – g kg⁻¹; B, Cu, Fe, Mn, Zn – mg kg⁻¹

²Valores de referência para teores de macro e micronutrientes em folhas de mudas de citros, adaptado de Bataglia et al. (2008).

De modo geral, os bioestimulantes avaliados no presente estudo apresentaram efeitos discretos ou nulos sobre o crescimento e a composição mineral dos porta-enxertos e das mudas enxertadas de citros. Estas foram cultivadas sob condições muito favoráveis ao seu desenvolvimento independentemente dos produtos avaliados. Vários fatores podem afetar o desempenho de bioestimulantes, como a presença de algum estresse, as condições climáticas, a nutrição mineral, os genótipos, a própria composição e a concentração usada do bioestimulante, a fase fenológica, a composição da planta, entre outros (Calvo et al., 2014). Em estudo anterior com mudas de citros sobre porta-enxertos de limoeiro Volkameriano e citrumelo Swingle, a altura da planta e o diâmetro do caule também não foram afetados pelo bioestimulante Stimplex (composto de citocininas) nem por ácido giberélico, embora Stimplex tenha resultado em maior peso seco de raiz (Santana et al., 2006). Dessa forma, novos estudos precisam ser realizados para investigar os efeitos de maiores concentrações e mesmo de diferentes bioestimulantes sobre o crescimento vegetativo e a absorção de macro e micronutrientes em mudas de citros em viveiro protegido.

4.2. Avaliação de aplicação associada a inseticidas sistêmicos

Quando o bioestimulante Brasibion foi aplicado sozinho, não houve mortalidade expressiva do psíldeo, sem diferir da testemunha (água) durante todo o experimento (Tabela 5). Quando aplicado em mistura com os inseticidas sistêmicos, Brasibion não interferiu no desempenho de thiamethoxam, porém reduziu o controle de imidacloprid apenas na avaliação realizada aos 44 dias após a aplicação (DAA).

Tabela 5. Porcentagem de adultos mortos de *Diaphorina citri* em diferentes períodos após a aplicação de inseticidas sistêmicos, associados ou não ao bioestimulante Brasibion, via *drench* um dia antes do transplante de mudas de citros no campo.

Produto	Porcentagem média de <i>Diaphorina citri</i> mortos em diferentes dias após a aplicação (DAA)									
	23	44	65	86	107	128	148	169	188	
Água	20±11 b	10±7,7 c	8,3±1,7 c	2±2,1 c	4±6,7 c	7±10,3 b	30±18 bc	45±5,4 ab	12±0,5 ab	
Brasibion	12±5 b	5±2,4 c	4±3,3 c	5±2,2 c	4±2,1 c	20±7,7 b	10±4,5 c	17±11,2 b	9±4 ab	
Thiamethoxam	100±0 a	100±0 a	92±3 ab	74±14 ab	92±8,3 a	97±2,1 a	97±3,3 a	70±11,5 a	22±6,5 ab	
Imidacloprid	94±7 a	100±0 a	62±14 b	30±17 bc	55±13 b	98±1,7 a	42±14 bc	17±5,6 b	2±1,7 b	
Thiamethoxam + Brasibion	100±0 a	100±0 a	100±0 a	75±15 ab	95±5 a	100±0 a	100±0 a	40±13,9 ab	19±7 ab	
Imidacloprid + Brasibion	78±9 a	85±10 b	80±10 ab	52±17 abc	82±12 ab	75±15 a	67±14 ab	7±3,3 b	7±3,3 ab	
Thiamethoxam + Chlorantraniliprole	100±0 a	100±0 a	100±0 a	95±5 a	100±0 a	100±0 a	95±5 a	79±8,3 a	32±8,7 a	
CV%	19,2	10,8	27,8	63,0	30,3	23,4	34,5	70,6	97,8	
Valores de F	48,0	194,7	33,1	8,83	30,9	35,5	16,7	6,03	3,24	
N	41	41	41	41	41	41	41	41	41	

N - Número de observações. DAA – Dias após a aplicação.

Médias ± erro padrão seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O inseticida thiamethoxam resultou em controle eficiente de *D. citri* até os 148 DAA, diferindo da testemunha. Thiamethoxam + chlorantraniliprole resultou na mortalidade de pelo menos 80% dos insetos adultos até 169 DAA, porém sem diferir de thiamethoxam em nenhuma avaliação realizada (Tabela 5). Por outro lado, o controle proporcionado por imidacloprid ou sua mistura com Brasibion foi irregular ao longo da avaliação: entre 23 e 65 DAA resultou em maior mortalidade do que água; equivaleu-se à testemunha aos 86 DAA; voltou a apresentar mortalidade superior entre 107 e 128 DAA; e novamente se equiparou à testemunha nas avaliações seguintes.

Consequentemente, conforme a data de avaliação, o controle proporcionado por imidacloprid ou sua mistura com Brasibion foi similar ou inferior aos demais inseticidas avaliados (Tabela 5). Aos 188 DAA, última avaliação realizada, houve mortalidade inferior a

80% para todos os inseticidas utilizados no experimento, sem distinção com a testemunha, embora thiamethoxam + chlorantraniliprole tenha superado imidacloprid novamente.

Ao final do trabalho, avaliou-se o crescimento vegetativo das plantas a fim de verificar se os tratamentos apresentaram algum efeito neste (Tabela 6). Não se observaram diferenças significativas para nenhuma das variáveis avaliadas.

Tabela 6. Variáveis de crescimento de plantas 188 dias após a aplicação de inseticidas sistêmicos, associados ou não ao bioestimulante Brasibion, via *drench* um dia antes do transplante de mudas de citros ao campo.

Produto	Altura (cm)	Diâmetro de copa (cm)	Diâmetro de caule (mm)	Massa de raiz (g)
Água	72,4 a	55,0 a	14,9 a	85,0 a
Brasibion	69,2 a	57,6 a	15,5 a	82,5 a
Thiamethoxam	74,7 a	60,3 a	15,3 a	85,0 a
Imidacloprid	74,8 a	59,1 a	15,2 a	97,5 a
Thiamethoxam+Brasibion	77,4 a	64,6 a	15,9 a	85,0 a
Imidacloprid+Brasibion	71,3 a	53,8 a	14,0 a	80,0 a
Thiamethoxam + Chlorantraniliprole	79,0 a	67,4 a	15,7 a	113,0 a
CV (%)	9,98	18,2	10,3	45,3
Valor de F	1,28	1,22	0,95	0,50
Número de observações	41	41	41	41

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,01$).

Os resultados desse estudo confirmam a eficiência do controle de insetos adultos de *Diaphorina citri* via inseticidas sistêmicos aplicados via *drench* em mudas antes do plantio, conforme relatado anteriormente para condições de manejo e períodos de controle similares (Yamamoto et al., 2009; Yamamoto & Miranda, 2009; Sanches et al., 2009; Ichinose et al. 2010). Os neonicotinoides apresentam diversas vantagens como inseticidas: amplo espectro de ação sobre insetos-praga, baixa dose de aplicação no campo, excelente translocação na planta, alta mobilidade em tecidos e tipos de solo, seleção a vários inimigos naturais de pragas e também efeito bioativador aumentando o vigor inicial e o metabolismo do nitrogênio nas plantas em geral (Carvalho et al., 2011). A formulação de thiamethoxam + chlorantraniliprole mostrou ser mais eficiente do que o imidacloprid (Tabela 5). Por outro lado, o bioestimulante à base de aminoácidos de origem animal Brasibion não controlou *D. citri* quando aplicado isoladamente. Sua mistura com thiamethoxam não alterou a performance desse inseticida, mas a mistura com imidacloprid reduziu a percentagem de mortalidade aos 44 DAA.

A infestação de *D. citri* está associada ao aumento de concentração dos aminoácidos prolina, leucina, metionina, serina, histidina e arginina, e à redução de alanina, ácido glutâmico, fenilalanina, isoleucina e tirosina em plantas cítricas (Malik et al., 2014; Sétamou et al 2017). Mesmo prevalecendo histidina, alanina, tirosina e leucina, entre outros, na composição de aminoácidos livres do bioestimulante Brasibion (Quadro 2), não parece ter havido favorecimento à sobrevivência do psilídeo quando o bioestimulante foi usado. Pelo contrário, a eficácia de controle de pragas pode ser reduzida quando inseticidas sistêmicos são misturados com aminoácidos, como no caso do inseticida chlorantraniliprole associado a ésteres de aminoácidos (Yao et al., 2017).

Os inseticidas sistêmicos podem ser considerados como substâncias bioativadoras, pois, além do efeito biológico sobre a praga-alvo, promovem alterações no metabolismo vegetal que culminam em respostas fisiológicas e maior crescimento vegetal, como por exemplo, já foi observado em cana-de-açúcar (Martins et al., 2012). O efeito bioativador dos neonicotinoides atua de duas maneiras: 1) ativando proteínas transportadoras das membranas celulares, possibilitando maior transporte iônico, incrementando a nutrição mineral da planta e promovendo respostas positivas no desenvolvimento e na produtividade; e 2) pela ativação enzimática, tanto em sementes como em plantas, que por sua vez incrementa o metabolismo primário e o secundário resultando em maior síntese de aminoácidos precursores de novas proteínas e de hormônios vegetais (Carvalho et al., 2011).

Essa resposta positiva aos neonicotinoides sobre o crescimento vegetativo, porém, não foi observada até 188 dias após o plantio de citros neste trabalho (Tabela 6). Também não houve efeito do bioestimulante sobre o crescimento vegetativo, embora tenha sido realizada apenas uma aplicação dos produtos e o período de avaliação tenha sido relativamente curto. Em mudas de cafeeiro, também não houve efeito significativo no crescimento decorrente da aplicação isolada ou em mistura de bioativadores e bioestimulantes (Melo & Maciel, 2014). Por outro lado, Spann & Little (2010) observaram que o comprimento de raiz e a relação raiz-parte aérea de porta-enxertos de citros aumentaram significativamente sob estresse de seca após aplicação de Stimplex, enquanto Pereira et. al. (2008) observaram aumento na área foliar, no número de folhas e no peso de raízes mudas de laranjeira Valência após aplicações via drench com thiamethoxam em condições controladas em vasos. Dessa forma, o uso continuado de bioestimulantes em mistura com inseticidas sistêmicos deve ser investigado a fim de elucidar seu efeito sobre o crescimento de plantas jovens de citros em condições de campo.

5. CONCLUSÕES

O crescimento vegetativo e a concentração foliar de nutrientes minerais em mudas de laranjeira Valência são influenciados pela variedade de porta-enxerto.

Os bioestimulantes Brasibion e Isabion aplicados na faixa de concentração de 1,25 a 10 mL L⁻¹ não influenciam no desenvolvimento de porta-enxertos de limoeiro Cravo e citrumelo Swingle nem de mudas enxertadas de laranjeira Valência.

A aplicação isolada de Brasibion não é eficaz para o controle de adultos de *D. citri*.

A mistura com Brasibion não afeta a performance de thiamethoxam, mas pode reduzir o controle inicial para imidacloprid.

REFERÊNCIAS

- Almeida, A.Q., Soratto, R.P. 2014. Teor e acúmulo de nutrientes no feijoeiro em função da aplicação de bioestimulante. **Semina Ciências Agrárias** 35(4):2259-2272.
- Annelizese, S.R. 2014. Efeitos da exposição de *Bombus terrestris audax*, *Aphis melifera carniça* e *Scaptotrigona bipunctata* ao neonicotinoide tiametoxam e uso de *Scaptotrigona aff. Depilis* como bioindicador. 143 f. **Tese de Doutorado**. Ribeirão Preto, SP: Faculdade de Filosofia e Letras de Ribeirão Preto.
- Bataglia, O.C., Furlani, P.R., Ferrarezi, R.S., Medina, C.L. 2008. **Padrão nutricional de mudas de citros**. Araraquara: Vivecitrus. 40 p.
- Belasque Junior, J., Bassanezi, R.B., Yamamoto, P.T., Ayres, A.J., Tachibana, A., Violante, A.R., Tank Junior, A., Di Giorgi, F., Tersi, F.E.A., Menezes, G.M., Dragone, J., Jank Junior, R.H., Bové, J.M. 2010. Lessons from Huanglongbing management in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology** 92:285-302.
- Berdejo, B.D.A. 2010. Caracterização das proteínas de reserva em linhagens QPM e estudos bioquímicos da enzima homozerina quinase (HK) em sementes de milho (*Zea mays* L.). 124 f. **Tese de Doutorado**. Piracicaba, SP: Escola Superior Luiz de Queiroz.
- Bernardi, A.C.C. Carmello, Q.A.C. Carvalho, S.A. 2000. Development of citrus nursery trees grown in pots in response to NPK fertilization. **Scientia Agricola** 57(4):733-738.
- Boaventura, P.S. Quaggio, J.A. Abreu, M.F. Bataglia, O.C. 2004. Balanço de nutrientes na produção de mudas cítricas cultivadas em substrato. **Revista Brasileira de Fruticultura** 26(2):300-305.
- Bové, J.M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of plant Pathology** 88(1):7-37.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil** 383:3-41.
- Carvalho, N.L. Perlin, R.S. Costa, E.C. 2011. Thiamethoxam em Tratamento de Sementes. **Revista Eletrônica do PPGEAmb-CCR/UFSM** (2):2 158 – 175
- Carvalho, S.A., Graf, C.C.D. Violante, A. R. 2005. Produção de material básico e propagação. In: Junior, D.M. Negri, J.D. Pio, R.M. Pompeu Junior, P. (Ed). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas: Fundag. p. 281-316.
- Castro, P.R.C., Carvalho, M.E.A. 2014. **Aminoácidos e suas aplicações na agricultura**. Piracicaba: ESALQ. 58 p. (Série Produtor Rural n. 57).
- Cole. R.A. 1997. The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 85(2):121-133.

Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado De São Paulo. 2005. Portaria CDA-5, de 03/02/2005, estabelece normas de Medidas de Defesa Sanitária Vegetal e Certificação de Conformidade Fitossanitária de Mudanças Cítricas no Estado de São Paulo. **Secretaria da Agricultura e Abastecimento**. 4 p.

Costa Lima, A.M. 1942. **Insetos do Brasil**, Homoptera. 3. ed. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia. p. 101.

Dario, G.J.A., Dario, I.F.N, Vazquez, G.H. Peres, A.R. 2014. Adubação foliar com produtos a base de aminoácidos e fosfito na cultura do arroz irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias** 13(2):119-129.

Donadio, L.C., Mourão Filho, F.A., Moreira, C.S. 2005. Centros de origem, distribuição geografia das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: Mattos Júnior, D., Pio, R.M., De Negri, J.D., Pompeu Júnior, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, Fundag. p.1-18.

du Jardin, P. 2015. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae** 196:3-14.

El-Boray, M.S., Mostafa, M.F.M., Salem, S.E., El Sawwah, O.A.O. 2015. Improving yield and fruit quality of Washington Navel orange using foliar applications of some natural biostimulants. **Journal of Plant Production** 6(8):1317-1332.

El-Shazly, S.M., Mustafa, N.S. 2015. Enhancement yield, fruit quality and nutritional status of Washington navel orange trees by application of some biostimulants. **Acta Horticulturae** 1065:165.

FNP Consultoria & Comercio. 2015. **Agrianual 2015**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Informa Economics FNP. 472 p.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2007. **Doenças e Pragas**. Araraquara: Fundecitrus. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/doencas/diaphorina-citri/24>>. Acesso em: 14 out. 2016.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2015. **Revista Citricultor**. Araraquara: Fundecitrus. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/revista/os-dez-mandamentos-do-hlb---28/3>>. Acesso em: 19 dez. 2017.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2016. **Tree inventory of the Sao Paulo and west-southwest of Minas Gerais citrus belt – snapshot of groves in March/2016**. Araraquara: Fundecitrus. 96 p. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/ingles_site.pdf>. Acesso em: 16 fev. 2017.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2017. **Tree inventory and orange production forecast for the 2017-2018 season of the São Paulo and West-Southwest of Minas Gerais citrus belt**. Araraquara: Fundecitrus. 124 p. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2017_12_05_Tree_Inventory_and_Orange_Production_Forecast_2017-20181.pdf>. Acesso em: 16 fev. 2017.

Furlani, A.M.C., Bataglia, O.C., Abreu, M.F., Abreu, C.A., Furlani, P.R., Quaggio, J.A., Minami, K. 2002. **Caracterização, manejo e qualidade de substratos para produção de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico. 119 p. (IAC. Documentos, 70).

Garcia-Mina. J.M. 2006. The relationships among mineral nutrition, biostimulation and plant defense mechanisms: an example in citrus plants. **Fertilitas Agrorum** 1(1)2006:83-88

Gerbig, S. Brunn., H.E. Spengler., B. Schulz., S. 2015. Spatially resolved investigation of systemic and contact pesticides in plant material by desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (DESI-MSI). **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 407:7379–7389

Girardi, E.A., Mourão Filho, F.A.A., Alves, A.S.R. 2010. Mudanças de laranja Valência sobre dois porta-enxertos e sob diferentes manejos de adubação. **Revista Brasileira de Fruticultura** 32:855-864.

Grafton-Cardwell, E.E., Stelinski, L.L., Stansly. P.A. 2013. Biology and Management of Asian Citrus Psyllid, Vector of the Huanglongbing Pathogens. **Annual Review of Entomology** 58:413-432.

Hijaz, F. Lu, Z. Killiny, N. 2016. Effect of host-plant and infection with ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ on honeydew chemical composition of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Entomologia Experimentalis Applicata** 158(1):34-43.

Ichinose, K., Bang, D.V., Tuan, D.H., Dien, L.Q. 2010. Effective use of neonicotinoids for protection of citrus seedlings from invasion by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of economic entomology** 103(1):127-135.

Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., Prithiviraj, B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation** 28(4):386-399.

Khalid, S. 2007. Fruit quality and storability of Kinnow mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) in relation to tree age. 201 f. **Thesis of Doctorate**. Punjab, Pakistan: Faisalabad University of Agriculture.

Malik, N.S.A, Perez, J.L, Kunta, M. Patt, J.M. Mangan., R. L. 2014. Changes in free amino acids and polyamine levels in Satsuma leaves in response to Asian citrus psyllid infestation and water stress. **Insect Science**. 21(6):707-716.

Martins, R.G., Martins, M.B.G., Silva, J.M., Pereira, M.A., Appezzato-da-Glória, B., Castro, P.R.C. 2012. Thiamethoxam on the histological characteristics of sugarcane young roots. **Ciência Rural** 42(11):1936-1940.

Melo, B.M.R., Maciel, A.L.R. 2014. Influência de bioativadores e bioestimulantes na produção de mudas de cafeeiros. **Revista Agrogeoambiental** 6:55-61.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei N° 10.711, de 05 de agosto de 2003, dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças e dá outras providências,

regulamentada pelo Decreto nº 5.123/2004, publicado no **Diário Oficial da União** de 06 de agosto de 2004.

Neves, M.F., Trombim, V.G. 2017. **Citrus BR 2017: anuário da citricultura**. São Paulo: (1) 57 p.

Neves, M.F., Trombim, V.G., Milan, P., Lopes, F.F., Cressoni, F., Kalaki, R. 2010. **O Retrato da Citricultura Brasileira**. 71 p.

Pereira, M.A., Camargo e Castro, P.R., Aramaki, P. 2008. Efeitos fisiológicos de thiametoxam na área foliar e número de folhas de mudas de laranjeira 'Valência'. **XX Congresso Brasileiro de Fruticultura; 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**. Centro de Convenções – Vitória/ES. 2008.

Pompeu Junior, J. 2005. Porta-enxertos. In: Mattos Júnior, D., Pio, R.M., De Negri, J.D., Pompeu Júnior, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, Fundag. p. 63-104.

Roistacher, C.N. 1996. The economics of living with citrus diseases: Huanglongbing (Greening) in Thailand. **Conference of the International Organization of Citrus Virologists**, 13. Fuzhou, China, IOCV. 1996. p. 279-285.

Russell, C.W. Pelz-Stelinski, K.S. 2015. Development of an artificial diet and feeding system for juvenile stages of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 154(2):171-176.

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

Santana, L.M., Gabriel, R., Morales-Payan, J.P., Puello, C.H., Mancebo, J., Rondón, F. 2006. Effects of biostimulants on nursery growth of orange budded on volkamer lemon and swingle citrumelo. **Proceedings of the 33rd Annual Meeting of the Plant Growth Regulation Society of America**. Quebec City, Canada. 2006. p. 217-219.

Sberse, V.L. 2013. Uso de bioestimulantes em diferentes estádios fenológicos da aveia na contribuição sobre os caracteres de produção. 46 f. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Ijuí RS: Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul.

Sétamou, M., Alabi., OJ. Simpson, CR. Jifon, J.L. 2017. Contrasting amino acid profiles among permissive and non-permissive hosts of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, putative causal agent of Huanglongbing. **PLOS ONE** 12(12):e0187921.

Smart, L.E. Martin, J.L. Limpalaer, M. Bruce, T.J.A. Pickett, J.A. 2013. Responses of Herbivore and Predatory Mites to Tomato Plants Exposed to Jasmonic Acid Seed Treatment 2013. **Springer Science Business Media** 39:1297–1300.

Souza, J.M.A., Gonçalves, B.H.L., Santos, A.M.F., Ferraz, R.A., Leonel, S. 2013. Efeito de bioestimulante no desenvolvimento inicial de plântulas do porta-enxerto cítrico tangerineira Cleópatra. **Scientia Plena** 9:e-080201-1.

Spann, T.M., Little, H.A. 2010. Effect of Stimplex® crop biostimulant on drought tolerance of hamlin sweet orange. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 123:100-104.

Tonhão, M.A.R. 2013. Eficiência de inseticidas sistêmicos aplicados isoladamente e associados a gel hidratante no controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em mudas de citros. 36 f. **Dissertação de Mestrado**. Araraquara SP: Fundo de Defesa da Citricultura.

Tsai, J.H. Liu., Y.H. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on Four Host Plants. **Journal of Economic Entomology** 93(6):1721-1725.

Vieira, E.L., Castro, P.R.C. 2001. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes** 23:222-228.

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

Yamamoto, P.T, Miranda, M.P, 2009. Controle do psilídeo *Diaphorina citri*. **Ciência e Prática** (1):10-12.

Yamamoto, P.T., Roberto, S.R., Pria Júnior, W.D., Felipe, M.R., Freitas, E.P. 2002. Espécies e flutuação populacional de cigarrinhas em viveiro de citros, no município de Mogi-Guaçu-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura** 24(1):389-394.

Yao, G., Wen, Y., Zhao, C., Xu, H. 2017. Novel amino acid ester-chlorantraniliprole conjugates: design, synthesis, phloem accumulation and bioactivity. **Pest Management Science** 73(10):2131-2137.